



Д.Б. ГЕЛАШВИЛИ, В.Н. КРЫЛОВ, Е.Б. РОМАНОВА

# ЗООТОКСИНОЛОГИЯ:

БИОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ  
И БИОМЕДИЦИНСКИЕ  
АСПЕКТЫ

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Национальный исследовательский  
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

**Д.Б. Гелашвили, В.Н. Крылов, Е.Б. Романова**

# **ЗООТОКСИНОЛОГИЯ: биоэкологические и биомедицинские аспекты**

*Учебное пособие*

Рекомендовано ученым советом Института биологии и биомедицины ННГУ  
для студентов, обучающихся по направлениям 06.03.01; 06.04.01 – «Биология»  
и 05.03.06; 05.04.06 – «Экология и природопользование»,  
аспирантов и специалистов, интересующихся вопросами зоотоксикологии

Нижний Новгород  
Издательство Нижегородского государственного университета  
2015

УДК 547.993+591.145  
ББК 28.1  
Г 31

*Рецензенты:*

чл.-корр. РАН, доктор биологических наук **Г.С. Розенберг** (ИЭВБ РАН);  
доктор биологических наук **А.И. Дмитриев** (НГПУ)

**Г 31 Гелашвили Д.Б., Крылов В.Н., Романова Е.Б.**  
**Зоотоксикология: биоэкологические и биомедицинские аспекты.** Учебное пособие: Нижний Новгород: Изд-во ННГУ, 2015. – 770 с. ил.

ISBN 978-5-91326-329-2

В учебном пособии на основе анализа мировой научной литературы приведены современные данные о важнейших ядовитых представителях фауны Земли, а также вырабатываемых ими токсинах. Рассмотрены вопросы биологии и экологии ядовитых животных, их охраны и рационального использования, химической природы и молекулярной структуры токсинов, механизмов их поражающего действия и мер оказания первой помощи. Изложен материал о применении зоотоксинов в биологии и медицине. Справочный материал содержит свыше 500 терминов и 1200 латинских названий организмов.

Для студентов, обучающихся по направлениям 06.03.01; 06.04.01 – «Биология» и 05.03.06; 05.04.06 – «Экология и природопользование», аспирантов и специалистов, интересующихся вопросами зоотоксикологии.

*Подготовлено в соответствии с Планом мероприятий по реализации программы  
повышения конкурентоспособности ННГУ среди ведущих мировых  
научно-образовательных центров на 2013–2020 гг.*

ISBN 978-5-91326-329-2

УДК 547.993+591.145  
ББК 28.1

© Гелашвили Д.Б., Крылов В.Н., Романова Е.Б., 2015  
© Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского, 2015

Ministry of Education and Science of the Russian Federation  
Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod  
National Research University

**D.B. Gelashvili, V.N. Krylov, E.B. Romanova**

# ZOOTOXINOLOGY: bioecological and biomedical aspects

*Manual*

Recommended by the Academic Council of the UNN Institute of Biology and Biomedicine  
for students in the areas of studies 06.03.01; 06.04.01 – "Biology"  
and 05.03.06; 05.04.06 – "Ecology and environmental management",  
for postgraduate students and professionals interested in zootoxinology

Nizhni Novgorod  
Nizhni Novgorod State University Press  
2015

UDC 547.993+591.145  
LBC 28.1  
G 31

*Reviewers:*

**G.S. Rozenberg**, Corresponding Member of the RAS, Doctor of Sciences (Biology) (IEVB RAS);  
**A.I. Dmitriev**, Doctor of Sciences (Biology) (NSPU)

**Gelashvili D.B., Krylov V.N., Romanova E.B.**

G 31 **Zootoxinology: bioecological and biomedical aspects.** Manual: Nizhni Novgorod:  
Nizhni Novgorod State University Press, 2015. – 770 pp., figs.

ISBN 978-5-91326-329-2

Based on the analysis of world scientific literature, this book presents current data on the most important venomous representatives of the Earth fauna, as well as toxins produced by them. The authors consider a range of problems of biology and ecology of venomous animals, their protection and rational use, the chemical nature and molecular structure of toxins, the mechanisms of their harmful effects and first aid measures. Application of zootoxins in biology and medicine is discussed. Reference materials include more than 500 terms and 1200 Latin names of organisms.

Readership: students in the areas of studies 06.03.01; 06.04.01 – "Biology" and 05.03.06; 05.04.06 – "Ecology and environmental management", postgraduate students and professionals interested in zootoxinology.

*Prepared in accordance with the Action plan for implementation of the program  
to enhance the competitiveness of UNN among the world's leading  
scientific and educational centers in 2013–2020.*

ISBN 978-5-91326-329-2

LBC 28.1

© Gelashvili D.B., Krylov V.N., Romanova E.B., 2015  
© Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, 2015

---

## ПРЕДИСЛОВИЕ

**В** 2016 году Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского отмечает свой 100-летний юбилей. Биологический факультет, а ныне Институт биологии и биомедицины – практически ровесник университета – образован в 1918 г. У истоков его создания и становления стояли крупные деятели отечественной биологической науки: профессора Д.Ф. Сеницын, С.С. Станков, С.С. Четвериков, И.М. Пузанов, А.А. Соболев, П.К. Анохин, А.Д. Некрасов, Н.М. Артемов и многие другие.

Предлагаемое вниманию читателей учебное пособие написано учениками и последователями одного из основателей биологического факультета – почетного профессора ННГУ Н.М. Артемова, создавшего в университете уникальную научную школу зоотоксинологии – научной дисциплины, изучающей ядовитых животных и продуцируемые ими яды. Из этой школы вышли известные ученые, ставшие докторами наук и уже сами создавшие научные коллективы: Б.Н. Орлов, Ш.М. Омаров, Д.Б. Гелашвили, В.Н. Крылов, А.Е. Хомутов, А.С. Корягин, Е.Б. Романова, А.В. Дерюгина, Н.Н. Асафова, С.Б. Парин, – и десятки кандидатов наук.

Пересказывать содержание пособия – неблагоприятное занятие, его лучше прочитать, тем более что об этом не придется жалеть. По существу, «Зоотоксинология», о которой идет речь, – это своеобразная энциклопедия ядовитых животных и их ядов. В ней максимально широко представлены ядовитые животные – от одноклеточных динофлагеллат до птиц и млекопитающих, описаны биологические и экологические особенности ядопродуцентов, приведены физико-химические характеристики токсинов и подробно рассмотрены механизмы их действия на организм, органном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях. Зоотоксины – это не только химические средства нападения и защиты, но и источники создания новых высокоэффективных лекарственных средств.

Такой подход соответствует стратегии обновленного биологического факультета – Института биологии и биомедицины: обеспечивать синтез биологических и медицинских наук на базе фундаментальных исследований для достижения эффективных инновационных результатов. Пособие ориентировано в первую очередь на студенческую молодежь, в руках которой не только собственное будущее, но и будущее страны, нуждающейся в инициативных и образованных людях. Предлагаемая книга поможет стать такими.

*Е.В. Чупрунов,  
ректор Нижегородского государственного  
университета им. Н.И. Лобачевского,  
доктор физ.-мат. наук, профессор*

---

## ОТ АВТОРОВ

*Памяти наших учителей –  
профессоров Н.М. Артемова и Б.Н. Орлова –  
посвящается*

Среди огромного числа биологически активных веществ природного происхождения, представляющих интерес для биологии и медицины, одно из центральных мест занимают животные яды, или *зоотоксины*, – уникальная по химической природе и физиологическому действию группа соединений. С помощью зоотоксинов достигнуты большие успехи в области молекулярной биологии и нейрофизиологии, созданы новые лекарственные и диагностические средства. Нельзя забывать и о высокой токсичности этих соединений и необходимости разработки мер профилактики и лечения отравлений зоотоксинами. Ядовитые животные и их яды находятся сегодня в сфере внимания ученых разных специальностей: зоологов, экологов, физиологов, биохимиков, фармакологов, медиков, иммунологов и др. Наука настолько стремительно развивается, что следить за лавинообразно нарастающим числом журнальных публикаций даже с помощью Интернета становится все труднее.

Между тем студентов биологических, ветеринарных и медицинских специальностей, подготавливаемых в системе высшей школы, необходимо вооружить знаниями по современным вопросам зоотоксинологии, которые окажутся полезными как в практической деятельности, так и при работе в научных учреждениях. Вышедшее в 1985 г. учебное пособие Б.Н. Орлова, Д.Б. Гелашвили «Зоотоксинология. Ядовитые животные и их яды» было доброжелательно встречено специалистами и широким кругом читателей. Однако время неумолимо как к людям, так и к фактам, и научный прогресс внес значительные коррективы в существующие представления о зоотоксинах.

Авторы надеются, что предлагаемое учебное пособие, основанное на предыдущих изданиях, но значительно переработанное и дополненное, в какой-то мере заполнит образовавшийся пробел.

При его написании предпочтение отдавалось наиболее фундаментальным фактам, позволяющим уже сегодня использовать зоотоксины для познания важнейших процессов жизнедеятельности человека, совершенствовать методы профилактики, диагностики и лечения наиболее распространенных заболеваний и разработать на основе зоотоксинов новые высокоэффективные лекарственные средства. Ядовитые животные и их яды существенно различаются по степени изученности, что неизбежно наложило свой отпечаток на объем использованных данных и их представленность в пособии. Для того чтобы не нарушать внутреннюю логику изложения, авторам пришлось отойти от традиционной зоологической классификации и сгруппировать материал не по таксономическому, а «токсикологическому» принципу.

Особое внимание в пособии уделяется молекулярным механизмам воздействия зоотоксинов на клеточные мембраны, что позволяет проникнуть в сущность их взаимодействия с биологическими объектами. Принимая во внимание большое

практическое значение ядовитых животных и их важную роль в биоценозах, в работе авторы поднимают ряд вопросов, связанных с охраной этих организмов. Поскольку многие представители животного мира вырабатывают яды, обладающие высокой токсичностью, в учебном пособии приведены сведения об основной симптоматике отравлений и мерах оказания первой помощи при поражениях зоотоксинами.

Этой же цели служат рисунки и схемы, иллюстрирующие внешний вид ядовитых животных, строение ядовитых желез и химическую структуру вырабатываемых ими токсинов. В качестве заставок к некоторым главам использованы рисунки из книги Э. Геккеля «Красота форм в природе» (1904). Книга снабжена предметным указателем и указателем латинских названий животных. В библиографии приведены обобщающие работы отечественных и иностранных ученых, знакомство с которыми может быть полезным, а также перечень некоторых интернет-ресурсов.

Следует помнить, что учебное пособие рассчитано на читателя, уже имеющего подготовку по общим биологическим дисциплинам (экологии, зоологии, биохимии, физиологии) в пределах вузовской программы. Оно не повторяет, а дополняет материал общих курсов, поэтому при работе с ней полезно обращаться к главам соответствующих учебников. При написании мы опирались на опыт, накопленный в Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского при чтении общих и специальных курсов, в которых нашел отражение материал настоящего пособия.

**Благодарности.** Авторы считают своим приятным долгом обратиться со словами благодарности к людям, способствовавшим появлению этой книги. В первую очередь это наши учителя – профессора Н.М. Артемов и Б.Н. Орлов, стоявшие у истоков нашей научной работы. Большое влияние на наше становление как научных работников оказали старшие коллеги д.б.н. М.А. Петрова и к.б.н. В.А. Ушаков. Со словами благодарности и признательности мы обращаемся к коллегам в нашей стране и за ее рубежами, на основе трудов которых и написано это пособие. По своей направленности работа адресована преимущественно учащейся молодежи, поэтому мы постарались не перегружать текст многочисленными ссылками, однако частично компенсировали этот недостаток, указав первоисточники в подрисуночных подписях и таблицах, а также включив более 500 публикаций последних лет в список литературы. Неоценимую помощь нам оказали интернет-ресурсы Wikipedia Commons. Мы признательны нашим коллегам по кафедре экологии, кафедре физиологии и биохимии человека и животных биологического факультета ННГУ и лаборатории теоретической и прикладной экологии ННГУ за дружеское участие и помощь на всех этапах работы. Особая благодарность к.б.н. И.Н. Маркелову за помощь в техническом редактировании рукописи и к.б.н. М.В. Пестову за предоставленные фотографии. Мы также очень признательны нашим студентам, на которых «обкатывались» различные варианты пособия, за их вопросы, которые способствовали критическому отбору материала. Мы с удовольствием благодарим наших родных и близких, стойко переносивших все тяготы жизни с людьми, одержимыми специфической навязчивой идеей – написать учебное пособие о ядовитых животных и их ядах.

Если доброжелательный читатель сообщит нам об обнаруженных ошибках и недостатках, то мы ему будем искренне благодарны.

*Авторы*



---

## ВВЕДЕНИЕ В ЗООТОКСИНОЛОГИЮ

Яд может быть использован для убийства и для лечения больных, но кроме этих двух известных применений есть еще третье, представляющее особый интерес для физиолога. Для него яд становится инструментом, позволяющим разделить и проанализировать наиболее интимные явления в живых структурах. Именно с этой точки зрения я уже давно рассматриваю действие ядовитых веществ.

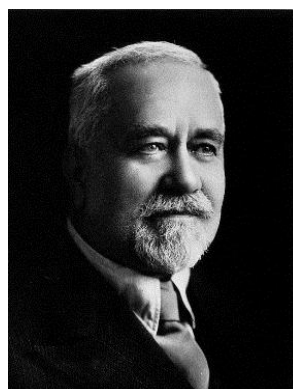
*Клод Бернар*



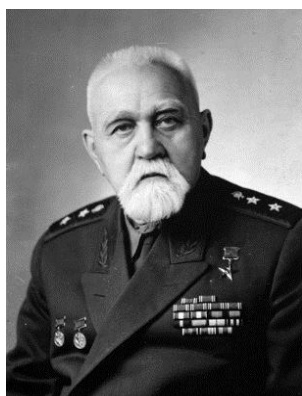
Авиценна  
980–1037



М. Физали  
1861–1946



А. Кальметт  
1863–1933



Е.Н. Павловский  
1884–1965



Н.М. Артемов  
1908–2005



Ю.А. Овчинников  
1934–1988

**Т**ехнический и культурный прогресс, достигнутый за последние десятилетия, создал предпосылки для возникновения новых наук и обособления из биологии и медицины ряда специальных дисциплин, в том числе и зоотоксикологии.

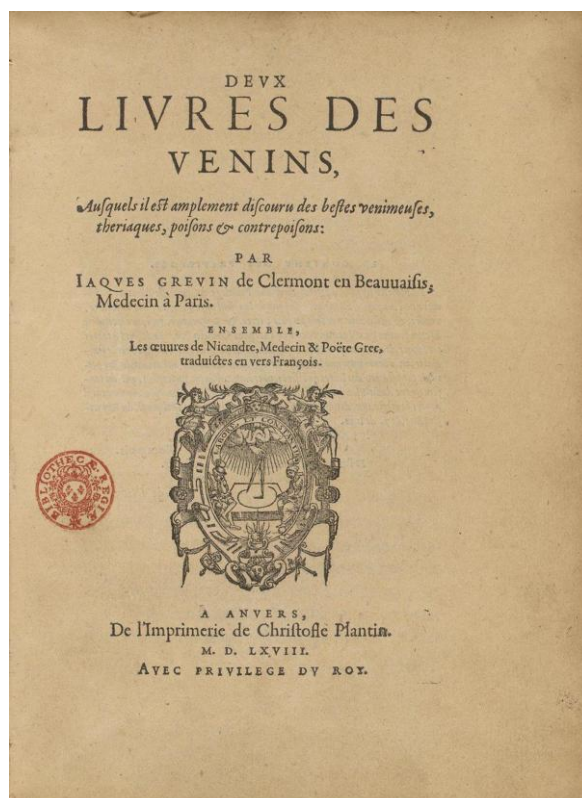
Предметом изучения *зоотоксикологии*<sup>1</sup> являются яды, вырабатываемые различными животными, их химическая природа и механизмы токсического действия на организм человека и животных. В круг задач зоотоксикологии входит также изучение особенностей биологии, экологии и физиологии ядообразующих животных, исследование ядов как химических факторов эволюции живых организмов, использования зоотоксинов в фундаментальных направлениях биологии и медицины, а также вопросы их практического применения. Зоотоксикология – составная часть *токсикологии* – науки, изучающей природные яды (животного, растительного и микробного происхождения). Исторически природные яды были вначале предметом *токсикологии* (от греч. *τοξικός* – яд и *λογία* – наука, то есть *τοξικολογία* – наука о ядах) – науки, изучающей ядовитые (токсичные) вещества, потенциальную опасность их воздействия на организмы, механизмы токсического действия, а также методы диагностики, профилактики и лечения развивающихся вследствие такого воздействия заболеваний. Возраст современной токсикологии насчитывает более 100 лет, она включает в себя токсикологию медицинскую, промышленную, пищевую, военную и др. По мере накопления фактических данных о природных ядах возникла необходимость качественного переосмысления этого материала. Стало очевидно, что раскрытие механизмов действия природных ядов должно базироваться на понимании биологических особенностей ядообразующих организмов. С другой стороны, прогресс в этой области невозможен без достижений биоорганической химии, успехи которой позволили установить молекулярную структуру многих зоотоксинов. Как и все новые науки, зоотоксикология является по своей сути междисциплинарной. Возникшая на стыке таких экспериментальных и теоретических дисциплин, как молекулярная биология, зоология, экология, физиология, биохимия, патофизиология, токсикология и фармакология, зоотоксикология развивается присущим ей путем, обобщая опыт смежных с ней дисциплин и в то же время обогащая их.

Выявление закономерностей и специфических черт в организации и развитии живой природы – задача, последовательно решаемая биологией на протяжении всей истории ее существования. Каждый конкретно-исторический период развития биологии ставил перед учеными свои проблемы, возникающие из суммы накопленных знаний как в самой биологии, так и в смежных науках. С этой точки зрения ядовитость как свойство живой материи с древнейших времен находится в сфере внимания ученых. Яды как оружие, яды как целебные вещества, поиск новых ядов и эффективных противоядий – вот далеко не полный перечень вопросов, над которыми веками работали ученые в разных странах.

Становление зоотоксикологии как самостоятельной научной дисциплины относится к настоящему времени, но своими корнями она уходит в глубокую древность. В мифологии и исторических хрониках нашел свое отражение многовековой опыт общения людей с ядовитыми животными. Не случайно эмблема

---

<sup>1</sup> От «зоо» (греч.) – животное; «токсин» – из интернациональной научной лексики, восходящий к «токсикон» (греч.) – яд и «логия» (греч.) – учение.



Титульный лист печатной монографии Ж. Гревина «Две книги о ядах» (J. Grevin, 1538–1570)

медицины – чаша, обвитая змеей Эскулапа. Змеепоклонство (офиолатрия) в Древней Греции нашло воплощение в античных скульптурах, изображавших богов вместе со змеями, например бога врачевания Эскулапа, богини здоровья Гигиены, богини мудрости Афины.

Большой вклад в учение о ядовитых животных и их ядах сделали ученые Востока, и в первую очередь гениальный ученый и врач-энциклопедист Авиценна (980–1037). На протяжении шестисот лет, вплоть до XVIII в., его замечательный труд «Канон врачебной науки» считался основным пособием для врачей Европы. «Канон» Авиценны – энциклопедия медицинской науки, поставивший имя автора в один ряд с Гиппократом и Галеном. Впервые «Канон» был издан на латинском языке в 1483 г. В шестой части «Канона», озаглавленной «Общее рассуждение о ядах», приводятся сведения о ядовитых животных, их ядах и методах лечения отравлений<sup>2</sup>. Другой фундаментальный труд принадлежит последователю Авиценны – Зануддину Абу Ибрахиму Джурджани, который в 1100 г. написал

---

<sup>2</sup> Старков О.А. Паразиты и ядовитые животные в «Каноне врачебной науки» Абуали ибн-Сино. Душанбе: Дониш, 1980.

сочинение «Сокровище Хорезмшаха». Одна из книг этого многотомного труда также посвящена укусам ядовитых животных<sup>3</sup>.

Средневековая Европа во времена инквизиции мало что сделала для развития научной мысли. Оживление всех сторон общественной жизни, наступившее в эпоху Возрождения, не могло не коснуться и исследований по зоотоксикологии. В XVI в. в Антверпене выходит книга Ж. Гревина (J. Grévin) «Devx livres des venins» (1568).

В 1767 г. итальянский ученый Ф. Фонтана (F. Fontana) публикует в Лукке свой труд о яде гадюк «Ricerche filosofiche sopra il veleno della Vipera». П.П. Перфильев и З.С. Баркаган (1957) указывают, что Фонтана открыл ядовитые железы змеи и изучил с помощью микроскопа строение ядовитых зубов.

В них он обнаружил ядопроводящий канал, проток, соединяющий ядовитые железы с зубами, и впервые получил чистый змеиный яд. Ф. Фонтана экспериментально изучал действие змеиного яда на лягушках, птицах, мышах, кроликах, кошках, собаках с целью установления механизма отравляющего действия змеиных ядов и отыскания способов лечения этих поражений. Он широко использовал в своих исследованиях микроскопическую технику при изучении крови и органов отравленных животных. Фонтана правильно диагностировал важные особенности действия ядов гадюк на организм, заключающиеся в преимущественных изменениях стенок кровеносных сосудов и крови, свертывающем влиянии ядов на кровь, отсутствии действия ядов гадюк на ткань мозга и на нервные стволы. Наконец, попробовав змеиный яд на вкус, Ф. Фонтана обнаружил, что яд безвкусен, а также не вызывает жжения во рту и опухоли языка.

В это же время венский врач Лауренти (Laurenti) представляет в качестве докторской диссертации свой труд по герпетологии<sup>4</sup>. В XIX в. увеличивается число работ по изучению ядовитых животных и их ядов. Русский морской врач П.Н. Савченко, совершивший в 1877 г. кругосветное путешествие на корабле «Гайдамак», собрал большой материал по отравлениям морскими животными, и в 1886 г. был издан его «Атлас ядовитых рыб с описанием их вида, действия яда на организм человека и указанием противоядий». П.Н. Савченко одним из первых дал научное описание отравления рыбой фугу (Tetraodon). В 1888 г. австрийский врач Терч (F. Terch) публикует свои наблюдения о лечении ревматических заболеваний пчеложалениями. Во Франции плодотворно работают микробиолог А. Кальметт (A. Calmette), создавший первую противозмеиную сыворотку, и супруги Мари и Цезарь Физали (M. Phisalix, C. Phisalix). В 1922 г. М. Физали издает в Париже фундаментальное двухтомное руководство по ядовитым животным и их ядам «Animaux venimeux et venins». Не представляется возможным даже простое перечисление наиболее крупных работ по зоотоксинам, появившихся в XX – начале XXI в.

Большой вклад в развитие зоотоксикологии внесли отечественные ученые. У истоков этих работ стоял ученый с мировым именем, блестящий зоолог и паразитолог академик Евгений Никанорович Павловский (1884–1965). Сразу же после

---

<sup>3</sup> Перфильев П.П., Баркаган З.С. К истории изучения ядовитых животных. Труды Института истории естествознания и техники АН СССР (история биол. наук). М. – Л.: Изд-во АН СССР, 1957. Т. 16. Вып. 3.

<sup>4</sup> П.В. Терентьев (1961) указывает, что действительным автором этой работы был студент Винтрель, продавший Лауренти свою рукопись. Тем не менее традиционно считается, что работа Лауренти – первый научный труд по герпетологии – науке о пресмыкающихся и земноводных.

революции Е.Н. Павловский вместе со своим учителем профессором Н.А. Холодковским разработал план пятитомного руководства по медицинской зоологии, второй том которого был посвящен ядовитым животным. Трудности того времени помешали осуществить задуманное полностью, но в 1918 г. Е.Н. Павловский за 8 месяцев написал второй том, который вышел в 1927 г. под названием «Die Gift-Tiere und ihre Giftigkeit» и сразу же завоевал всеобщее признание. В этой книге он заложил основы учения о ядовитых животных и обосновал принципы их классификации.

В дальнейшем Е.Н. Павловским был написан целый ряд книг о ядовитых животных Советского Союза и сопредельных стран (Павловский, 1931; 1932; 1950). Работы Е.Н. Павловского в этом направлении продолжили его ученики и последователи. Значительный вклад в развитие идей своего учителя в 50–60-х годах внес чл.-корр. АМН СССР проф. Ф.Ф. Талызин, который в основном посвятил свои исследования выяснению механизмов действия на организм ядов змей и разработке противозмеиных сывороток. Ф.Ф. Талызин был также прекрасным популяризатором науки о ядовитых животных суши и моря.

Особо следует сказать о трудах ленинградского профессора С.В. Пигулевского (1899–1972), который выпустил двухтомную монографию о ядовитых позвоночных и беспозвоночных животных (1966 г. – 1-й том; 1975 г. – 2-й том). Эта книга привлекла внимание ученых разных специальностей к проблемам зоотоксикологии. Написанная на основе обширного фактического материала, эта работа и теперь представляет интерес, особенно в фаунистическом плане – описания самих ядовитых животных. Что касается сведений о химическом составе ядов, структуре токсинов и механизмах их действия, то они подверглись коренному пересмотру.

Существенный вклад в развитие зоотоксикологии в нашей стране внесли сотрудники кафедры физиологии Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского под руководством профессора Н.М. Артемова. Интересно и поучительно становление на кафедре этого направления научной деятельности. Еще работая в Институте эволюционной физиологии (с 1936 по 1941 год), Н.М. Артемов по поручению академика Х.С. Коштыянца занимался поиском природных средств, дезинтегрирующих межклеточные взаимодействия. Укажем, что в тот период в мире идут интенсивные исследования в этом направлении. Только что научное признание получило существование синапсов (Ч. Шеррингтон, Э. Эдриан – Нобелевская премия за 1932 г.) и медиаторов (Г. Дейл, О. Леви – Нобелевская премия за 1936 г.), то есть были найдены структуры и посредники этих взаимодействий. В лабораториях многих стран идет активный поиск их агонистов и антагонистов. Н.М. Артемов предлагает на эту вакансию пчелиный яд – дезинтегратор многих функций в организме при ужалении пчелами.

Ранее, работая с гормонами, Н.М. Артемов встречался с этими симптомами действия яда – в лабораторию не раз заходили пчеловоды, интересовавшиеся вопросами токсических и лечебных эффектов, наблюдавшихся у людей при ужалении пчелами. Уже тогда он увидел широкий спектр биологических возможностей пчелиного яда как представителя природных физиологически активных соединений, отражающих эволюционное единство между этими веществами и живыми организмами. О том, что пчелиный яд может прерывать передачу возбуждения в синапсах, свидетельствует и первая публикация на эту тему: «Об атропиноподобном

действии пчелиного яда» (Артемов, 1939). Результатом дальнейших целенаправленных исследований стала монография Н.М. Артемова «Пчелиный яд, физиологические свойства и терапевтическое применение» (1941). Н.М. Артемов руководил кафедрой физиологии человека и животных Горьковского государственного университета с 1943 по 1976 г. В научном плане он полностью посвятил свою деятельность дальнейшему изучению сначала пчелиного, а потом и других ядов животных. За этот период под руководством Н.М. Артемова были организованы соответствующие НИР и вскрыты нейрогормональные механизмы действия ядов животного происхождения, проведено множество конференций по зоотоксикологии, воспитаны десятки ученых, ставших кандидатами и докторами наук. Н.М. Артемов известен в России и за рубежом как основатель научной апитерапии. Именно благодаря Н.М. Артемову в рамках Апимондии начиная с 1971 года<sup>5</sup> существует постоянная комиссия по апитерапии. Он же (совместно с профессором Г.П. Зайцевым – заведующим кафедрой хирургии 2-го Московского медицинского института) разработал первую официальную «Инструкцию по применению пчелиного яда в виде пчеложалений», которая была утверждена Ученым советом Минздрава СССР в 1959 году. Укажем также, что и первое отечественное лекарственное средство с пчелиным ядом – таблетки для электрофореза «Апифор» – было разработано в Горьковском (ныне Нижегородском) государственном университете также под руководством Н.М. Артемова. Кроме теоретических разработок по апитерапии, Н.М. Артемов активно занимался внедрением этих разработок, в частности технологией получения пчелиного яда для фарминдустрии методом электростимуляции. Не претендуя на мировой приоритет<sup>6</sup>, укажем, что уже в 1965 году Н.М. Артемовым с сотрудниками был разработан и апробирован первый отечественный электростимулятор для промышленного получения пчелиного яда (А.с. СССР № 171982, 1965).

Важной вехой в исследовании зоотоксинов являются работы, начатые в 80-е годы прошлого века в Институте биоорганической химии им. академика М.М. Шемякина АН СССР<sup>7</sup> под руководством академика Ю.А. Овчинникова и продолжаемые в настоящее время его учениками и последователями. В настоящее время под руководством академика Е.В. Гришина – заведующего лабораторией нейрорецепторов и нейрорегуляторов ИБХ РАН – разработаны общие подходы для идентификации, выделения и структурного анализа зоотоксинов. Сформулированы общие принципы использования нейротоксинов в качестве инструментов для исследования рецепторных компонентов мембраны нервной клетки. Выполнены пионерские исследования быстрых натриевых каналов электровозбудимых мембран, впервые выделены и охарактеризованы все индивидуальные компоненты натриевого канала, играющего ключевую роль в процессах реполяризации мембранного потенциала в сердце человека. Сотрудниками лаборатории проведены систематические исследования ядов пауков, скорпионов, муравьев и змей (всего более 50 видов ядовитых животных),

---

<sup>5</sup> На очередном XXIII международном конгрессе по пчеловодству в Москве был проведен отдельный симпозиум по апитерапии в рамках Международной организации по пчеловодству – Апимондии.

<sup>6</sup> Впервые метод электростимуляции пчел был описан Марковичем и др. из Чехословакии в 1954 году, болгарские авторы отдают первенство в применении электрического раздражения пчел Лазову (1960), а американцы – Бенгону (1963).

<sup>7</sup> Ныне Институт биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН).

в которых были идентифицированы более 150 различных токсинов, из них 136 выделены и охарактеризованы впервые. В процессе этой работы были открыты: новый класс токсинов пауков типа аргиопина – полиаминных блокаторов глутаматных рецепторов; семейство высокомолекулярных селективных нейротоксинов из яда каракурта («черной вдовы») – латротоксинов; мембраноактивные пептиды из яда муравьев и пауков; полипептидные токсины, специфичные для натриевых, калиевых и кальциевых каналов. Проведено детальное исследование рецепторов латротоксина и рецепторов аргиопина; открыт новый тип ионотропных глутаматных рецепторов; установлено существование в пресинаптической мембране нервной клетки функционального комплекса – синаптосекретосомы и нового рецептора – латрофилина, обуславливающих процесс секреции нейромедиатора. Выполненные приоритетные исследования позволили приблизиться к пониманию молекулярных механизмов специфичности действия токсинов и заложили основу для разработки принципиально новых высокоспецифичных лекарственных средств и инсектицидов.

Еще в конце XX века во всем мире по различным аспектам зоотоксикологии публиковалось около 10000 экспериментальных и клинических работ в год. Это прежде всего свидетельствует о большом интересе ученых разных стран к ядовитым животным и их ядам.

Зоотоксикология – обширное поле деятельности для молодых специалистов, которые могут внести свой достойный вклад в изучение природных биологически активных веществ и расширить сферу их применения на благо человека.

## ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ЯДОВИТЫХ ЖИВОТНЫХ. ВОПРОСЫ ТЕРМИНОЛОГИИ

*Зоотоксикология* является составной частью *токсикологии* – науки о ядах животного, растительного и микробного происхождения, их химической природе и механизмах действия.

**Определения и классификация.** Ядовитость – универсальное явление в живой природе. Среди животных организмов ядовитые формы встречаются практически во всех таксонах. Ядовиты очень многие растения. Хорошо известна высокая токсичность бактериальных ядов. Биологическая ядовитость имеет относительный характер. Е.Н. Павловский писал: «Ядовитость животного является свойством относительного значения: оно проявляется лишь при действии ядовитого животного на какой-либо другой организм, становящийся объектом действия яда». Таким образом, яды, вырабатываемые теми или иными организмами, служат химическими факторами, участвующими в межвидовых (или аллелохимических) взаимодействиях. Примеры использования химических веществ для нападения или защиты встречаются на всех ступенях эволюционного развития. Вещества, участвующие в аллелохимических взаимодействиях и приносящие пользу организму-продуценту, называют алломонами (Уиттхер, Фини, 1971). К их числу относятся:

1. Отпугивающие вещества.
2. Вещества, прикрывающие бегство (чернильная жидкость у головоногих).
3. Супрессоры (антибиотики).

4. Яды.
5. Индукторы (вызывают образование галлусов, узелков и т.д.).
6. Противоядия.
7. Приманки (привлекают добычу к организму-хищнику).

Экологический подход к проблеме ядовитости – это прежде всего подход общенаучный, позволяющий связать воедино особенности биологии данного вида со спецификой химической структуры и механизмов действия вырабатываемого им яда. Природа дает нам огромное разнообразие примеров химии ядов, их токсичности, способов и мест образования в теле организма-продуцента, а также приемов использования. Наряду с различиями существуют и черты общности, позволяющие сгруппировать ядовитых животных по определенным признакам. Е.Н. Павловский (1950) предложил всех ядовитых животных разделить на две большие группы: первично-ядовитые и вторично-ядовитые. В последующем эта классификация была усовершенствована (рис. 1). К *первично-ядовитым* относят животных, вырабатывающих ядовитый секрет в специальных железах или имеющих ядовитые продукты метаболизма. Как правило, ядовитость первично-ядовитых животных является видовым признаком и встречается у всех особей данного вида. Ко *вторично-ядовитым* относят животных, аккумулирующих экзогенные яды и проявляющих токсичность только при приеме их в пищу. Примером тому могут служить пластинчатожаберные моллюски, накапливающие в своем теле яд некоторых динофлагеллят; насекомые, питающиеся на ядовитых растениях; рыбы, вызывающие отравления типа сигуатера, и др.

Первично-ядовитые животные различаются по способам выработки яда и его применения и делятся на активно- и пассивно-ядовитых. *Активно-ядовитые* животные, имеющие специализированный ядовитый аппарат, снабженный ранящим устройством, называются *вооруженными*. В типичном случае ядовитый аппарат таких животных имеет ядовитую железу с выводным протоком и ранящее приспособление: зубы у рептилий, жало у насекомых, колючки и шипы у рыб. В деталях строение ядовитого аппарата может варьировать, однако для всех вооруженных животных характерно наличие ранящего приспособления, позволяющего вводить ядовитый секрет в тело жертвы парентерально, то есть минуя пищеварительный тракт. Такой способ введения яда следует признать наиболее эффективным для допродуцирующего организма. Другую группу активно-ядовитых животных составляют организмы, ядовитые аппараты которых лишены ранящего приспособления – *невооруженные* ядовитые животные. Примерами таких ядовитых аппаратов могут служить кожные железы амфибии, анальные железы насекомых, Кювьеровы органы голотурий. Ядовитые секреты этих желез вызывают токсический эффект при контакте с покровами тела жертвы. Чем энергичнее идет всасывание ядов с таких покровов (особенно слизистых), тем эффективнее его действие.

У *пассивно-ядовитых* животных ядовитые метаболиты вырабатываются в организме и накапливаются в различных органах и тканях (пищеварительных, половых), как, например, у рыб, хвостатых амфибий, моллюсков, насекомых. Таким образом, токсинологическая классификация ядовитых животных может быть представлена в следующем виде:





Рис. 1. Токсикологическая классификация ядовитых животных (Орлов, Гелашвили, 1985)

Пассивно-ядовитые и вторично-ядовитые животные представляют опасность только при попадании в пищеварительный тракт, однако существенным различием между ними является постоянство ядовитости (видовой признак) для первых и ее спорадический характер для вторых. Приведенная классификация ядовитых животных не единственная, существуют и другие варианты, однако в пособии мы будем придерживаться этой классификации.

**Терминология.** Важной проблемой для зоотоксикологии, как и для любой другой дисциплины, является вопрос терминологии. *Термины* – это язык науки, и наука не может развиваться без своего языка и четкого словаря. При описании ядовитых животных и продуцируемых ими биологически активных веществ наиболее часто приходится оперировать терминами «яд» и «токсин». Являются ли они синонимами или же несут разную смысловую нагрузку? Токсикологи к ядам относят химические соединения, отличающиеся высокой токсичностью, то есть способные в минимальных количествах вызывать тяжелые нарушения жизнедеятельности (отравление) или гибель животного организма. Токсинами традиционно называют белковые вещества, образуемые преимущественно микроорганизмами и некоторыми животными и обладающие ядовитым действием. Одним из характерных качеств токсинов считается наличие антигенных свойств. Значительное расширение числа токсинов, выделенных из природных объектов, среди которых оказалось и много небелковых, заставляет пересмотреть критерии термина «токсин». В настоящее время термин «токсин» чаще всего относят к индивидуальному химическому веществу (независимо от его природы), выделенному из того или иного яда или тканей ядовитого животного. Тем самым разграничивается действующее начало яда и целый яд, являющийся, как правило, многокомпонентной смесью различных биологически активных веществ. Обычно термин «яд» применяют к секретам специализированных ядовитых желез животных (змей,

насекомых, амфибий и пр.). В свою очередь, слово «токсин» широко используется при образовании новых терминов, подчеркивающих источник происхождения данного токсина (зоотоксины, фитотоксины, тетродотоксин, аплизиадоксин, батрахотоксин) либо особенности его физиологического или фармакологического эффекта (нейротоксины, цитотоксины, кардиотоксины).

Учитывая сложившуюся в токсинологии практику употребления термина «токсин», мы будем понимать под этим названием индивидуальное химическое соединение природного происхождения, характеризующееся высокой биологической активностью (токсичностью).

## ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ЗООТОКСИНОВ

Экспериментальное изучение зоотоксинов связано с двумя основными направлениями: исследованием химической природы зоотоксинов и выяснением механизмов их токсического действия. Эти два направления – химическое (включающее подходы биохимии и биоорганической химии) и физиологическое (патофизиологическое) – взаимосвязаны, поскольку механизм действия химического соединения в первую очередь обуславливается особенностями его структуры. Принцип «от структуры токсина к функции» должен быть руководящим при изучении зоотоксинов. Однако нередко сложность структуры того или иного токсина превышает разрешающую способность химических методов установления структуры на данный период. В таких случаях сведения об особенностях фармакологического эффекта могут дать косвенную дополнительную информацию о строении молекулы токсина либо его активного центра. Установление химической структуры зоотоксинов – одна из наиболее сложных задач химии природных соединений. Прежде чем в пробирке химика окажется индивидуальный токсин, необходимо затратить очень много времени и сил, большая часть которых уходит на очистку исходного продукта (яда или экстракта тканей), выделение из него активных фракций, получение химически чистых веществ с их последующей идентификацией. Прогресс в области изучения химического состава зоотоксинов и установления структуры индивидуальных токсинов в настоящее время связывают с успехами *токсиномики* (рис. 2). Токсиномика – область научного знания, активно использующего методические средства, имеющиеся в арсенале биохимии, физиологии, генетики, клеточной биологии, молекулярной биологии и биоинформатики, для изучения молекул, синтезируемых ядовитыми организмами<sup>8</sup>.

Изучение механизмов действия зоотоксинов основано на классических методах токсикологии, фармакологии, физиологии, биохимии и других наук, позволяющих количественно оценить действие токсинов как на организм в целом, так и на его отдельные функциональные системы и органы. Базовые характеристики зоотоксинов можно получить при изучении их токсикометрии, токсикокинетики и токсикодинамики.

---

<sup>8</sup> Сравни с *протеомикой* – наукой, основным предметом изучения которой являются белки, их функции и взаимодействия в живых организмах, в том числе – в человеческом. Основная задача протеомики – количественный анализ экспрессии белков в клетках в зависимости от их типа, состояния или влияния внешних условий. Протеомика осуществляет сравнительный анализ больших групп белков – от всех белков, вовлеченных в тот или иной биологический процесс, до полного протеома. *Токсиномика* изучает токсины не только белковой (полипептидной) природы.



Рис. 2. Из лекции, прочитанной академиком Е.В. Гришиным на зимней школе «Современная биология и биотехнологии будущего» в Пущино зимой 2013 г.

**Токсикометрия**<sup>9</sup>. В *токсикометрии* зоотоксинов важнейшей их характеристикой является токсичность – свойство химического вещества в минимальном количестве вызывать патологические изменения, ведущие к нарушению основных процессов жизнедеятельности организма и к его гибели. Действие веществ, приводящее к нарушению функций биологических систем, называется *токсическим*. В основе токсического действия лежит взаимодействие вещества с биологическим объектом на молекулярном уровне. Химизм взаимодействия токсиканта и биологического объекта на молекулярном уровне называется *механизмом токсического действия*. Следствием токсического действия веществ на биологические системы является развитие *токсического процесса*, под которым понимается формирование и развитие реакций биосистемы на действие токсиканта, приводящих к её повреждению (то есть нарушению её функций, жизнеспособности) или гибели. Важнейшим элементом любого токсикологического исследования является изучение характеристик, закономерностей формирования токсического процесса. Поэтому можно сказать, что токсикология – это наука о токсическом процессе. Механизмы формирования и развития токсического процесса, его качественные и количественные характеристики определяются, прежде всего, строением вещества и его действующей дозой.

Токсичность<sup>10</sup> – один из основных количественных параметров, отражающих биологическую активность зоотоксинов. Токсичность проявляется и может быть изучена только в процессе взаимодействия химического вещества и биологических систем (клетки, изолированного органа, организма, популяции). В современных токсикологии и фармакологии токсичность принято выражать в величинах, кратных *средней смертельной дозе* ( $DL_{50}$ ), то есть дозе, вызывающей гибель 50% экспериментальных животных в течение фиксированного интервала времени (обычно 12 или 24 ч). Следует заметить, что  $DL_{50}$  – частный случай *средней эффективной дозы*  $ED_{50}$ , вызывающей некий изучаемый эффект в 50% случаев.

<sup>9</sup> Токсикометрия (toxicometry) – совокупность приемов количественной оценки токсичности веществ.

<sup>10</sup> Токсичность (toxicity) – свойство химических веществ оказывать повреждающее или летальное действие на живые организмы.

Последняя в различных вариантах довольно часто используется в токсикологических исследованиях, когда для выявления специфического эффекта удобнее регистрировать не смертность, а нарушение или выключение какой-либо физиологической функции. При характеристике токсичности экстрактов тканей или органов ядовитых животных часто пользуются *мышинными единицами* (м.е.) – количеством вещества, которое необходимо, чтобы убить мышь массой 20 г в течение 20 мин. Обычно активность экстракта выражают количеством м.е., содержащихся в 1 мг продукта. Например, активность тарихотоксина из яиц калифорнийского тритона *Taricha torosa* составляет 3000 м.е./мг. Это означает, что 1 мг вещества достаточно, чтобы убить 3000 мышей массой 20 г.

Из-за высокой токсичности зоотоксины иногда включают в группу ультраядов – химических веществ, токсичность которых выше цианистого калия и не превышает 1000 мкг/кг (табл. 1). Отсюда понятен тот интерес, который проявляется к зоотоксинам как к потенциальным боевым отравляющим веществам.

Таблица 1

Сравнительная токсичность различных ядов  
(Орлов, Гелашвили, 1985)

Яд (токсин) и источник его получения	DL <sub>50</sub> , мышь, мкг/кг
Цианид калия (синтетический)	10000
Мускарин (алкалоид мухоморов)	1000
Зоман (боевое отравляющее вещество)	100
Нейротоксин яда кобры ( <i>Naja oxiana</i> )	75
Нейротоксин яда скорпиона ( <i>Androctonus australis</i> )	9
Тетродотоксин рыбы фугу ( <i>Tetraodon</i> sp.)	8
Сакситоксин (динофлагеллаты <i>Gonyaulax</i> sp.)	8
Батрахотоксин (кожный яд амфибий <i>Phyllobates</i> sp.)	2
Тайпоксин яда змеи <i>Oxyuranus scutellatus</i>	2
Палитоксин кишечнорастворимых <i>Palythoa</i> sp.	0.15
Тетанотоксин (бактерии)	0.001
Ботулотоксин (бактерии)	0.0003

**Токсикокинетика**<sup>11</sup>. С позиций токсикокинетики организм представляет собой сложную систему, состоящую из большого числа компартментов (кровь, ткани, внеклеточная жидкость, внутриклеточное содержимое и т.д.) с различными свойствами, отделенных друг от друга биологическими барьерами. В ходе поступления, распределения, выведения вещества осуществляются процессы его растворения, диффузии, конвекции в жидких средах, осмоса, фильтрации через биологические барьеры. К числу барьеров относятся клеточные и внутриклеточные мембраны, гистогематические барьеры (например гематоэнцефалический), покровные ткани (кожа, слизистые оболочки). Кинетика веществ в организме – это, по сути, преодоление ими биологических барьеров и распределение между компартментами. В ходе поступления, распределения, выведения вещества осуществляются процессы его перемешивания (конвекция), растворения в биосредах, диффузии, осмоса, фильтрации через биологические барьеры.

<sup>11</sup> Токсикокинетика (от токсико... и греч. kinetikos – приводящий в движение, движущий) – раздел токсикологии, в рамках которого изучаются закономерности резорбции, распределения, биотрансформации ксенобиотиков в организме и их элиминации.

Конкретные характеристики токсикокинетики определяются как свойствами самого вещества, так и структурно-функциональными особенностями организма. Важнейшими характеристиками вещества, влияющими на его токсикокинетические параметры, являются:

- коэффициент распределения в системе масло/вода – определяет способность накапливаться в соответствующей среде: жирорастворимые – в липидах; водорастворимые – в воде;

- размер молекулы – влияет на способность диффундировать в среде и проникать через поры биологических мембран и барьеров;

- константа диссоциации – определяет относительную часть молекул токсиканта, диссоциировавших в условиях внутренней среды организма, то есть соотношение молекул, находящихся в ионизированной и неионизированной формах. Диссоциировавшие молекулы (ионы) плохо проникают через ионные каналы и не проникают через липидные барьеры;

- химические свойства – определяют сродство токсиканта к химическим и биохимическим элементам клеток, тканей и органов.

*Токсикокинетика* зоотоксинов изучает закономерности всасывания, распределения, метаболизма и выведения токсинов из организма. При оценке токсичности зоотоксинов важное значение приобретают пути их введения в организм. Существующие пути введения обычно подразделяют на *энтеральные* (через пищеварительный тракт) и *парентеральные* (минуя пищеварительный тракт). В естественных условиях пути введения зоотоксинов в организм жертвы определяются особенностями биологии организма-производителя и химической природой токсинов. Как правило, белковые токсины (змей, насекомых, паукообразных) вводятся с помощью вооруженного ядовитого аппарата парентерально, так как многие из них разрушаются пищеварительными ферментами. Напротив, токсины небелковой природы эффективны и при энтеральном введении (токсические алкалоиды амфибий, токсины рыб, моллюсков и др.). Некоторые животные, защищаясь, разбрызгивают свои яды в виде аэрозоля, эффективность которого зависит от состояния покровов жертвы и локальной концентрации токсических веществ. В эксперименте способ введения токсинов определяется задачей исследования.

Попавший в организм яд распределяется весьма неравномерно. Существенное влияние на распределение оказывают биологические барьеры, к которым относят стенки капилляров, клеточные (плазматические мембраны), гематоэнцефалический и плацентарный барьеры. При парентеральном введении (укусы, ужаления) в месте инокуляции образуется первичное депо яда, из которого происходит поступление токсинов в лимфатическую и кровеносную системы. Скорость дренирования яда во многом определяет быстроту развития токсического эффекта. Для изучения токсикокинетики зоотоксинов широко используют их радиоактивные дериваты.

Большинство зоотоксинов подвергается в организме определенным химическим превращениям. К сожалению, биотрансформация зоотоксинов в организме реципиента – наименее разработанная область зоотоксинологии. Биотрансформация в определенной мере обуславливает биологическую резистентность некоторых животных к зоотоксинам. В последнее время в крови некоторых грызунов были обнаружены белковые факторы, инактивирующие геморрагическое действие змеиных ядов.

При выведении зоотоксинов из организма основную тяжесть на себя принимают почки – отсюда и широкая распространенность нефритов при отравлении

зоотоксинами. Частично зоотоксины могут выводиться и с другими веществами, например с молоком кормящей матери. Подобные случаи описаны, и их необходимо иметь в виду.

**Токсикодинамика**<sup>12</sup>. *Токсикодинамика* зоотоксинов изучает наиболее типичные эффекты этих веществ, локализацию и механизмы действия. Действие зоотоксинов может носить местный и резорбтивный<sup>13</sup> характер. И в том и в другом случае зоотоксины оказывают прямое и рефлекторное влияние. Действие зоотоксинов, развивающееся в месте его первичного воздействия, называется *местным*. В зависимости от химической природы ядов местное действие может быть сильным (яды кишечнорастворимых, гадюк, гремучников, жалоносных перепончатокрылых и др.), в тяжелых случаях приводящим к некрозу (омертвлению) пораженной ткани. В других случаях преобладают общие симптомы отравления, развивающиеся после всасывания яда из первичного депо (яды элапид, каракурта и др.). Нужно заметить, что истинно местное действие, как правило, не наблюдается, так как определенное количество токсинов всасывается и оказывает резорбтивный эффект. Скорость проявления резорбтивного эффекта зависит от путей введения токсинов и их способности проникать через биологические барьеры.

Важное значение в формировании интегральной картины отравления зоотоксинами имеет и их рефлекторное действие, связанное с влиянием на экстеро- или интерорецепторы и с соответствующим изменением функционального состояния нервных центров либо эффекторных органов.

Использование тонких инструментальных методов исследования позволяет изучать места связывания и механизмы действия зоотоксинов на организменном, органном, клеточном и молекулярном уровнях. При этих исследованиях в первую очередь выявляют биологический субстрат, на который направлено действие того или иного токсина. Иными словами – обнаруживают рецепторы токсинов в сложных биосистемах. Это позволяет не только понять патогенез<sup>14</sup> отравления, но и использовать зоотоксины для выделения и характеристики этих рецепторных структур. Яркие примеры такого использования зоотоксинов – характеристика холинорецептора с помощью нейротоксинов змеиных ядов и компонентов натриевых каналов нервных мембран с применением токсинов амфибий, рыб и скорпионов. В случае, когда эффект зоотоксинов на рецепторы аналогичен физиологическому, говорят о действии токсинов как агонистов. Это действие может быть стимулирующим или угнетающим данную физиологическую функцию. Часто зоотоксины выступают в роли антагонистов эндогенных физиологических регуляторов, вызывая нарушение деятельности системы, органа или всего организма. Высокая специфичность действия зоотоксинов определяет во многих случаях конкурентный характер их антагонизма по отношению к эндогенным веществам (медиаторам и др.).

Обратимый или необратимый характер действия токсина зависит от связи лиганд – рецептор, которая может быть прочной (ковалентной) или менее прочной (электростатической, гидрофобной и др.). Важной характеристикой зоотоксинов

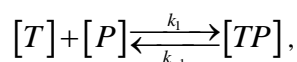
---

<sup>12</sup> Токсикодинамика (от токсико... и греч. dynamis – сила) – раздел токсикологии об эффектах, возникающих в организме под влиянием яда. Токсикодинамика занимается изучением механизмов, лежащих в основе токсического действия различных химических веществ, закономерностей формирования токсического процесса, его проявлений под влиянием яда.

<sup>13</sup> Resorbeo (лат.) – поглощать.

<sup>14</sup> Pathos (греч.) – страдание, genesis (греч.) – происхождение.

является избирательность (селективность) их действия, то есть способность повреждать определенные клетки-мишени, не затрагивая другие, даже если оба вида клеток находятся в непосредственном контакте. В основе избирательности лежит сродство токсина к рецептору. Сродство токсина к данному типу рецепторов определяется структурно-пространственной организацией молекулы и ее активных функциональных группировок, обеспечивающих узнавание рецептора и связывание с его активным центром. В простейшем случае, когда одна молекула токсина [Т] соединяется с одним рецептором [Р] (при избытке токсина), образование комплекса «токсин – рецептор» [ТР] описывается уравнением



где  $k_1$  – константа скорости образования комплекса [ТР];  $k_{-1}$  – константа скорости диссоциации этого комплекса. Отношение констант прямой и обратной реакций  $k_1/k_{-1} = K_c$  называют константой сродства, а обратную ей величину – константой диссоциации  $K_d$ . Численно  $K_d$  равна концентрации вещества, дающего 50% эффекта, и может быть найдена по графику зависимости «доза – эффект». Нетрудно видеть, что чем меньше значение  $K_d$ , тем выше сродство токсина к данному рецептору<sup>15</sup>.

**Некоторые особенности токсикодинамики зоотоксинов.** Высокая поражающая способность большинства ядов животного происхождения связана с присутствием в их составе токсинов, характеризующихся высокой специфичностью действия на определенные биосубстраты. Таковы, например, нейротоксины змей, нарушающие передачу возбуждения в нервно-мышечных синапсах; токсины амфибий (батрахотоксин), рыб (тетродотоксин), простейших (сакситоксин), блокирующие распространение нервного импульса по нервному волокну; ферменты ядов гадюк и гремучников, воздействующие на систему свертывания крови, и др. По своей химической структуре токсины природного происхождения весьма разнообразны, в их числе можно встретить алифатические и гетероциклические соединения, алкалоиды, стероиды, неэнзиматические полипептиды и ферментативные белки. Некоторые из этих соединений можно условно назвать «истинными токсинами» в том смысле, что они не встречаются в организме реципиента и являются для него ксенобиотиками, то есть чужеродными веществами. В этом случае, по выражению М. Барбье (1978): «Отравление выглядит как несчастный случай, вызванный столкновением двух несовместимых типов метаболизма».

Другая группа компонентов природных ядов образована химическими веществами, встречающимися и в организме реципиента. К ним относятся ацетилхолин, гистамин, катехоламины (адреналин, норадреналин, дофамин), производные индола, различные ферменты и их ингибиторы. Токсический эффект этих соединений обусловлен избыточностью дозировки, значительно превышающей физиологические пределы их действующих концентраций в организме.

Важное значение в механизме действия зоотоксинов имеют аутофармакологические реакции, обусловленные гиперсекрецией эндогенных физиологических активных веществ под влиянием компонентов ядов. Например, высвобождение гистамина из тучных клеток под влиянием гистаминлибераторных пептидов ядов

---

<sup>15</sup>  $K_d$  – аналогична константе Михаэлиса ( $K_m$ ), характеризующей диссоциацию комплекса «фермент – субстрат» при описании кинетики обратимых ферментативных реакций.

перепончатокрылых; массивное высвобождение нейромедиаторов при действии токсина каракурта и нейротоксинов скорпионов; брадикининлибераторное действие змеиных ядов. Аутофармакологические реакции играют важную роль в патогенезе отравления зоотоксинами.

Биологическое значение зоотоксинов для их продуцентов связано с использованием ядов как оружия защиты или нападения. Защитное действие реализуется с помощью различных механизмов: аллогенного (болевого), репеллентного (отпугивающего) и некоторых других. При нападении на жертву на первый план выступает паралитическое (обездвиживающее) действие.

При экспериментальном изучении зоотоксинов большое значение приобретает адекватный выбор объекта исследований. Как правило, изучение зоотоксинов проводят на стандартных лабораторных животных (мышьях, крысах, кроликах и др.). Это позволяет получать сопоставимые результаты исследований, проводимых в различных лабораториях. Однако следует учитывать, что имеется корреляция между особенностями действия ядов и биологией их продуцентов. Поэтому важно знать, кто является типичной жертвой или врагом данного ядовитого животного.

## МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ЗООТОКСИНОЛОГИИ

Традиционные задачи, стоящие перед медициной в области зоотоксинологии, связаны с профилактикой и лечением отравлений животными ядами, а также их применением для диагностики и лечения различных заболеваний. В последние годы в связи с установлением специфических механизмов действия некоторых токсинов появилась возможность их использования в экспериментальной терапии для моделирования некоторых заболеваний нервной и сердечно-сосудистой систем, системы крови и др.

В международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем (англ. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems)<sup>16</sup>, в класс «V01-Y98. Внешние причины заболеваемости и смертности», подраздел «X20-X29. Контакт с ядовитыми животными и растениями» включены болезни, вызываемые химическими веществами (ядами), выделяемыми через зубы, волоски, иглы, щупальца и другой аппарат животных для выброса.

### Название болезни:

X20. Контакт с ядовитыми змеями и ящерицами (коброй, гюрзой, эфой, щитомордником, гадюкой, ядозубом, мамбой, гремучей змеей, морской змеей).

X21. Контакт с ядовитыми пауками (с пауком «черная вдова», тарантулом).

X22. Контакт со скорпионом.

X23. Контакт с шершнями, осами и пчелами (с осой «желтый жакет» – yellow jacket).

X24. Контакт с многоножками и ядовитыми тысячножками (тропическими).

---

<sup>16</sup> Документ, используемый как ведущая статистическая и классификационная основа в здравоохранении. Периодически (раз в десять лет) пересматривается под руководством ВОЗ. МКБ является нормативным документом, обеспечивающим единство методических подходов и международную сопоставимость материалов. В настоящее время действует Международная классификация болезней Десятого пересмотра (МКБ-10, ICD-10).



X25. Контакт с другими уточненными ядовитыми членистоногими (муравьями, гусеницами).

X26. Контакт с ядовитыми морскими животными и растениями (коралловыми полипами, медузами, анемонами, морскими огурцами, ежами).

X27. Контакт с другими уточненными ядовитыми животными.

X28. Контакт с другими уточненными ядовитыми растениями (попадание ядовитых веществ или токсинов через кожу при уколе колючками, иглами или другими путями).

X29. Контакт с неуточненными ядовитыми растениями и животными.

Клиническая картина отравлений, вызываемых различными ядовитыми животными, существенно отличается в зависимости от химической природы продуцируемых ими зоотоксинов и механизмов их поражающего действия. Конкретные симптомы отравления человека и животных различными зоотоксинами и меры оказания помощи будут рассмотрены в соответствующих разделах книги. Здесь же необходимо подчеркнуть, что лечение отравлений складывается, как правило, из симптоматического, патогенетического и специфического антидотного. Симптоматическая терапия направлена на устранение нежелательных симптомов (например боли), оказывающих существенное влияние на течение основного патологического процесса. Поэтому во многих случаях симптоматическая терапия выступает в роли патогенетической. Наиболее эффективными антидотами против ядов животного происхождения являются моновалентные сыворотки. Во многих странах мира их производят в промышленных масштабах, особенно против яда змей. Кроме моновалентных сывороток выпускаются поливалентные – активные против яда нескольких змей. налажено производство сывороток и против белковых ядов некоторых других животных – пауков, скорпионов, рыб и др. При всей своей терапевтической эффективности серотерапия не лишена побочных эффектов, главным образом развития аллергических реакций, иногда вплоть до анафилактического шока. Поэтому наряду с серотерапией интенсивно разрабатываются методы неспецифической терапии, основанной на знании конкретных патофизиологических механизмов действия того или иного яда.

В последнее время большое внимание уделяется разработке методов активной иммунизации населения с профилактическими целями. В Японии такие работы проводятся для профилактики отравлений ядом змеи хабу *Trimeresurus flavoviridis*, в США активной иммунизации очищенным ядом пчел, ос и других насекомых подвергают людей с повышенной чувствительностью к яду этих перепончатокрылых.

Другой аспект медицинской зоотоксинологии – использование целебных свойств зоотоксинов. В связи с этим нелишним будет вспомнить слова выдающегося врача XV века, химика, основоположника ятрохимии Теофраста Бомбаста фон Гогенгейма (Парацельса). В своей оправдательной речи, сказанной им по поводу обвинения в отравлении больных ядами (солями металлов, которые он применял в качестве лекарств), Парацельс произнес: «Все есть яд. Ничто не лишено ядовитости. И только доза отличает яд от лекарства». При оценке практической ценности любых фармакологических агентов, в том числе и зоотоксинов, решающее значение имеет интервал между их минимальными дозами, вызывающими лечебный эффект, и дозами, под влиянием которых могут возникнуть токсические эффекты. Этот интервал, обозначаемый как широта фармакологического действия, характеризует степень безопасности использования данного вещества в

лечебных целях. Окончательным критерием пригодности данного вещества для лечебных целей могут быть только клинические испытания. Однако в ходе предварительного экспериментального изучения можно получить количественную характеристику широты терапевтического действия препарата, выражаемую  $K = DL_{50}/ED_{50}$ , то есть отношением средней смертельной дозы к средней эффективной дозе (противосудорожной, анальгетической, цитостатической и т.д.). Чем выше значение  $K$ , тем больше широта фармакологического действия, тем перспективней данное соединение для клинических испытаний.

Наиболее известны и традиционно применяются в практической медицине препараты на основе пчелиного («Апифор», «Вирапин», «Унгапивен» и др.) и змеиного («Випросал», «Випротокс» и др.) ядов как обезболивающие и противовоспалительные средства. Змеиные яды применяются для диагностики и лечения болезни свертывающей системы крови. За рубежом в этих целях выпускаются препараты из змеиных ядов «Арвин», «Анкрод», «Стипвен», «Рептилаза», «Дефибраз». К сожалению, в нашей стране производство подобных препаратов еще не налажено, хотя яды змей фауны бывшего СССР (гюрзы, щитомордника, эфы) вполне пригодны для диагностических целей.

Изучение молекулярных основ эволюционной «гонки вооружений» имеет не только фундаментальное значение. В настоящее время созданы так называемые «дизайнерские» молекулы, представляющие собой модифицированные аналоги природных нейротоксинов с заданными свойствами, которые станут эффективными молекулярными «инструментами» исследования структуры и функций нервной системы. Разработка высокоселективных и видоспецифичных молекулярных «инструментов» позволит создать инсектициды нового поколения. Реалиями сегодняшнего дня становятся успехи биоинженерии по внедрению в геном растений инсектотоксинов, которые будут эффективно бороться с насекомыми-вредителями. Такие высокоселективные инсектотоксины будут оказывать адресное воздействие на вредителей и практически не затрагивать полезных насекомых (например пчёл). Наконец, высокоселективные нейротоксины являются первым шагом к созданию молекулярных соединений, необходимых для лечения заболеваний, связанных с дисфункцией ионных каналов (каналопатиями). Именно каналопатия являются причиной многих неврологических и психических расстройств, а также патологии скелетной и сердечной мускулатуры.

Другим важным аспектом является моделирование некоторых патологических состояний с помощью зоотоксинов, основанное на выявлении специфического механизма их действия. Так, с помощью яда гремучей змеи можно моделировать инфаркт миокарда; яды некоторых гадюк хорошо воспроизводят тромбгеморрагический синдром; пчелиный яд моделирует спазм коронарных сосудов сердца; яд скорпиона вызывает развитие эпилептиформных состояний и панкреатитов. Подобный подход имеет важное значение не только для моделирования патологических процессов с целью исследования их патогенеза, но и в плане экспериментальной терапии этих состояний.

## ОХРАНА И РАЦИОНАЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЯДОВИТЫХ ЖИВОТНЫХ

Общее число выделенных и описанных видов животных превышает миллион, тогда как количество ныне живущих видов, по разным оценкам, составляет от 5 до 10 миллионов. Несмотря на эти астрономические цифры, именно в наше время

происходит катастрофическое уменьшение числа видов в результате хозяйственной деятельности человека. И этот процесс касается, может быть, даже в большей степени ядовитых животных, чем других.

Охрана ядовитых животных включает, по меньшей мере, два аспекта: охрану полезных для человека видов, которые являются источником ценных ядовитых веществ (змеи, пчелы и др.), опылителями растений (шмели, пчелы), хищниками или паразитами, уничтожающими вредных насекомых (жабы, муравьи, пауки, осы и др.); и охрану видов, полезность которых не установлена, но входящих в состав тех или иных биоценозов и обеспечивающих наряду с другими животными устойчивость биоценозов и их способность противостоять различным внешним воздействиям.

Причины сокращения численности ядовитых животных неодинаковы, как неодинаковыми должны быть и мероприятия по их охране. Так, численность змей заметно сократилась не только из-за укоренившегося обычая уничтожать их, но в результате интенсивного отлова змей для серпентариев, где они используются для многократного получения яда. Сокращение численности ядовитых насекомых связано, прежде всего, с применением пестицидов и инсектицидов, уничтожающих как вредную, так и полезную фауну. В этот перечень можно включить и загрязнение морей и океанов, и уничтожение промысловых (в том числе и ядовитых) рыб, попавших в тралы, и т.д.

Сокращение численности любого вида, а тем более его исчезновение, приводит к очень существенным и подчас необратимым изменениям в структуре биоценоза, а в конечном итоге – к нежелательным для человека последствиям. Каждый вид, как известно, занимает только ему присущую экологическую нишу и своим существованием создает предпосылки для появления новых экологических ниш, что и гарантирует бесконечность эволюции в пространстве и времени. Следовательно, преднамеренное или бессознательное уничтожение того или иного вида, пусть даже безусловно опасного для человека (например каракурта, некоторых видов скорпионов), может привести к непредсказуемым последствиям. Ряд ядовитых животных занесен в Красные книги. Так, в свое время в Красной книге СССР были представлены следующие виды амфибий и рептилий:

#### **Земноводные (Amphibia)**

Кавказская саламандра (*Mertensilla caucasica*)

Сирийская чесночница (*Pelobates syriacus*)

Кавказская крестовка (чесночница) (*Pelodytes caucasicus*)

Камышовая жаба (*Bufo calamita*)

#### **Пресмыкающиеся (Reptilia)**

Кавказская гадюка (*Vipera keznakovi*)

Носатая гадюка (*Vipera ammodytes transcaucasiana*)

Малоазиатская гадюка (*Vipera xanthina raddei*)

В настоящее время в Красную книгу России внесены следующие виды ядовитых животных:

#### **Земноводные (Amphibia)**

Кавказская крестовка (*Pelodytes caucasicus*)

Кавказская жаба (*Bufo verrucosissimus*)

Камышовая жаба (*Bufo calamita*)

Сирийская чесночница (*Pelobates syriacus*)

### **Пресмыкающиеся (Reptilia)**

- Кошачья змея (*Telescopus fallax*)
- Гадюка Динника (*Vipera dimniki*)
- Гадюка Казнакова (*Vipera kaznakovi*)
- Гадюка Никольского (*Vipera nikolskii*)

### **Круглоротые (Cyclostomata)**

- Морская минога (*Petromyzon marinus*)
- Каспийская минога (*Petromyzon wagneri*)
- Украинская минога (*Petromyzon mariae*)

### **Насекомые (Insecta)**

- Редчайший шмель (*Bombus unicus*)
- Изменчивый шмель (*Bombus proteus*)
- Армянский шмель (*Bombus armeniacus*)
- Шмель Черского (*Bombus czerskii*)
- Степной шмель (*Bombus fragrans*)
- Тулупчатый шмель (*Bombus mastrucatus*).

Укажем также некоторые виды ядовитых животных, внесенных в «Красный список угрожаемых видов» МСОП<sup>17</sup> (рис. 3).

Важное значение должно уделяться разъяснительной и пропагандистской работе среди населения. Все эти мероприятия, несомненно, принесут свои плоды.

Существует и другая сторона этой проблемы. Речь идет о рациональном и эффективном использовании ядовитых животных. В первую очередь это касается тех животных, чьи яды уже сегодня представляют интерес как сырье для фармацевтической промышленности либо интенсивно используются в научно-исследовательской работе. Многолетний опыт специализированных центров по изучению и содержанию ядовитых животных и получению от них ядов (например, знаменитый серпентарий Бутантан<sup>18</sup> в Бразилии, ряд серпентариев в США, Индии и других странах) доказывает, что при правильной постановке дела такие организации не только ликвидируют необходимость частых и массовых отловов ядовитых животных, но и являются экономически выгодными. По мнению специалистов, при создании оптимальных условий содержания змей в серпентариях яд от них можно получать в течение 10–15 лет. Если учесть, что сейчас змеи живут в серпентариях всего около года, то, очевидно, есть немалые резервы для совершенствования этого метода. Потребности в животных ядах непрерывно возрастают. Сейчас в сферу внимания специалистов различного профиля вовлечены не только традиционные продуценты ядов (змеи, пчелы), но и скорпионы, пауки и многие морские животные. Не случайно одна из крупнейших швейцарских фармацевтических фирм Hoffmann La-Roch содержит лабораторию в Австралии для биохимического изучения обитателей Большого Кораллового Рифа.

---

<sup>17</sup> «Красные списки угрожаемых видов» (англ. IUCN Red List of Threatened Animals) выходят под эгидой МСОП (Международного союза охраны природы).

<sup>18</sup> Институт Бутантан (порт. Instituto Butantan) – биомедицинский исследовательский центр, расположенный в городе Сан-Паулу, Бразилия на территории кампуса Университета Сан-Паулу. Институт был основан бразильским терапевтом и исследователем Виталием Бразилом в 1901 году. Имеет международную известность, прежде всего благодаря исследованиям ядовитых животных. Институт поддерживает крупнейшую в мире коллекцию змей, состоящую из более 54 тыс. экземпляров, и является главным производителем в штате Сан-Паулу поли- и моновалентных противоядий против укусов змей, ящериц, пчел, скорпионов и пауков.



*Ophiophagus hannah* –  
королевская кобра



*Cryptelytrops rubeus* –  
рубиновоглазый зеленый гремучник



*Himantura leopard* –  
леопардовый хвостокол



*Himantura toshi* – хвостокол Тоши



*Conus mercator* –  
конус Меркатора



*Ranitomeya fantastica* –  
красноголовый древолаз



*Cerastes gasperettii* –  
арабская рогатая гадюка

Рис. 3. Примеры ядовитых животных, находящихся под угрозой исчезновения и включённых в «Красный список» МСОП

\* \* \*

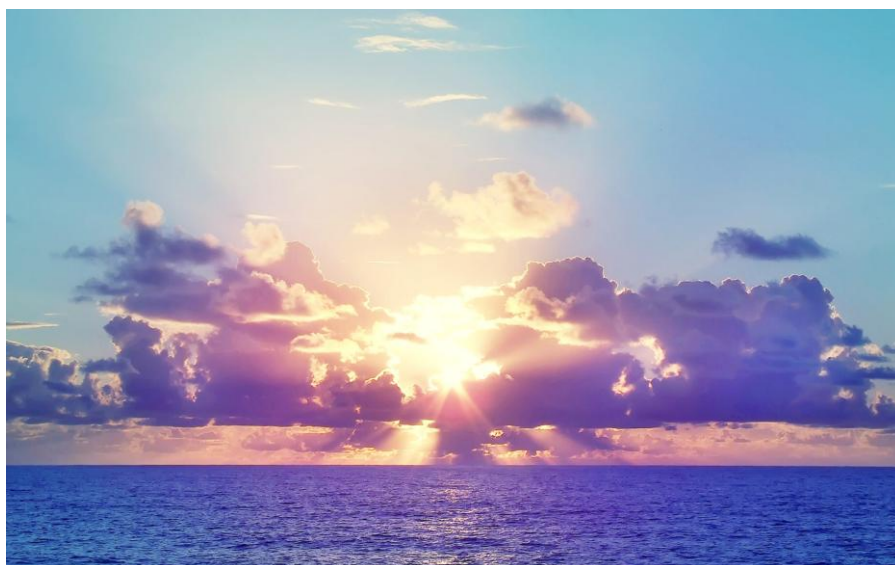
Критически оценивая перспективы рационального использования ядовитых животных и их ядов, следует иметь в виду, что современный этап их эксплуатации человеком – это, по существу, этап начальный. Разведка мест массового обитания продуцентов зоотоксинов, их отлов в больших количествах, связанный с изучением химической природы ядов и использованием их в качестве сырья, представляют значительные трудности. Необходимо стремиться к созданию качественной перестройки, когда во главу угла будет положен принцип получения синтетических аналогов токсинов с заданными свойствами.

---

## ЧАСТЬ I

# ЯДОВИТЫЕ МОРСКИЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ

- Глава 1. Токсичные организмы «красного прилива»
- Глава 2. Губки (Porifera)
- Глава 3. Стрекающие (Cnidaria)
- Глава 4. Черви (Vermes)
- Глава 5. Моллюски (Mollusca)
- Глава 6. Ремипедии (Remipedia)
- Глава 7. Иглокожие (Echinodermata)

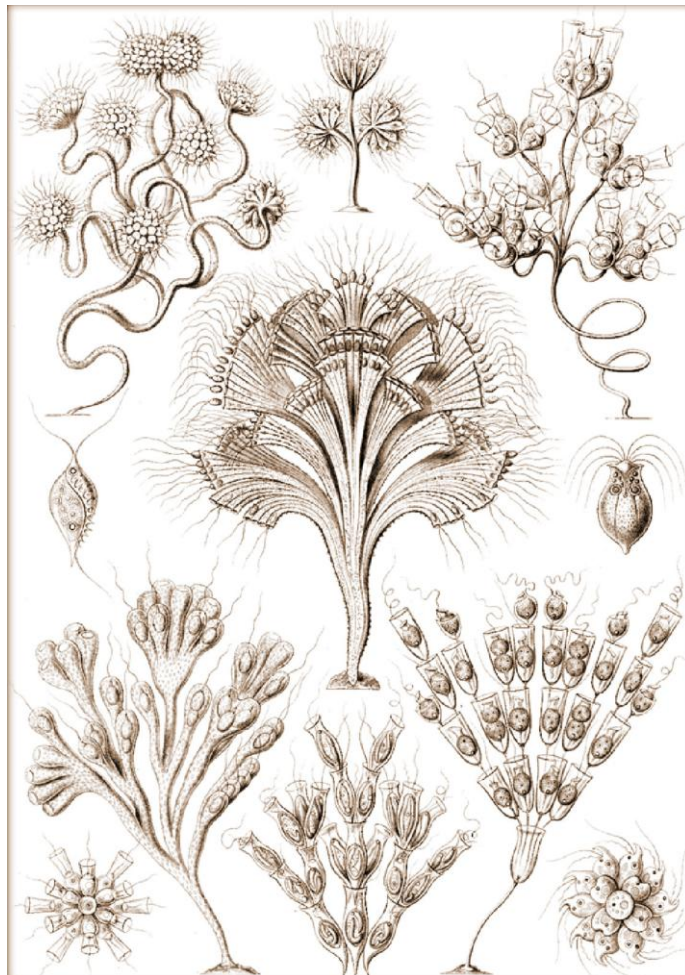


Wikipedia Commons

## ТОКСИЧНЫЕ ОРГАНИЗМЫ «КРАСНОГО ПРИЛИВА»

И поднял [Аарон] жезл и ударил по воде речной пред глазами фараона и пред глазами рабов его, и вся вода в реке превратилась в кровь, и рыба в реке вымерла, и река воссмердела, и Египтяне не могли пить воды из реки; и была кровь по всей земле Египетской.

*Исх. 7:20,21*



Э. Геккель, 1904



**К**расным приливом<sup>19</sup> (англ. red tides) называют бурное размножение динофлагеллат, окрашивающих воду в ржаво-красный цвет (рис. 1.1, 1.2). Это явление наблюдается в основном в прибрежных водах морей, но иногда охватывает огромные акватории. Красное «цветение» воды известно с древнейших времен. Об этом явлении писали Гомер и Тацит, Кук и Дарвин. Систематическое изучение «красных приливов» началось более 100 лет назад, и тем не менее до сих пор нет единого мнения о причинах, вызывающих массовое размножение динофлагеллат.

### 1.1. КЛАССИФИКАЦИЯ, БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ДИНОФЛАГЕЛЛАТ

Тип динофлагеллаты (Dinophyta, или Dinoflagellata) – тип протистов из группы альвеолят (Alveolata) – представляет собой широко распространённую группу преимущественно одноклеточных морских водорослей, крайне разнообразных по строению клетки, с широким спектром типов питания. Среди них есть фототрофы, гетеротрофы и миксотрофы. Из всех эукариотных первичных продуцентов в прибрежных морских водах динофлагеллаты уступают лишь диатомовым. Как одна из доминирующих групп морского фитопланктона они известны с триаса, то есть около 250 млн лет. Полагают, что уникальное сочетание примитивных и эволюционно продвинутых особенностей строения обеспечивает им процветание в современных условиях. В настоящее время насчитывают около 2000–2500 видов современных и 2500 ископаемых видов динофлагеллат. Это микроскопические одноклеточные организмы, обладающие признаками как растений, так и животных. Отдельные виды динофлагеллат содержат хлорофилл, другие его не содержат, так что их можно причислить к животному царству. Из-за неясного таксономического положения в системе органического мира, обладая признаками как растений, так и животных, динофлагеллаты привлекают внимание и ботаников, и протистологов. Для динофлагеллат характерны сложные жизненные циклы, особые формы бесполого и полового размножения, своеобразный сложный наружный скелет, уникальные экструсомы. Эту таксономическую группу рассматривают либо в составе фитопланктона, либо как компонент протозоопланктона, преимущественно гетеротрофного. «Двойственное» положение динофлагеллат служит источником трудностей при оценке их роли в водных сообществах. Исторически описание новых таксонов динофлагеллат осуществлялось как зоологами-протистологами, так и ботаниками-фикологами, как неонтологами, так и палеонтологами, которые руководствовались правилами и рекомендациями либо Международного кодекса ботанической номенклатуры (МКБН), либо Международного кодекса зоологической номенклатуры (МКЗН). В ряде случаев такая ситуация создала дополнительные сложности как при описании, так и при сведении в синонимы названий некоторых таксонов. Ряд авторов не считает динофлагеллат ни растениями, ни животными, а рассматривает их как протистов<sup>20</sup>. Однако ввиду

<sup>19</sup> Сюда же относят явления, называемые «цветениями» (англ. blooms) водорослей или водоемов, или *вредоносными «цветениями» водорослей* (англ. harmful algal blooms).

<sup>20</sup> Протисты (др.-греч. *πρότιστος* – самый первый, первейший) – парафилетическая группа, к которой относят все эукариотические организмы, не входящие в состав животных, растений и грибов. Название введено Эрнстом Геккелем в 1866 году, однако в современном понимании его впервые использовал в 1969 году Роберт Уиттекер, автор «системы



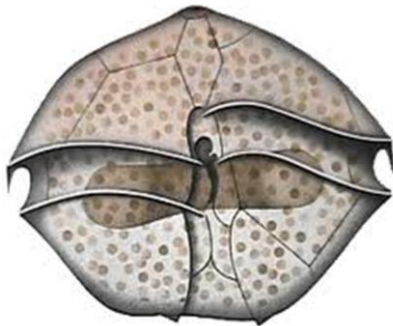
Рис. 1.1. «Красный прилив» (Wikipedia Commons)

того, что не существует официально принятого кодекса протистов, большинство специалистов, как палеонтологов, так и неонтологов, следует МКБН. Результаты молекулярно-биологических исследований динофлагеллат и некоторых других одноклеточных жгутиконосцев указывают на монофилетическое происхождение группы организмов, включающих споровиков, инфузорий и динофлагеллат, названной Alveolata. Изначально выделение группы было основано исключительно на сравнении первичной последовательности нуклеотидов нескольких генов, однако впоследствии была выявлена и морфологическая синапоморфия, заключающаяся в наличии альвеол – уплощённых мембранных цистерн, расположенных непосредственно под клеточной мембраной. Жгутиконосцы – жизненная форма протистов. Их «флагеллы», или «хвосты», дают им некоторую свободу передвижения. Они используют жгутики для локомоции и/или создания токов воды, приносящих пищу. Среди жгутиконосцев много как свободноживущих форм, так и паразитов, и симбионтов животных. Среди них есть одноклеточные моноэнергидные и полиэнергидные<sup>21</sup> формы, а также колониальные (например Eudogina) и многоклеточные (Volvox) формы. В целом для жгутиконосцев характерна тенденция к мелким размерам клеток и осмотрофному питанию, хотя среди них встречаются также очень крупные фаготрофные формы. Именно с динофлагеллатами связано такое экологическое явление как «красный прилив».

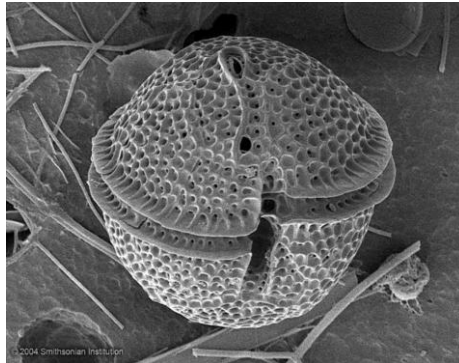
---

пяти царств». Традиционно протистов подразделяют на простейших (Protozoa), водоросли (Algae) и грибоподобные организмы; все эти группы имеют полифилетическую природу и не используются в качестве таксонов.

<sup>21</sup> Соответственно одно- и многоядерные.



*Gonyaulax catenella*



*Gonyaulax tamarensis*



*Karenia brevis*

(ранее известный как *Gymnodinium breve*)



*Prymnesium parvum*

Рис. 1.2. Динофлагеллаты – организмы «красного прилива» (Wikipedia Commons)

## 1.2. ОРГАНИЗМЫ «КРАСНОГО ПРИЛИВА»

«Красные приливы» могут быть токсичными или нетоксичными, в зависимости от вызывающего их вида организма, его физиологических и генетических особенностей и внешних экологических факторов (табл. 1.1).

Их начало и динамика еще не вполне объяснимы, однако отмечен значительный прогресс в изучении многочисленных аспектов «красных приливов» и токсичных одноклеточных организмов. «Цветения» отмечены во всех типах прибрежных экосистем, от эвтрофированных и загрязненных до чистых, от физически изолированных водоемов до акваторий, где преобладают мезомасштабные океанографические процессы. Трудности изучения «красных приливов» связаны со стихийностью их возникновения, сложностью прогнозирования и относительно коротким периодом существования. Интересное само по себе явление имеет и важное практическое значение, связанное с гибелью большого

числа рыб и других организмов, оказавшихся в зоне «цветения» воды. В то время как пищевые отравления паралитическими ядами – широко распространенное явление, желудочно-кишечные отравления, связанные с «красными приливами», ограничены в основном европейскими морями и атлантическими водами Канады. Пищевое отравления типа сигуатеры преимущественно отмечено в отдельных районах Карибского бассейна и тропической Пацифики. Масовая гибель рыб, связанная с токсичными видами *Pfiesteria*, *Pseudopfiesteria* и сходными с ними формами, характерна для эстуариев восточного побережья США; кроме того, токсичные виды сем. *Pfiesteriaceae* найдены у берегов Северной Европы и Новой Зеландии. В морях России случаи «красных приливов» отмечены на Дальнем Востоке. Высказано предположение, что в связи с глобальным наступлением «красных приливов» и развитием судоходства, в настоящее время возрастает угроза непроизвольного интродуцирования потенциально вредных и токсичных динофлагеллат в моря Российской Арктики. Вполне вероятно, что «красные приливы» образовали месторождения нефти и угля в региональном или даже планетарном масштабе.

Таблица 1.1

**Видовой состав динофлагеллат во время «красных приливов»  
(Bouer et al., 1981)**

Виды*	Район наблюдения	Год
<i>Gonyaulax** catenella</i>	Атлантическое побережье Канады	1966
<i>G. catenella</i>	Тихоокеанское побережье США	1972
<i>G. monilata</i>	Мексиканский залив	1971, 1972
<i>G. polihedra</i>	Тихоокеанское побережье США	1971
<i>G. tamarensis</i>	Атлантическое побережье США	1972, 1974
<i>G. excavata</i>	Атлантическое побережье Испании	1976
<i>Gymnodinium breve</i>	Мексиканский залив	1971, 1976
<i>Gymnodinium</i> sp.	Побережье Южной Африки	1970
<i>G. verficum</i>	Ла-Манш	1968
<i>Noctiluca scintillan</i>	Атлантическое побережье Испании	1971
<i>Pyrodinium bahamense</i>	Папуа – Новая Гвинея	1971
<i>P. phoneus</i>	Гонконг, Бельгия	1972 1939

\*Название видов дано по первоисточнику.

\*\* В настоящее время *Alexandrium*.

Для биологии динофлагеллат, как и других простейших, характерно образование покоящейся стадии – цисты. Таких цист на континентальном шельфе может насчитываться до нескольких тысяч в одном грамме песка. В какой-то непредсказуемый момент времени при благоприятных условиях роста цисты могут прорасти и плавать, давая начало новым динофлагеллатам, которые затем могут вызвать цветение воды. Таким образом обеспечивается выживание динофлагеллат от одного сезона к другому. Покоящиеся цисты динофлагеллат служат геологам для оценки возраста предполагаемых месторождений нефти. Нефть в древних отложениях содержит 4-метилстероидные углеводороды, которые, возможно, произошли из 4-метилстероидов динофлагеллат (Robinson et al., 1984).

Динофлагеллаты нуждаются в органическом углероде и минеральных веществах, в первую очередь в фосфорных и азотных соединениях. Фаготрофные формы получают их в форме взвешенных веществ, осмотрофные – в виде растворенных соединений. В целом динофлагеллаты чувствительны к высокому уровню турбуленции, которая задерживает их рост и клеточное деление. Поэтому нередко можно наблюдать их массовое развитие в спокойных водах и в отсутствие ветра. Взаимодействие турбуленции и скорости оседания клеток, вероятно, является причиной большинства сезонных сукцессий фитопланктона.

Между некоторыми динофлагеллатами и диатомовыми и между некоторыми динофлагеллатами и криптофитовыми существуют, по-видимому, антагонистические отношения. К аллелопатическим соединениям, вырабатываемым динофлагеллатами, относятся сакситоксины, жирные кислоты, полиэферы. Среди аллелопатических соединений, прижизненно выделяемых клетками водорослей, можно встретить альгициды, фунгициды, вещества с антибактериальным и противовирусным эффектом, которые влияют на сезонные сукцессии фитопланктонных сообществ наряду с экзогенными факторами.

Динофлагеллаты в целом проявляют, главным образом, пациентные свойства, согласно классификации Раменского – Грайма, которая выделяет три первичные жизненные стратегии: пациентность, виолентность и эксплерентность. Пациентность характеризуется высоким сродством к субстрату, использованием внутриклеточных запасов минеральных ресурсов, экономичностью метаболизма, компенсацией дефицита минеральных ресурсов за счет ассимиляции экзогенных органических субстратов, устойчивостью к воздействию токсичных метаболитов, способностью развиваться в экстремальных условиях среды. Пациенты обладают умеренной конкурентной чувствительностью, присутствуя в планктоне во время интенсивного развития диатомовых с выраженными виолентными свойствами, скорость роста популяций которых стремится к максимальной для быстрой эксплуатации ресурса (биогенных веществ). При истощении минеральных ресурсов среды и возрастании нересурсной составляющей фактора стресса (снижении температуры воды, освещенности, уменьшении продолжительности светового дня) вклад динофлагеллат в общую биомассу фитопланктона и их функциональная роль в фотосинтетической и гетеротрофной активности сообщества возрастают. Доминирование динофлагеллат по численности и биомассе в летне-осенний период в морях Евразийской Арктики подтверждает положение о преимущественной пациентности динофлагеллат.

За последние годы накопились данные, указывающие на связь между участвовавшими случаями загрязнения морской воды и появлением «красных приливов». С этим же можно связать «цветение» морской воды после обильных дождей, когда увеличившийся сток рек приносит в море продукты отходов промышленных предприятий и больших городов. Одним из факторов, стимулирующих «цветение» динофлагеллат, является увеличение концентрации железа в воде, что и предлагается некоторыми учеными в качестве прогностического показателя возможности возникновения «красных приливов». Рост количества особей *Gonyaulax catenella* – наиболее массового вида в «красных приливах» северо-западной части Тихого океана – стимулируется детергентами, содержащими нитрилтриацетатную кислоту.

Таблица 1.2

**Видовой состав моллюсков, содержащих паралитический яд  
(Boyer et al., 1981)**

<b>Виды</b>	<b>Район наблюдения</b>
<i>Turbo marmorata</i>	Папуа – Новая Гвинея
<i>Mya arenaria</i>	Атлантическое побережье от США до Великобритании и тихоокеанское побережье от США до Японии
<i>Mytilus californianus</i>	Алеутские о-ва, о. Сокорро
<i>Mytilus edulis</i> <i>Mytilus californianus</i>	Космополит
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Средиземное море
<i>Modiolus auriculatus</i>	Папуа – Новая Гвинея
<i>Modiolus modiolus</i>	Тихоокеанское побережье Северной Америки
<i>Crassostrea echinata</i>	Папуа – Новая Гвинея
<i>Crassostrea gigas</i>	Япония, северо-западная часть Тихого океана
<i>Ostrea edulis</i>	Побережья Европы
<i>Ostrea trapezina</i>	Папуа – Новая Гвинея
<i>Spondylus americanus</i>	Мексиканский залив
<i>Spondylus butleri</i>	Западные Каролинские о-ва
<i>Spondylus ducalis</i>	Филиппины, Индонезия, Микронезия
<i>Lopha cristagalli</i>	Западные Каролинские о-ва
<i>Anadara maculosa</i>	Папуа – Новая Гвинея
<i>Saxidomus giganteus</i>	Побережье Северной Америки
<i>Saxidomus nuttalli</i>	Побережье Калифорнии
<i>Pinctada maxima</i>	Папуа – Новая Гвинея

Адаптации к поглощению питательных веществ позволяют динофлагеллатам обитать в океанических тропических и субтропических районах с низким содержанием. Они могут образовывать максимумы хлорофилла на глубине 75–150 м. Океанические виды отличаются более развитыми клеточными выростами в форме рогов (*Protoperdinium*, *Seratium*) или крыльев (*Ornithocercus*, *Histioneis*, *Citharistes*, *Dinophysis*), что повышает соотношение поверхности клетки к ее объему, улучшает плавучесть и защищает от выедания более мелкими хищниками, чем мезопланктонные беспозвоночные и рыбы-планктофаги (Pollinger, 1988). Принято считать, что диатомовые в целом предпочитают холодные воды, а динофлагеллаты – теплые. Согласно другой точке зрения, диатомовые преобладают в прибрежных морских водах в начале вегетационного периода, а также в открытых арктических и субарктических водах. Позднее, по мере того как в прибрежной зоне умеренных районов и в открытом океане истощаются запасы силикатов, крайне важных для метаболизма диатомовых, динофлагеллаты получают преимущество в потреблении питательных веществ за счет способности к вертикальным миграциям и гетеротрофии.

Следует подчеркнуть, что чаще «цветение» морской воды проходит при сравнительно низком титре динофлагеллат и в дневное время может быть и не обнаружено. Однако ночью в результате люминесценции, присущей этим организмам, их скопления отчетливо видны в виде огоньков, вспыхивающих на гребнях волн. Ночное свечение было давно известно аборигенам Северной Америки как предупреждение о ядовитости моллюсков, питающихся планктоном. Обычно «цветение» динофлагеллат охватывает период с конца весны до осени. Очень многие моллюски (особенно двустворчатые) становятся ядовитыми в период «красных

приливов». Только в 30-е годы выяснилось, что токсичность «красных приливов» связана с динофлагеллатами, относящимися к родам *Gonyaulax*, *Gymnodinium*, *Peridinium* и др. Для многих стран, где моллюски входят в традиционный пищевой рацион, эта проблема имеет серьезное эпидемиологическое и экономическое значение. Известны вспышки массовых отравлений в Японии, Индонезии (о. Борнео), Испании, Италии, Франции, ФРГ, Швеции, США и Канаде (табл. 1.2).

### 1.3. ОБЩАЯ ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОРГАНИЗМОВ «КРАСНОГО ПРИЛИВА»

Среди приблизительно 80 видов морского фитопланктона, способных вырабатывать токсины, отмечены около 60 видов динофлагеллат. Более половины из них относятся к трем родам – *Prorocentrum*, *Alexandrium* (ранее *Gonyaulax*) и *Dinophysis* – и в меньшей степени к *Gambierdiscus*, *Ostreopsis* и *Karenia*. Остальные принадлежат в основном к примезиевым, рафидофитовым и диатомовым водорослям. Токсичные пресноводные динофлагеллаты представлены несколькими видами (например *Peridiniopsis polonicum* вырабатывает токсин *гленодинин*).

Токсины передаются по пищевой цепи в неизменном или частично трансформированном виде и могут накапливаться в организмах-фильтраторах (преимущественно в двустворчатых моллюсках), планктонных ракообразных, крабах, рыбах, морских птицах и млекопитающих. Токсичными могут быть не только вегетативные клетки, но и покоящиеся цисты. Некоторые исследователи утверждают, что токсичность цист имеет тот же порядок, что и динофлагеллаты, другие считают, что в цистах концентрация некоторых PSP-токсинов<sup>22</sup> от десяти до тысячи раз более высокая, чем в подвижных клетках.

Токсины могут выделяться живыми клетками или высвобождаются после их смерти. Популяция одного вида может содержать одновременно несколько токсинов различного действия.

Динофлагеллаты могут вырабатывать широкий спектр токсинов (табл. 1.3). Однако наиболее патогенными являются *сигуатоксины*, *майтотоксины* и *гамбиертоксины* (все три характерны исключительно для тропических и субтропических акваторий), а также *бреветоксины*, *сакситоксины* и *неосакситоксины*, *гониаутоксины* и *динофизистоксины*. Некоторые виды *Prorocentrum* и *Dinophysis* вырабатывают токсичную *окадаевую кислоту*. *Prorocentrum lima* способен также к выработке токсичной *домоевой кислоты*, до недавнего времени считавшейся метаболитом исключительно диатомовых рода *Pseudonitzschia*. Интересно отметить, что большинство токсичных видов, а также видов, способных вызывать «красные приливы» – фотосинтезирующие. Поэтому предполагают, что способность динофлагеллат вырабатывать токсины связана с наличием хлоропластов, которые, как известно, ведут свое происхождение от эндосимбиотических цианобактерий. Токсины значительно отличаются друг от друга по молекулярной массе ( $M_r$ ): от 312 Да у домоевой кислоты (аналог, или дериват аминовых кислот) до 3422 Да у мйтотоксина. Часто наблюдаемые синдромы отравления человека – это результат одновременного воздействия нескольких дериватов, различающихся по химической структуре. *Нейротоксины*, вызывающие паралитическое отравление при употреблении в пищу моллюсков (англ. paralytic shellfish poisoning, или

---

<sup>22</sup> Объяснение см. ниже.

PSP), такие как *сакситоксины*, *неосакситоксины* и *гониаутоксины*, блокируют натриевые каналы в нервных и мышечных тканях, не давая распространиться нервному импульсу и блокируя сокращение мышц. Домоевая кислота, вызывающая амнезию – «синдром отравления амнестическим ядом моллюсков» (ASP) (англ. amnesic shellfish poisoning, или ASP, также иногда называемый domoic acid poisoning, или DAP), действует как глутаматный активатор рецепторов центральной нервной системы.

Таблица 1.3

Группы токсичных организмов, их токсины и ареалы (Garrad et al., 2008)

Виды	Токсины	Ареалы
<b>Отравление сизуатерной рыбой (<i>ciguatera fish poisoning, CFP</i>)</b>		
<i>Gambierdiscus toxicus</i>	Гамбиертоксин (предшественники ? жирорастворимого сизуатокосина) Майтотоксин (водорастворимый токсин)	Тропики, Таити, Великобритания
<i>Ostreopsis</i> spp.	Остериотоксин (предшественник сизуатокосина?) Палитоксин-подобные аналоги	Тропики, Индийский океан, Великобритания, Япония, Н. Зеландия
<i>Coolia</i> spp.	Кулитоксин (предшественник сизуатокосина?)	Тропики, Великобритания, Н. Зеландия
<b>Отравление паралитическим ядом моллюсков (<i>paralytic shellfish poisoning, PSP</i>)</b>		
<i>Alexandrium catenella</i>	Сакситоксин и его аналоги (водорастворимые токсины возможно бактериального происхождения)	Заливы Мексики, Карибских о-в, Техаса, Луизианы, Восточного побережья Флориды
<i>Alexandrium minutum</i>		Средиземное море, Юго-Восточная Азия, Южная Австралия, Н. Зеландия
<i>Gymnodinium catenatum</i>		Тасмания, Н. Зеландия, Сингапур
<i>Pyrodinium bahamense</i> var. <i>compressum</i>		Тропические Филиппины, Индонезия, Малайзия, Папуа – Новая Гвинея, Бруней
<b>Отравление диарейным ядом моллюсков (<i>diarrhetic shellfish poisoning, DSP</i>)</b>		
<i>Dinophysis</i> spp.	Окадаевая кислота и ее дериваты (динофистоксин?)	Япония, тропики, Великобритания
<i>Prorocentrum</i> spp.	Окадаевая кислота и ее дериваты	Тропики, Великобритания
<i>Pseudonitzschia</i> spp.	Домоевая кислота (водорастворимый и термостабильный токсин)	Канада, Западное побережье США, Япония, Н. Зеландия



Яды, вызывающие диарейное отравление при употреблении в пищу морепродуктов (англ. diarrhetic shellfish poisoning, или DSP), такие как *динофизистоксины* и *окадаевая кислота*, являются ингибиторами некоторых протеинфосфатаз, провоцируя дегенеративные эффекты в эпителии, выстилающем тонкий кишечник, и иногда опухоли. *Пектентоксины* и *йессотоксин*, принадлежащие к этой же группе (DSP), у экспериментальных мышей вызывают повреждение сердечной мышцы после внутривентрикулярной инъекции. *Бреветоксины*, вызывающие неврологическое отравление при употреблении в пищу морепродуктов (англ. neurological shellfish poisoning, или NSP), в основном считаются *ихтиотоксинами*. Их эффект связан с воздействием на потенциал-зависимые натриевые каналы, и симптомы NSP в организме человека сходны с симптомами PSP. Кроме того, бреветоксины вызывают расстройство респираторной системы, жжение в глазах и в носу в случае непосредственного контакта с аэрозольными формами токсинов или при плавании в море. Отравление типа сигуатера<sup>23</sup> вызывается употреблением в пищу некоторых видов сигуатерных рыб (англ. ciguateric fish poisoning, или CFP). Действующее начало сигуатоксины и майтотоксины – циклические полиэферы с высокой молекулярной массой). Сигуатера характеризуется сложным набором симптомов, включающим расстройства пищеварительного тракта, сердечно-сосудистой, периферической и центральной нервной систем, и продуцируется микроводорослями *Gambierdiscus toxicus*. Майтотоксины (в целом считающиеся водорастворимыми) оказывают сильный возбуждающий эффект на потенциал-зависимые кальциевые каналы и при оральном введении в организм человека намного менее токсичны, чем жирорастворимые сигуатоксины. Сигуатоксины, аналогично бреветоксинам, воздействуют на потенциал-зависимые натриевые каналы и именно в том же месте, что и бреветоксины, чем, вероятно, объясняется сходство нейропатологических симптомов, вызываемых у млекопитающих этими разными группами ядов.

#### 1.4. ГРУППОВАЯ ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОРГАНИЗМОВ «КРАСНОГО ПРИЛИВА»

Ниже приведены краткие токсикологические характеристики организмов «красного прилива» в соответствии с принятой в литературе их групповой классификацией.

##### 1.4.1. Отравление паралитическим ядом моллюсков (paralytic shellfish poisoning, PSP)

Отравление человека паралитическими токсинами моллюсков обусловлено употреблением в пищу моллюсков, содержащих PSP-токсины. Эти токсины накапливаются в моллюсках, питающихся динофлагеллатами<sup>24</sup>, продуцентами этих токсинов. PSP-токсины представляют собой группу из 21 производного тетрагидропурина. Первым химически охарактеризованным токсином был сакситоксин (STX), который является наиболее токсичным из этой группы.

---

<sup>23</sup> Подробнее см. главу 15.

<sup>24</sup> Именно поэтому рассматриваются в данном разделе.

PSP-токсины продуцируются в основном динофлагеллатами, принадлежащими к роду *Alexandrium*<sup>25</sup>, обитающими как в тропической, так и умеренной климатических зонах. Моллюски, питающиеся этими водорослями, могут накапливать токсины, но сами моллюски довольно устойчивы к вредному воздействию этих токсинов. В течение последних лет наблюдается увеличение числа интоксикаций, вызванных PSP-токсинами. Однако пока не ясно является ли это увеличение реальным, или оно есть следствие совершенствования методов идентификации, обнаружения и диагностики. Свою роль может играть также расширение культурных и экономических связей, способствующее росту потребления моллюсков.

PSP-токсины образуют группу родственных тетрагидропуриновых соединений, которые составляют четыре подгруппы:

- I) карбонат-токсины: STX, neoSTX и гониаутоксины (GNTX 1-4);
- II) N-сульфо-карбомоил-токсины: GNTX 5-6, C 1-4;
- III) декарбомоил-токсины: deSTX, deneoSTX, deGNTX 1-4;
- IV) деокси-декарбомоил-токсины: deSTX, deneoSTX и deGNTX1.

Попытки изолировать PSP-токсины начались более ста лет назад. Развитие ионообменной хроматографии в конечном итоге привело к выделению в конце 50-х годов из моллюска *Saxidomus giganteus* (рис. 1.3), обитающего в водах Аляски, водорастворимых токсинов, что послужило причиной тривиального названия токсина – *сакситоксин* (STX). Аналогичные токсины были получены также из мидий *Mytilus colifomianus*. Впоследствии сакситоксин был выделен из динофлагеллат *Gonyaulax catenella* и, таким образом, была доказана причинная связь между токсичностью моллюсков и «красным приливом». Наконец, в 1975 году был синтезирован кристаллический STX и исследована его структура (Bower et al., 1981).

Как правило, сакситоксин накапливается в пищеварительной системе двусторчатых моллюсков. Например, у мидий (*Mytilus*) до 95% сакситоксина содержится в гепатопанкреасе. С другой стороны, у *S. giganteus* около 70% сакситоксина задерживается в сифоне, где он может сохраняться в течение нескольких месяцев. Обнаружение сакситоксина в мидиях, морских гребешках и других моллюсках приводит к закрытию их промысла в Калифорнии, Орегоне, Вашингтоне и Новой Англии. Есть сведения об обнаружении сакситоксина в морских рыбах (фугу) в Азии и в тилапии (Бразилия).

Источниками токсинов, аккумулируемых в моллюсках, являются несколько видов динофлагеллат рода *Alexandrium* – это *Alexandrium tamarensis*, *A. minutum* (син. *A. excavata*), *A. catenella*, *A. fraterculus*, *A. fundyense* and *A. cohorticula*. Токсичность динофлагеллат обусловлена смесью производных STX, состав которых отличается у разных видов и зависит от региона.

Кроме динофлагеллат, первичными продуцентами сакситоксина и его аналогов в пресных водах являются синезеленые водоросли *Aphanizomenon flos-aquae*. Среди вторично-ядовитых животных, аккумулирующих сакситоксин по пищевым цепям, кроме моллюсков следует указать крабов, обитающих на коралловых рифах. Наиболее токсичны *Zosimus acneus*, *Atergatis floridis*, *Platypodia granulosa*, *Carcinoscorpius rotundicauda* и некоторые другие.

---

<sup>25</sup> Ранее *Gonyaulax* или *Protogonyaulax*.



Рис. 1.3. *Saxidomus giganteus* (Wikipedia Commons)

Изучение продуцирования сакситоксина культурой клеток *G. catenella* показало зависимость этого процесса от светового и температурного режимов. Замечено, что по мере роста культуры содержание сакситоксина снижается, при этом увеличение освещенности до 14 ч приводит не только к снижению скорости роста культуры, но и к уменьшению выработки сакситоксина. Добавление в среду возможных предшественников сакситоксина (гуанина, пирувата, мочевины и др.), меченых  $^{14}\text{C}$ , показало их накопление в культуре. Однако при последующей очистке сакситоксина гель-фильтрацией и тонкослойной хроматографией было выяснено, что большинство из изученных предшественников все же в биосинтезе не участвует. Таким образом, вопрос о механизмах биосинтеза этого сакситоксина и его аналогов еще нуждается в решении.

**Клиника и профилактика отравлений.** Первые симптомы отравления сакситоксином после приема в пищу зараженных моллюсков появляются через 30 мин и выражаются в онемении языка, губ, кончиков пальцев. Прогрессивно развивается сердечно-сосудистая и дыхательная недостаточность, которая может привести к смертельному исходу через 1–12 ч вследствие остановки дыхания. Смертельная доза сакситоксина для взрослого человека (массой 70 кг) составляет (по разным данным) 0.3–1 мг<sup>26</sup>. Специфических антидотов не имеется, поэтому лечение носит симптоматический характер: искусственное дыхание, аналептики, сердечно-сосудистые средства, рекомендуется также применение внутрь бикарбоната натрия, поскольку токсины инактивируются в щелочной среде.

---

<sup>26</sup>Пилот разведывательного самолета У-2 Ф.Г. Пауэрс (США), сбитый над СССР 1 мая 1960 года, был снабжен полым серебряным долларом, содержащим крошечные иглы, пропитанные сакситоксином, которые он должен был использовать, чтобы покончить жизнь самоубийством в случае захвата в плен.

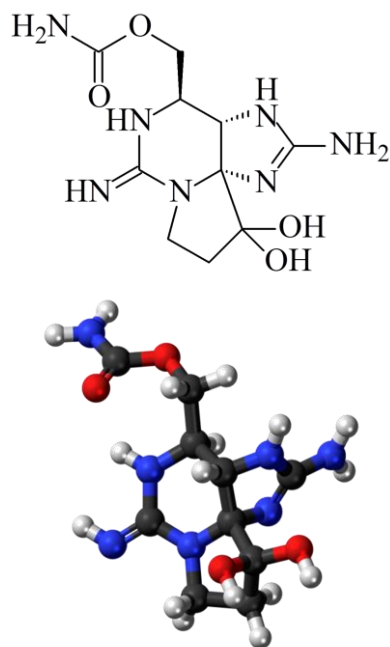


Рис. 1.4. Структура молекулы сакситоксина (Wikipedia Commons)

Важной проблемой является профилактика отравлений сакситоксином. В качестве одной из таких мер предложено пропускать через емкости с морской водой, в которой содержатся моллюски, озон или кислород. Пропускание газов в течение 72 ч приводит к снижению токсичности тканей моллюсков на 50–70%. Норвежские ученые обнаружили, что уже через 17 дней после переноса зараженных моллюсков из района, в котором наблюдалось «цветение» воды, в чистую воду они становились практически нетоксичными.

Химическая идентификация токсинов, вырабатываемых динофлагеллатами, весьма трудоемкая процедура. Поэтому широкое распространение приобрели методы биологического тестирования токсинов в планктоне или тканях съедобных моллюсков (последнее особенно важно при экспертизе их пригодности для продажи). Чаще всего активность сакситоксина и его аналогов выражают в мышинных единицах (м.е.). При этом следует иметь в виду, что биологические методы, как правило, дают более высокое содержание сакситоксина, чем химические, что объясняется присутствием в исследуемых образцах (динофлагеллат или моллюсков) наряду с сакситоксином и его аналогов. Так, например, при биологическом тестировании в культуре клеток *G. tamarensis* было обнаружено 55–180 мкг сакситоксина на 1 г клеток, а при химическом определении – только 7–12 мкг/г.

**Химическое строение.** Химическая природа сакситоксина была установлена в 60–70-е годы с помощью точных физико-химических методов – рентгеноструктурного анализа и ЯМР-спектроскопии. Сакситоксин – водорастворимый дериват пурина, образующий соли с минеральными кислотами. Его молярная масса 299.29 г/моль, молекулярная формула C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>. Молекула состоит из тетрагидропуринового кольца, соединенного с двумя остатками гуанидина, играющими, как будет показано, решающую роль в токсическом действии (рис. 1.4).

**Механизм действия.** Токсичность сакситоксина существенно зависит от способа введения в организм. Так,  $DL_{50}$  при энтеральном введении мышам составляет 260; внутрибрюшинном – 9; внутривенном – до 3 мкг/кг.

Существует видовая чувствительность к сакситоксину: рыбы, моллюски и амфибии более устойчивы, чем теплокровные (например мыши). Фармакологическое действие сакситоксина связано с его нейротропной активностью. Один из наиболее грозных симптомов отравления токсином – паралич дыхательной мускулатуры, что и послужило основой для названия «паралитический яд моллюсков». Следует подчеркнуть, что блокирующее действие сакситоксина, очевидно, развивается не только на периферическом уровне. Эксперименты, проведенные на кошках и кроликах с различными способами введения сакситоксина (внутривенное и внутримозговое), показали, что он может проникать через гематоэнцефалический барьер и вызывать прямое угнетение дыхательного и сосудодвигательного центров.

Механизм действия сакситоксина был детально изучен с помощью электрофизиологических методов исследования. Эксперименты, проведенные на гигантских аксонах кальмара, показали, что он избирательно блокирует натриевые каналы электровозбудимых мембран. Примечательно, что токсин эффективен только при наружном применении, при перфузии изолированного аксона блокирования не наблюдается. Блокирующий эффект сакситоксина проявляется в низких концентрациях ( $K_d = 1.2 \times 10^{-9}$  моль/л). Гуанидиновая группировка, входящая в состав его молекулы, по своим молекулярным размерам соответствует диаметру гидратированного иона  $Na^+$ . На основании этих данных было выдвинуто предположение, что гуанидиновая группировка входит в натриевый канал и застревает в нем, удерживаясь остальной частью молекулы, размеры которой превышают диаметр канала (рис. 1.5). При изменении pH было установлено, что активной формой сакситоксина является катионная, однако при  $pH > 9$  он становится неэффективным. Возможно, что рецептор находится в селективном фильтре и содержит одну или две отрицательно заряженные группы ( $COO^-$ ), заряды которых изменяются при

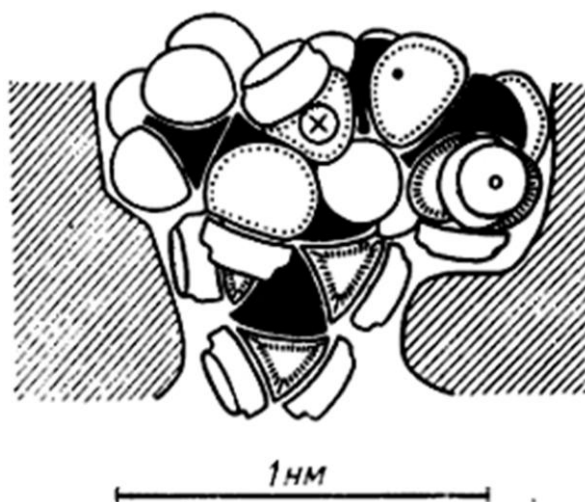


Рис. 1.5. Гипотетический механизм блокирования сакситоксином натриевого канала электровозбудимой мембраны (Hille, 1975)

разных рН. Именно с помощью сакситоксина и подобных ему токсинов (тетродотоксина, ТТХ) были оценены молекулярные размеры устья натриевого канала, которые составляют  $0.3 \times 0.5$  нм.

Высокая специфичность взаимодействия нейротоксинов с натриевыми каналами позволила успешно использовать их в качестве «инструмента» для количественной оценки плотности каналов в мембранах. Так, с помощью меченого  $^3\text{H}$ -сакситоксина было установлено, что в мембране блуждающего нерва кролика на  $1 \text{ мкм}^2$  «упаковано» 110 натриевых каналов, а в аксоне омара – около 90 каналов на  $1 \text{ мкм}^2$ . Нейротоксины также сыграли важную роль в исследовании структуры ионных каналов. Первым шагом в выявлении структуры  $\text{Na}^+$ -каналов было выделение канальных молекул с использованием нейротоксинов, специфически связывающихся с каналом. В результате были выделены три субъединицы, присутствующие в равных пропорциях в  $\text{Na}^+$ -канале: одна представляет собой большой гликопротеин с молекулярной массой 280 кДа ( $\alpha 1$ ) и два малых полипептида с молекулярными массами 36 ( $\beta 1$ ) и 33 кДа ( $\beta 2$ ). В дальнейшем с использованием методов молекулярной биологии и геной инженерии архитектура ионных каналов была изучена более подробно.

Все эти данные имеют существенное значение для нейрофизиологии, молекулярной биологии, медицины.

#### **1.4.2. Отравление амнестическим ядом моллюсков (amnesic shellfish poisoning, ASP)**

Отравление амнестическими токсинами моллюсков обычно связывают с эффектами домоевой кислоты. Первые наблюдения были сделаны в 1987 г. на о. Принца Эдуарда (Канада). В результате приема в пищу голубых мидий умерли 3 человека и зарегистрированы 105 острых отравлений. Симптомы отравления включают боль в животе, рвоту, потерю памяти и дезориентацию. В сентябре 1991 г. наблюдалась вспышка отравлений бакланов и пеликанов в заливе Монтерей (Калифорния), причиной являлись диатомовые водоросли. Последние послужили пищей анчоусам, которыми, в свою очередь, и питались рыбацкие птицы. Домоевая кислота – нейротоксин, вызывающий амнезию при отравлении моллюсками; также известна под названием «кислота зомби», аналог каиновой кислоты и пролина. Структурно является гетероциклической аминокислотой (рис. 1.6). В окружающей среде может достигать значительных концентраций при цветении воды в морях.

Домоевая кислота была впервые выделена из красной водоросли *Chondria armata*, которая по-японски называется «доумои» (англ. doumoi) или «ханаянаги». «Доумои» ранее использовалась как антигельминтное средство на юге Японии. Также домоевая кислота производится диатомовыми водорослями рода *Pseudo-nitzschia* и видом *Nitzschia navis-varingica* из рода *Nitzschia*. При выращивании в чистой культуре *Pseudo-nitzschia multiseries* практически полностью прекращают синтез домоевой кислоты; но при попадании в культуру бактерий синтез домоевой кислоты в клетках этой диатомовой водоросли обновляется, что может играть защитную роль. Учащение и расширения географии цветения воды в морях вдоль побережий с высокой плотностью населения делает отравление домоевой кислотой потенциально всё более опасным фактором экологического риска. В послед-

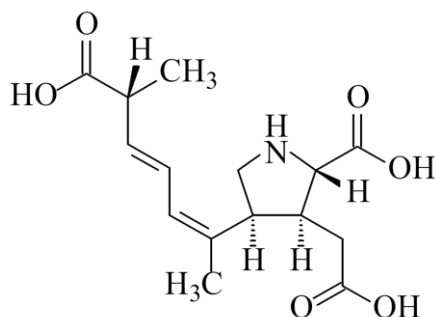


Рис. 1.6. Домоевая кислота (Marine biotoxins, 2004)

ние годы Центром изучения морских млекопитающих и другими научными учреждениями был выполнен значительный объём токсикологических исследований эффектов домоевой кислоты. Было изучено влияние продуцирования домоевой кислоты при цветении воды на частоту неврологических расстройств у морских млекопитающих Тихого океана. В природе домоевая кислота накапливается в тканях морских организмов, которые питаются фитопланктоном, таких как двустворчатые моллюски, анчоусы и сардины. У млекопитающих, включая человека, домоевая кислота вызывает потерю краткосрочной памяти, токсикологические повреждения головного мозга и, при сильном отравлении, может вызвать смерть. У морских млекопитающих типичными симптомами отравления являются судороги и тремор. При попадании в мозг домоевая кислота чаще всего поражает гиппокамп и миндалевидное тело.

На клеточном уровне она вызывает явление эксайтотоксичности<sup>27</sup>, благодаря гиперактивации (по разным данным) AMPA<sup>28</sup>-, NMDA<sup>29</sup>- и каинатных рецепторов.

Роль AMPA-рецепторов в формировании быстрого компонента долговременной потенциации заключается в следующем. Глутамат, высвобождающийся из пресинаптического нейрона, связывается с несколькими рецепторами, содержащими ионные каналы, в частности с рецепторами к AMPA и к NMDA. Связывание с лигандом вызывает открытие каналов AMPA-рецепторов, которые пропус-

<sup>27</sup> Эксайтотоксичность (от англ. to excite – возбуждать, активировать) – патологический процесс, ведущий к повреждению и гибели нервных клеток под воздействием нейромедиаторов, способных гиперактивировать NMDA- и AMPA-рецепторы. При этом излишнее поступление ионов кальция в клетку активирует ряд ферментов (фосфолипаз, эндонуклеаз, протеаз (кальпаинов)), разрушающих цитозольные структуры, и приводит к запуску апоптоза клетки. В качестве эксайтотоксинов могут выступать L-глутамат и глутаматомиметики ( $\alpha$ -аминометилизоксазолпропионат, виллардин, каинат, квисквалат, N-метил-D-аспартат (NMDA), AMPA, метилглутамат и ряд других веществ). Процесс может играть определённую роль в патогенезе рассеянного склероза, болезни Альцгеймера, амиотрофического латерального склероза, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, а также в развитии глаукомной оптиконеуропатии.

<sup>28</sup> AMPA (альфа-аминометилизоксазолпропионовая кислота) – аминокислота, высокоспецифичный агонист AMPA-рецептора, при связывании с которым воспроизводит эффекты глутамата.

<sup>29</sup> NMDA-рецептор (NMDAR; НМДА-рецептор) – ионотропный рецептор глутамата, селективно связывающий N-метил-D-аспартат (NMDA).

кают ионы натрия внутрь клетки, что приводит к деполяризации клеточной мембраны. С другой стороны, NMDA-рецепторы в начале процесса долговременной потенциации не открываются, потому что их ионный канал при нормальных значениях мембранного потенциала блокирован ионами магния. Но, благодаря поступлению ионов натрия через AMPA-рецепторы, мембранный потенциал снижается настолько, что этого достаточно для высвобождения магния из NMDA-рецепторов и открытия их ионных каналов. В отличие от AMPA-рецепторов, NMDA-рецепторы пропускают не только натрий, но и ионы кальция. Кальций, поступающий в клетки, опосредует эффекты AMPA-рецепторов: в частности, он приводит к фосфорилированию фермента кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CaMKII), который вызывает фосфорилирование субъединиц AMPA-рецептора и повышает проводимость ионных каналов. Повышение ионной проводимости каналов AMPA-рецепторов приводит к активному поступлению натрия в клетку; таким образом, осуществляется положительная обратная связь.

#### 1.4.3. Отравление нейротоксическим ядом моллюсков (neurotoxic shellfish poisoning, NSP)

**Бреветоксины** – мультикомпонентное семейство токсинов небелковой природы, продуцируемых динофлагеллатами *Ptychodiscus brevis* (с 2000 г. *Karenia brevis*). Существует более десятка различных бреветоксинов, в качестве примера приведены бреветоксины А и В (рис. 1.7):

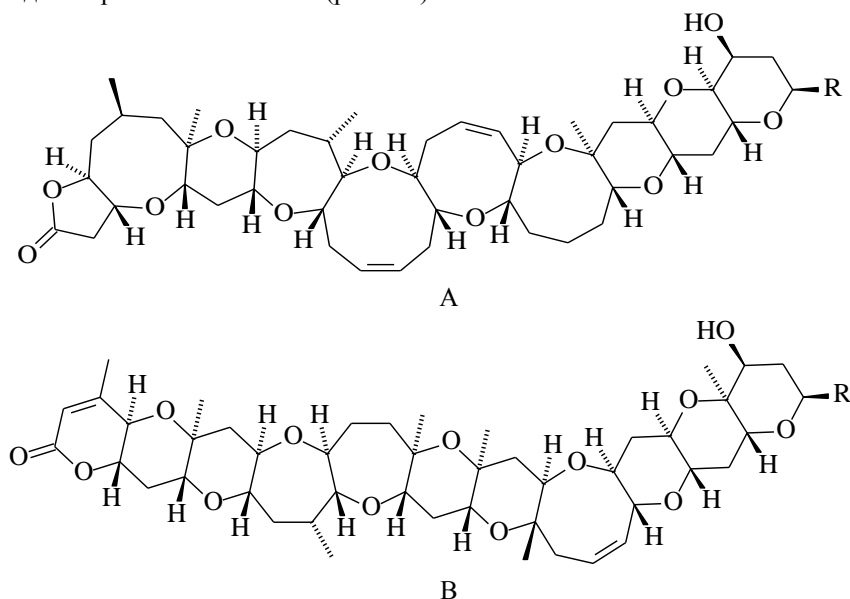


Рис. 1.7. Структура бреветоксинов А и В (Marine biotoxins, 2004)

Бреветоксины токсичны для рыб, морских млекопитающих, птиц и людей, но не для моллюсков. До 1993 г. отравления нейротоксическими токсинами моллюсков считались эндемичными для Мексиканского залива и восточного побережья Флориды, где «красные приливы» были зарегистрированы еще в 1844 г. Однако в 1993 г. около 180 человек отравились бреветоксинами в Новой Зеландии. Отмечено,



что вспышки «красных приливов» коррелируют с необычными климатическими явлениями, в частности с Эль-Ниньо.

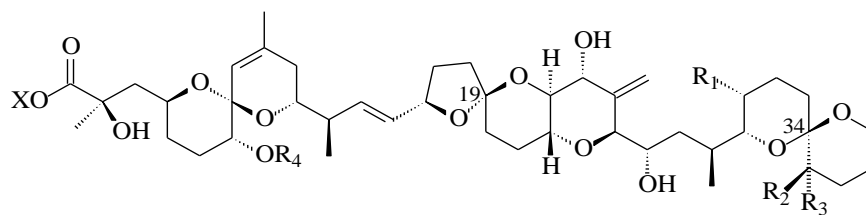
**Картина отравления.** Отравление бrevetоксинами людей при приёме в пищу моллюсков развивается в течение 30 мин – 3 часов, напоминает отравление типа сигуатеры, но с менее тяжелой симптоматикой. Основные симптомы: тошнота, рвота, диарея, озноб, потливость, изменение температуры, гипотония, аритмия, онемение, покалывание, парестезии губ, лица и конечностей, судороги, бронхоспазм (симптомы астмы), паралич, судороги и кома. Смертельные исходы не известны. Лечение – симптоматическое.

Экспериментальное отравление животных характеризуется быстрым снижением частоты дыхания, нарушением сердечной проводимости, снижением температуры тела. У мышей при пероральном введении наблюдается саливация, лакримация, мочеиспускание и дефекация. Аналоги бrevetоксина ВТХ-В2 и ВТХ-В4 вызывали паралич задних конечностей, одышку и смерть от остановки дыхания. Однако следует отметить, что бrevetоксины обладают сравнительно низкой острой токсичностью. При внутривенном введении мышам  $DL_{50}$  составила по разным данным от 2 до 90 мг/кг. Токсическое действие бrevetоксина обусловлено блокадой нервно-мышечной передачи. Бrevetоксин В был успешно синтезирован в лабораторных условиях в 1995 году. Для биотестирования бrevetоксина используют токсичность сырых экстрактов из моллюсков при внутрибрюшинном введении мышам. Результат выражают в «мышинных единицах» (м.е.), 1 м.е. равна количеству экстракта, способного убить 50% экспериментальных животных (мышей массой 20 г) в течение определенного времени. Бrevetоксины являются деполаризующими агентами, способствующими открытию натриевых каналов и увеличивающими вход ионов натрия внутрь клетки. Эффект бrevetоксина блокируется тетродотоксином. Полагают, что симптомы астмы, вызываемые аэрозолем бrevetоксина, также могут быть связаны с влиянием на натриевую проводимость. Показано, что экспериментальный бронхоспазм у овец блокируется атропином. С одной стороны, это указывает на холинергический механизм спазма трахеи, а с другой – на способность бrevetоксина усиливать высвобождение нейромедиаторов (в данном случае ацетилхолина) из нервных окончаний. Следует учитывать и возможность дегрануляции тучных клеток под действием бrevetоксина.

#### **1.4.4. Отравление диарейным ядом моллюсков (diarrhetic shellfish poisoning, DSP)**

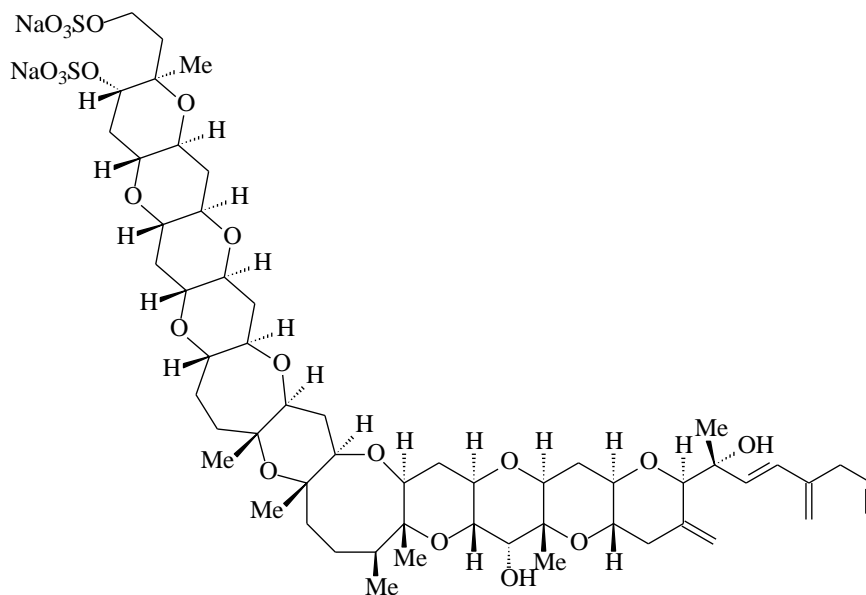
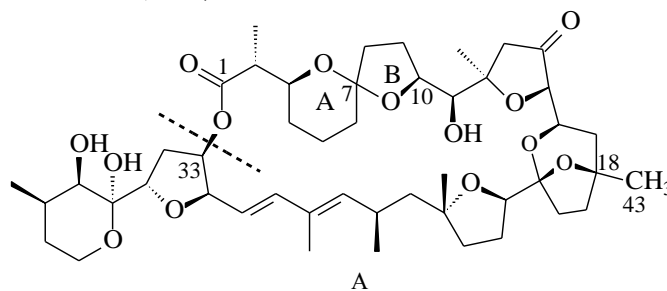
Отравление человека диарейными токсинами (DSP-токсинами) моллюсков вызвано употреблением в пищу загрязненных двусторчатых моллюсков, таких как мидии, гребешки, устрицы. Жирорастворимые DSP-токсины накапливаются в жировых тканях моллюсков. Первые симптомы отравления (диарея, тошнота, рвота, боли в животе) проявляются через 30 минут после попадания яда в организм и сохраняются до нескольких часов. Выздоровление наступает через три дня.

В зависимости от химической структуры DSP-токсины можно разделить на три группы. Первая группа (кислотные токсины) включает *окадаиковую кислоту* (ОК) и ее дериваты – *динофизистоксины* (рис. 1.8). Вторая группа представлена нейтральными токсинами – полиэфирными лактонами – группой *пектенотоксинов* (рис. 1.9А). Третья группа – сульфатные полиэфирны – группа *йссотоксинов* (рис. 1.9Б).



Название	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	C-19 <sup>+</sup>	C-34 <sup>+</sup>
Окадаиковая кислота (OK)	CH <sub>3</sub>	H	H	H	S	S
Динофизистоксин-1 (DTX1)	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	S	R
Динофизистоксин-2 (DTX2)	H	H	CH <sub>3</sub>	H	S	R

Рис. 1.8. Диарейные токсины – окадаиковая кислота и ее дериваты динофизистоксины (Marine biotoxins, 2004)



Б

Рис. 1.9. Диарейные токсины – окадаиковая кислота и ее дериваты динофизистоксины. А – пектенотоксин; Б – йессотоксин (Marine biotoxins, 2004)

DSP-токсины продуцируются динофлагеллатами родов *Dinophysis* и *Prorocentrum*, ареалы которых, в основном, приурочены к акваториям Японии и Европы. Однако сведения об отравлении DSP-токсинами поступают и из других регионов (Сингапура, Филиппин). Параметры токсикометрии DSP-токсинов приведены в табл. 1.4.

Таблица 1.4

**Острая токсичность (летальные дозы) DSP-токсинов при внутрибрюшинном введении мышам (Marine biotoxins, 2004)**

Токсин	Токсичность, мг/кг	Эффект
Окадаиковая кислота	200	Диарея
Динофизистоксин-1	160	Диарея
Пектенотоксин-1	250	Гепатотоксичность
Йессотоксин	100	Кардиотоксичность

Уже первые наблюдения показали, что ОК вызывает длительное сокращение гладких мышц артерий человека. Известно, что сокращение гладкой мускулатуры связано с фосфорилированием миозина. Уровень фосфорилирования миозина и сокращение гладких мышц поддерживаются за счет баланса активностей фосфорилирующих его киназ и дефосфорилирующей фосфатазы. Таким образом, было показано, что ОК является мощным ингибитором фосфатаз.

Предполагается, что причиной диареи в организме человека является гиперфосфорилирование белков, контролирующих секрецию натрия кишечных клеток или увеличение фосфорилирования клеточных структур, которые регулируют проницаемость мембран, что и приводит к пассивной потере жидкости. Заметим, что канцерогенные свойства окадаиковой кислоты связаны с ее способностью ингибировать фосфатазы PP1 и PP2A, фосфорилирующие такие важные сигнальные белки как Src, c-Jun, p56, NF-AT. Эти белки не активны в фосфорилированном состоянии, но активируются после дефосфорилирования.

#### **1.4.5. Отравление азаспирокикислотным ядом моллюсков (azaspiracid shellfish poisoning, AZP)**

В ноябре 1995 года по меньшей мере восемь человек в Нидерландах заболели после принятия в пищу мидий (*Mytilus edulis*), выращенных на ферме мидий и устриц в гавани Киллари<sup>30</sup> (Ирландия). Хотя симптомы (тошнота, рвота, тяжелая диарея и спазмы желудка) напоминали отравление диарейным ядом моллюсков (DSP), концентрации основных DSP-токсинов (окадаиковой кислоты и динофизистоксинов) были очень низкими. Кроме того, в этот период времени в пробах воды организмы-продуценты DSP-токсинов не были обнаружены. При биотестировании экстрактов мидий на мышах наблюдался медленно прогрессирующий паралич, что не характерно для симптомов DSP-отравлений. Токсин, вызывающий этот новый тип отравлений, вначале был назван киллари-токсин 3, или КТ3, а впоследствии было установлено, что это азаспировая кислота (рис. 1.10), и

<sup>30</sup> Тур начинается в небольшой гавани Киллари, где вас встретят на резиновой моторной лодке. Маршрут пролегает по живописным фьордам с остановкой на ферме мидий и устриц, на которой расскажут и покажут, как добываются эти деликатесные морепродукты.

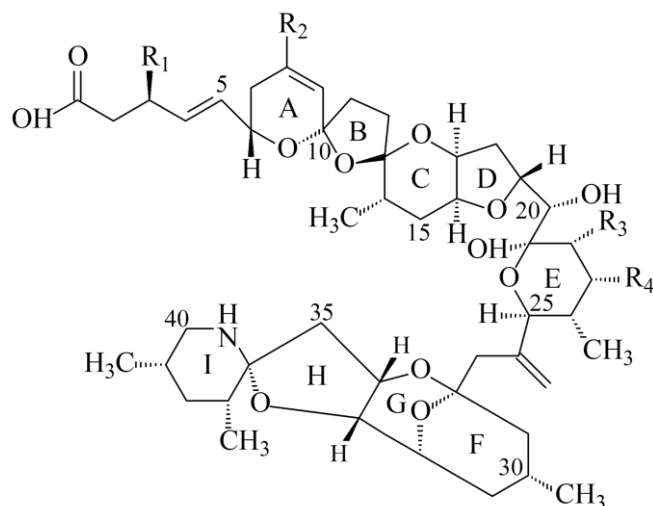


Рис. 1.10. Структура азаспировой кислоты (Marine biotoxins, 2004)

феномен получил название «отравление азаспирокислотным ядом моллюсков» (azaspiracid shellfish poisoning, AZP). Начиная с 1996 г. было зарегистрировано несколько случаев AZP в Ирландии, а также в других европейских странах. В качестве продуцентов AZP-токсинов рассматривают динофлагеллат *Protoceratium crassipes*, а также *Protoperidinium* spp.

Биопробы на мышах проводят при внутрибрюшинном введении. В отличие от отравления DSP-токсинами, AZP-токсины вызывают быстро развивающийся паралич. Самое короткое время наступления летального исхода было 35 мин, а самое продолжительное – 30 часов 46 мин. Обычно полиэфирные токсины локализуются в пищеварительных железах моллюсков, тогда как AZP-токсины распределяются по всем тканям. В Европе установлено, что максимальный уровень содержания AZP-токсинов в двустворчатых моллюсках, иглокожих, оболочниках, брюхоногих моллюсках не должен превышать 160 мкг/кг. Предпочтительным методом анализа является биотестирование на мышах или крысах. Химические и иммунохимические методы следует рассматривать как дополнительные к биотестированию.

\* \* \*

В настоящее время мировое сообщество активно обсуждает комплексные подходы к мониторингу пищевых морепродуктов, которые могут быть загрязнены токсинами динофлагеллат<sup>31</sup>. Однако высокая вариабельность как самих токсинов, так и их продуцентов объективно затрудняет решение этих проблем.

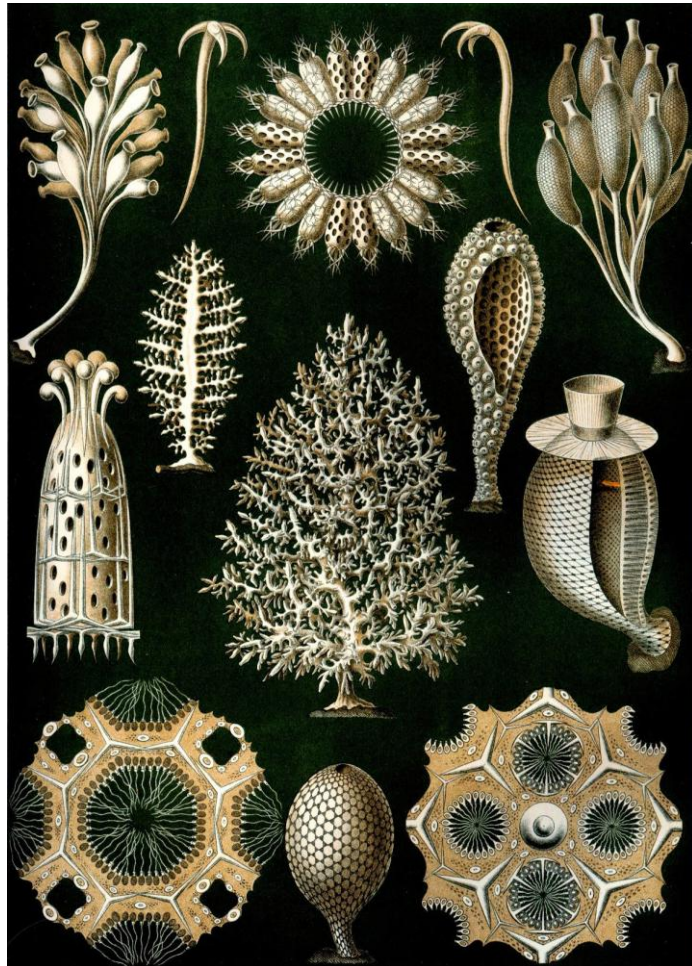
<sup>31</sup> В России функционирует Центр мониторинга морских биоинвазий и балластных вод при Институте биологии моря им. А.В. Жирмунского РАН (Владивосток), ведущий научные исследования и разрабатывающий практические мероприятия по защите вод дальневосточных морей от биоинвазий.

В качестве первоочередных мер специалисты указывают на необходимость:

- контроля за сбросами неочищенных сточных и балластных вод;
- мониторинга продуцентов токсинов в районах сбора и выращивания моллюсков и контроля биотоксинов в воде и морепродуктах;
- ДНК-анализа клонов микроводорослей;
- разработки технологий «безопасных марикультур»;
- ротации участков выращивания марикультур;
- применения поликультур;
- размещения плантаций в открытых водах (предотвращение заиления, благоприятствующего накоплению и сохранению спор токсичных водорослей в илистых грунтах).

## ГУБКИ (Porifera)

Губки – примитивизм, возведенный в совершенство.



Э. Геккель, 1904

## 2.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Губки (лат. Porifera, или Spongia) – тип водных (преимущественно морских) многоклеточных животных, своеобразие строения и развития которых долгое время не позволяло зоологам прийти к единому мнению о местоположении губок в системе животного мира. В современной фауне насчитывается около 8000 видов губок. Огромное их большинство относится к морским животным; некоторые живут в пресной воде. Подавляющее число видов – обитатели теплых морей, где они распространены, начиная от литорали и кончая огромными глубинами (до 6 тыс. м). Немало видов встречается в высоких широтах вплоть до Северного Ледовитого океана.

Губок характеризует модульное строение, зачастую сопряжённое с образованием колоний, а также отсутствие настоящих тканей и зародышевых листков. В отличие от настоящих многоклеточных животных (Eumetazoa), губки лишены мышечной, нервной и пищеварительной систем. Тело составлено покровным слоем клеток, подразделяющимся на пинакодерму и хоанодерму, и желеобразным мезохилом, пронизанным каналами водоносной системы и содержащим скелетные структуры и клеточные элементы. Скелет в разных группах губок представлен различными белковыми и минеральными (известковыми или кремнекислыми) структурами. Размножение осуществляется как половым, так бесполом путём. В результате полового размножения у большинства форм образуются плавающие ресничные личинки, которые в разных группах носят различные названия: паренхимула, амфибластула, целлобластула, трихимелла и другие. Большинство губок питается путём фильтрации воды через водоносную систему; немногие виды ведут хищный образ жизни, отлавливая некрупных животных. Ископаемые формы известны с докембрия. Губки являются единственным парафилетическим типом в подцарстве паразои (Parazoa)<sup>32</sup>, противопоставленном подцарству эуметазои (Eumetazoa), в которое входят все виды, обладающие настоящей многоклеточной структурой (тканями). Отличаются от своих одноклеточных предков макроскопической структурой и дифференцированным клеточным строением.

Внешний вид губок весьма разнообразен (рис. 2.1). Одиночные организмы имеют обычно цилиндрическую или бочковидную форму тела; колонии же (что характерно для большинства видов губок) могут быть самого различного строения – корковидные, шаровидные, цилиндрические, ветвящиеся или стельчатые.

В самом простом случае губка имеет бокаловидную форму и обладает гетерополярной осевой симметрией. К субстрату губка крепится подошвой; на верхнем полюсе расположено устье – оскулюм, через которое из тела губки выводится вода. У колониальных осевая симметрия нарушается и возникает множество оскулюмов. Стенки губки пронизаны многочисленными порами, ведущими в парагастральную полость. Тело состоит из двух слоёв клеток: наружного – дермального и внутреннего, выстилающего внутреннюю полость, – гастрального. Между ними формируется мезохил – бесструктурное вещество с отдельными разбросанными в нём клетками. Характерной чертой организации губок является система каналов, пронизывающих стенку тела и обеспечивающих обмен между внешней средой и парагастральной полостью.

---

<sup>32</sup> «Паразои» с греческого дословно переводится как «около животных».

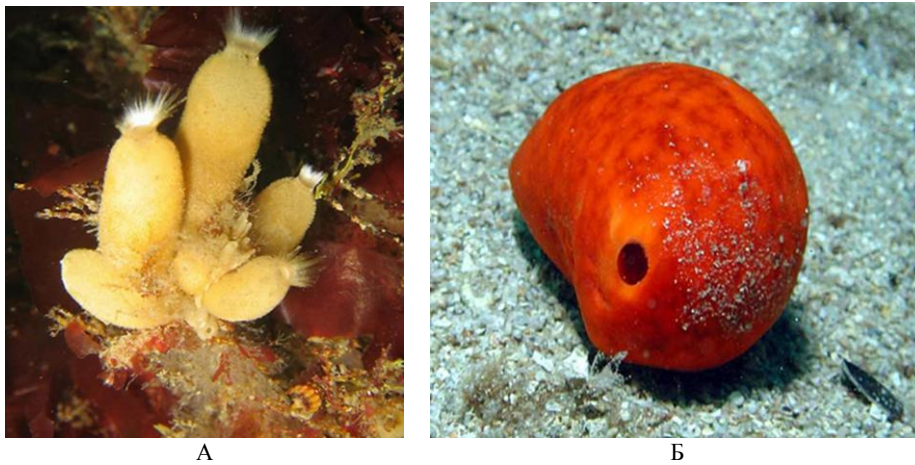


Рис. 2.1. Губки: А — *Sycon ciliatum*; Б — *Suberites domuncula* (Wikipedia Commons)

Губки – весьма активные биофильтраторы, некоторые из них способны пропускать через свое тело десятки и сотни литров воды в сутки, выбрасывая ее из своих устьев на расстояние в несколько десятков сантиметров. В среднем каждые 5 секунд губка прокачивает количество воды, равное объёму своего тела. Поскольку вода несжимаема, её объём на входе должен быть в каждый момент равен объёму на выходе. С наибольшей скоростью вода течёт в области оскулюма, а с наименьшей – через жгутиковые камеры, так как эти два участка водоносной системы губки имеют, соответственно, наименьшую и наибольшую общую площадь сечения. Многие губки при необходимости могут снижать общую скорость движения воды или полностью останавливать поток, чтобы избежать попадания ила внутрь организма. Это достигается за счёт регуляции диаметра оскулюма с помощью сократимых миоцитов, закрывания остий (иногда посредством трубковидных пороцитов) или же регуляции биения жгутиков хоаноцитов. Последнее характерно, например, для стеклянных губок, у которых нет ни миоцитов, ни пороцитов. Ток воды создаётся биением жгутиков хоаноцитов. Каждый жгутик совершает ундулирующие (волнообразные) движения в одной плоскости. Расположенные на нижнем участке жгутика в области воротничка лопасти из мастигонем, возможно, помогают «выкачивать» из него воду. По меньшей мере у одного вида (*Trochospongilla pennsylvanicus*) плоскость биения жгутика хоаноцитов каждые несколько секунд немного смещается, так что в конечном счёте она поворачивается на 360°. Волна проходит по жгутику от его основания к вершине, создавая ток воды в сторону отводящих каналов и оскулюма. У многих губок оскулюмы расположены на вершине специальных трубчатых выростов, сильно возвышающихся над основной массой тела, поверхность которого несёт остии. Скорость течения омывающей губку воды в зоне, где находятся оскулюмы, обычно выше, чем в придонном слое, у основания губки. Интенсивное движение воды над трубчатыми выростами создаёт область пониженного давления непосредственно в оскулюмах по сравнению с давлением в остиях. В результате возникает ток воды из области высокого давления в область низкого давления, то есть от остий к оскулюмам. Многие губки обитают в местах, где течение весьма значительно, поэтому дополнительно возникающий градиент давления в водоносной системе усиливает ток, создаваемый работой жгутиков. В свою очередь это позволяет губкам экономить энергию.



Очень часто продукты обмена губок препятствуют поселению других организмов на их поверхности или отпугивают хищников. Было показано, что 9 из 16 видов антарктических губок и 27 из 36 видов карибских губок токсичны для рыб. Это свойство губок играет определенную роль для их защиты от врагов, поскольку вместе с током воды выбрасываются продукты метаболизма, часто обладающие ядовитыми свойствами. Известно, что мелкие беспозвоночные, приближаясь к губкам, теряют подвижность и становятся их добычей. Ядовитые вещества, выделяемые губками, защищают их не только от инвазии микроорганизмами, но и отпугивают многих хищников. В коралловых рифах, где губки служат пищей для многих рыб, ядовитых видов гораздо больше, чем в высоких широтах, где рыбы реже используют губок для пищи. Например, на широте штата Вашингтон (США) – 38° с. ш., ядовитыми для коралловых рыб были 9% исследованных губок. Однако уже на 19° с. ш. (Мексика) число ядовитых видов губок возросло до 75%.

Далеко не всегда вредные для рыб токсины отпугивают и других животных, да и среди рыб встречаются специализированные «губкоядные» виды, например в семействах Pomacanthidae (рыбы-ангелы) и Monacanthidae (единороговые), а также мавританский идол (*Zanclus cornutus*). Морские черепахи, особенно бисса (*Eretmochelys*), охотно питаются губками; кремнезёмные спикулы губок могут составлять до 95% их фекалий. Представители одной из групп голожаберных моллюсков (*Doridacea*) демонстрируют узкую специализацию, питаясь лишь определёнными видами губок, почти как гусеницы ряда бабочек, которые тесно связаны с конкретными кормовыми растениями. Некоторые губки используют метаболиты в конкурентной борьбе с другими организмами за пространство. Например, карибская губка *Chondrilla nucula* выделяет вещества, которые убивают находящиеся поблизости кораллы, а губка после этого обрастает их прочные скелеты. Многие губки обладают сильным запахом, например «чесночная» губка *Lissodendoryx isodictyalis*. Встречаются среди губок и такие, прикосновение к которым вызывает сильное раздражение кожи (например карибская «огненная» губка *Tedania ignis*). Выделяемые губками биохимические соединения активно изучаются для определения их медицинского и промышленного значения.

Многие губки становятся убежищами для эндосимбионтов – более мелких организмов, которые живут в их водоносной системе как в многоквартирном доме и используют токи воды и защиту, предоставляемую хозяином. Так, острорылый краб (*Oregonia gracilis*) прикрепляет губок, водоросли и некоторых сидячих животных к своему панцирю, так что на нём образуется своего рода микросообщество. Разрастаясь на этом подвижном субстрате, организмы, формирующие сообщество, надёжно маскируют краба. Другие крабы (*Dromiidae*) отрезают и прикрепляют к себе на спину, как покрывку, верхнюю часть губки или используют для этой цели лишь её небольшой фрагмент, которым постепенно обрастает весь панцирь, обеспечивая крабу защиту.

## 2.2. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ЯДА ГУБОК

Биотестирование экстрактов морских беспозвоночных показывает, что экстракты губок намного опережают экстракты из других беспозвоночных как по числу активных образцов, так и по интенсивности разнообразных физиологических эффектов. Это подтверждает, что морские губки являются самым богатым

источником биоактивных метаболитов, при этом они составляют заметную часть бентосных сообществ тропических, умеренных и северных частей Мирового океана, выполняя важную роль в морских экосистемах.

Биологические вещества, выделенные из губок, можно разделить на токсины, цитостатики и антибиотики. Табл. 2.1 дает представление о распределении биологически активных веществ в некоторых губках, обитающих у побережья Ямайки.

Таблица 2.1

**Биологически активные вещества губок (Hashimoto, 1979)**

Виды	Антибиотики	Ихтиотоксины	Цитотоксины
<i>Haliclona erina</i>	+	+	+
<i>H. rubens</i>	+	+	+
<i>Verongia archeri</i>	+	–	–
<i>Hemecivon</i> sp.	–	+	+
<i>Fotrochota birotulata</i>	–	+	+
<i>Verongia</i> sp.	+	–	+

По своей химической природе физиологически активные вещества губок относятся к изопреноидам, из которых изучены свыше 50 фурановых, гидрохиноновых и изонитрильных сесквитерпеноидов. Среди них много соединений, обладающих противомикробной активностью. Антибиотическим действием характеризуется и большая группа гетероциклических соединений, выделенных из этих организмов. Кроме того, в губках обнаружены ароматические вещества, стерины, биогенные амины, белки, проявляющие биологическую активность.

### 2.2.1. Токсины

Первые систематические исследования токсичности губок (1906) были посвящены изучению действия спиртовых экстрактов, полученных из губки *Suberites domuncula*. Выделенный из экстракта токсин был назван *суберитином*. Внутривенное введение суберитина собакам и кроликам вызывало у них рвоту, расстройство желудочно-кишечного тракта, прострацию, нарушение координации движения и дыхания. Смертельная доза суберитина для собак составила 10 мг/кг. При вскрытии обнаруживались диффузные очаги геморрагии во внутренних органах. Однако суберитин не токсичен при введении через рот. Кроме того, нагревание до 80°C инактивирует его токсичность.

Во второй половине прошлого века исследователи вновь обратились к этому объекту. Из губок *S. domuncula* под давлением был получен сок, из которого после фракционного осаждения и гель-фильтрации на сефадексах был выделен белок с молекулярной массой ~ 28000 Да (тетрамер, мономер – 7 кДа), гомогенный по данным электрофореза, также получивший название суберитин. Модификация остатков цистеина и триптофана устраняла биологическую активность суберитина. Нейротоксическая активность суберитина зависит от остатков триптофана в его молекуле. Специфическая модификация триптофановых остатков с помощью фотоаффинной метки снижала его нейротоксичность до 13% от исходного значения. Изучение физиологической активности суберитина показало, что он обладает гемолитическим действием, вызывает паралич у крабов и способен гидролизовать АТФ.

Токсическими свойствами характеризуются и некоторые другие губки. Так, рыбы, моллюски или крабы, помещенные в ведро с водой, где находилась

губка *Tedania toxicalis*, погибали менее чем за 1 ч. Некоторых губок, например *T. ignis* и *Fibuliano litangere*, не рекомендуется брать в руки, так как они вызывают дерматиты. Следует также указать на сильный деполяризующий агент, выделенный из водного экстракта губки *H. rubens*. В концентрации 50 мкг/мл токсин вызывает деполяризацию концевой пластины нервно-мышечного синапса амфибий, которая не предотвращается d-тубокурарином, никотином, ацетилхолином, или тетродотоксином. По своему механизму деполяризующее действие токсина *Haliclona rubens* отличается от эффектов батрахотоксина, грайанотоксина, а также ацетилхолина или никотина.

### 2.2.2. Цитотоксины и цитостатики

Большой теоретический и практический интерес представляют антимикробные, цитотоксические и цитостатические вещества, выделенные из губок. Уже первые данные о противоопухолевом и цитостатическом действии биологически активных веществ губок стимулировали активный поиск новых соединений, чему в немалой степени способствовало изобретение акваланга.

Так, спиртовой экстракт из губки *S. inconstans* в концентрации 60 мкг/мл, добавленный к культуре клеток HeLa, полностью тормозил рост культуры с одновременным уменьшением содержания ДНК в клетках. Фазово-контрастная и электронная микроскопия показали, что цитотоксическое действие этого экстракта сопровождается фрагментацией цитоплазмы и кариоплазмы, разрывами клеточных и ядерных мембран. Еще более активный цитотоксический агент *дезацетилскаларадиял* (рис. 2.2) был выделен из губки *Cacospongia scalaris*:

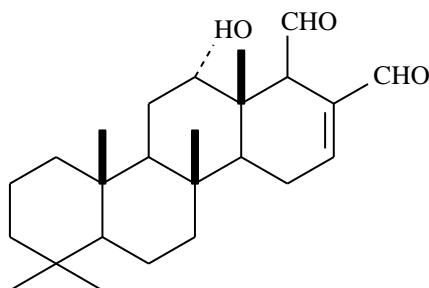


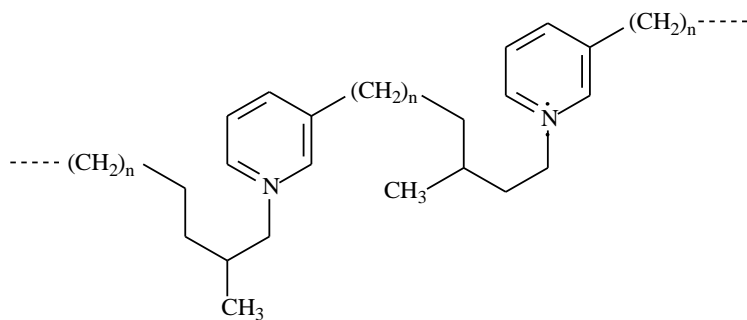
Рис. 2.2. Деацетилскаларадиял

Изучение активности на клетках линии L-1210 показало, что его ED<sub>50</sub> составляет всего 0.58 мкг/мл.

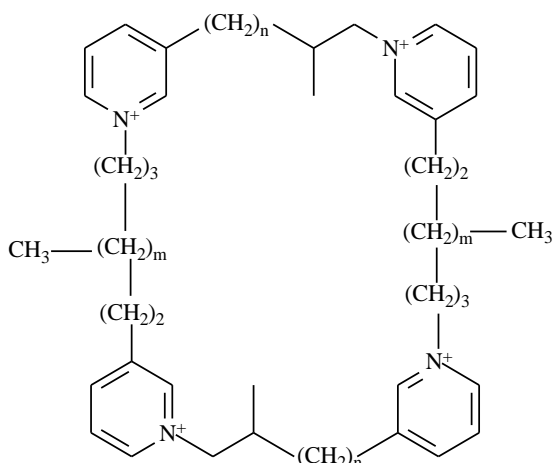
Гетероциклические соединения, продуцируемые некоторыми губками, представляют интерес как обладающие противоопухолевым действием. *Халитоксин* и *халитоксин R* (рис. 2.3), выделенные из губок *H. rubens* и *H. viridis*, тормозят рост экспериментальных опухолей у мышей и существенно продлевают их жизнь. Так, введением мышам с асцитной опухолью халитоксина в дозе 50 мкг/г привело к полному ингибированию роста опухоли у 30% животных.

В настоящее время из губок получен широкий спектр веществ, обладающих противоопухолевым действием. Из губки *Cryptothia crypta*, собранных у побережья Флориды, были получены нуклеозиды спонготимидин (1) и спонгоуридин

(2) (рис. 2.4), а затем и ряда других, содержащих арабинозные остатки вместо рибозных или дезоксирибозных, как в большинстве соединений этого класса.



А



Б

Рис. 2.3. Халитоксин (А) и халитоксин R (Б), выделенные, соответственно, из губок *H. rubens* и *H. viridis*

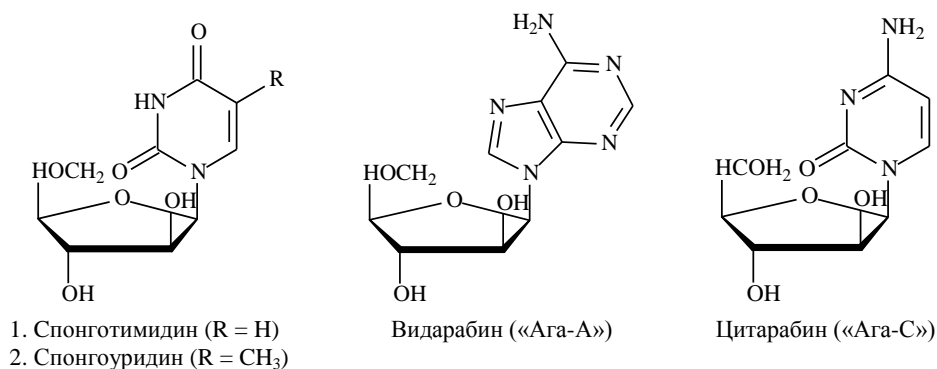


Рис. 2.4. Биологически активные вещества губок (Стоник, 2009)

Эти работы стимулировали появление в фармакологии концепции антиметаболитов. Антиметаболитами стали называть активные субстанции лекарств, имеющие не только значительное сходство с метаболитами человека, но и существенные структурные различия. Антиметаболиты включаются в биосинтез тех или иных биополимеров, чаще всего ДНК, и тормозят его, проявляя противоопухолевые и противовирусные свойства. На их основе были разработаны два арабинонуклеозидных медицинских препарата: «Видарабин» («Ага-А»), и «Цитарабин» («Ага-С») (рис. 2.4), которые на протяжении десятков лет применяются в клинической практике в качестве противоопухолевых и противовирусных лекарств.

Интерес представляет гемиастерлин (рис. 2.5) – трипептид, впервые выделенный из губки *Nemiastrella* в 1986 г. Его синтетический аналог НТИ-286 с фенильным заместителем вместо N-метилиндола оказался более активным и в наномолярных концентрациях ингибировал деление опухолевых клеток, связываясь с мономерными единицами тубулина и затрудняя его полимеризацию. В доклинических испытаниях он показал хорошую активность на опухолях, резистентных к «Паклитакселю» – одному из лучших применяемых сейчас противоопухолевых препаратов. Однако клинические испытания не подтвердили его активности на больных с терминальными стадиями рака. Недавно было показано противоопухолевое действие этого препарата в отношении гормонзависимых опухолей, что возродило интерес к дальнейшему клиническому изучению НТИ-286.

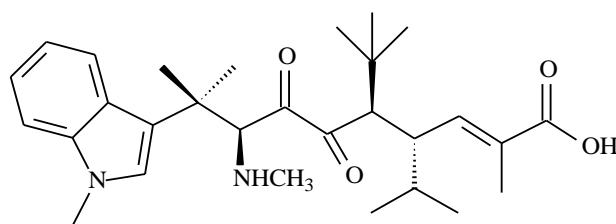


Рис. 2.5. Гемиастерлин (Стоник, 2009)

Тогда же в 1986 г. из губки *Haichondria okadai* выделили несколько минорных метаболитов, названных халихондринами. Эти соединения были мощными ингибиторами развития опухолевых клеток ( $IC_{50} = 10^{-9}$  М), связывались с тубулином по тому же сайту, что и применяемые в клинике винкапептиды, и были отобраны для дальнейшего изучения их противоопухолевых свойств. Однако их наработка в достаточных количествах для этих целей была чрезвычайно трудной. Из-за сложности структуры полный синтез халихондрина В, разработанный в 1992 году, был 90-стадийным и не решал эту задачу. Приблизительно в то же время новозеландскими учеными был найден новый источник халихондринов – глубоководная губка *Lissodendoryx*. Тонна этой губки была заготовлена тралением. Кроме того, на мелководье Новой Зеландии были созданы плантации *Lissodendoryx*, хотя содержание целевых веществ в культивируемой губке было намного меньшим, чем в дикорастущей. Эти усилия привели к получению 310 мг халихондрина В и началу в 2002 году его клинических испытаний. Затем японскими учеными в сотрудничестве с Eisai Company было обнаружено, что значительно более простое производное халихондрина – эрибулин мезилат (рис. 2.6) – обладает такой же биологической активностью. В настоящее время выполняется III фаза клинических исследований эрибулин мезилата как потенциального средства лечения рака молочной железы. Кроме того, проводятся его клинические испытания при лечении рака предстательной железы и саркомы.

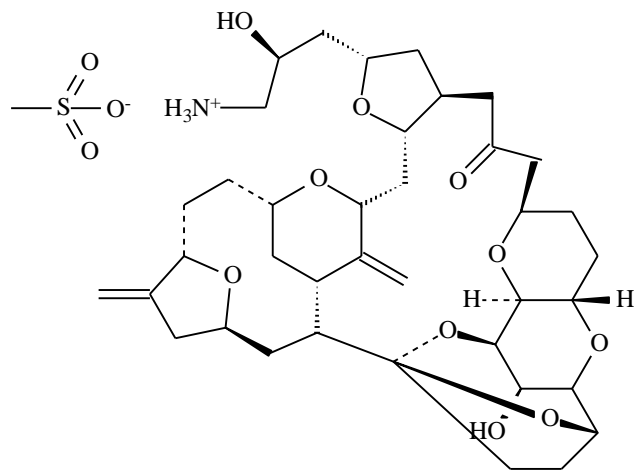


Рис. 2.6. Эрибулин мезилат (Стоник, 2009)

Несколько позже, в 1990 г. из редкой глубоководной губки *Discodermia disollata*, собранной у Багамских островов на глубине 300 м с помощью обитаемого подводного аппарата, был выделен дискодермолид. Природный дискодермолид останавливал развитие опухолевых клеток на стадиях G2/M клеточного цикла в концентрациях 3–80 нМ, тогда как его (-)-изомер действовал в 2–20 раз слабее. Препарат оказался намного более сильным ингибитором полимеризации тубулина, чем «Паклитаксель»; кроме того, их совместное действие было более сильным, чем действие каждого из этих агентов. После многократных улучшений различных вариантов многостадийных синтезов дискодермолида сотрудниками фармацевтической компании Novartis удалось, наконец, получить 20 г этого вещества и приступить в 2004–2005 гг. к завершению доклинических и началу клинических исследований. К настоящему времени эти испытания приостановлены из-за того, что хотя препарат оказался относительно малотоксичным для больных, однако все же был недостаточно эффективным. Тем не менее сохраняются перспективы его применения в комбинациях с другими противоопухолевыми лекарствами.

Несмотря на то, что были найдены соединений с высокими противоопухолевыми активностями, дальнейшая разработка противоопухолевых лекарств на основе морских природных соединений шла не так успешно, например спонгистатина (рис. 2.7) из морских тропических губок – самого активного из всех природных и синтетических соединений, обнаруженного за все время изучения противоопухолевых веществ в Национальном институте рака США.

Его присутствие в одной из губок сначала обнаружили по биологической активности соответствующих экстрактов, но само это соединение долго не могли выделить в количествах, необходимых для структурного изучения. Только после сбора и переработки 3 т губки удалось, наконец, получить 0.8 мг спонгистатина. Затем в качестве исходного материала использовали другую губку, собранную возле Мальдивских островов, и после переработки 400 кг получили еще 10 мг спонгистатина, завершили установление его строения и приступили к изучению

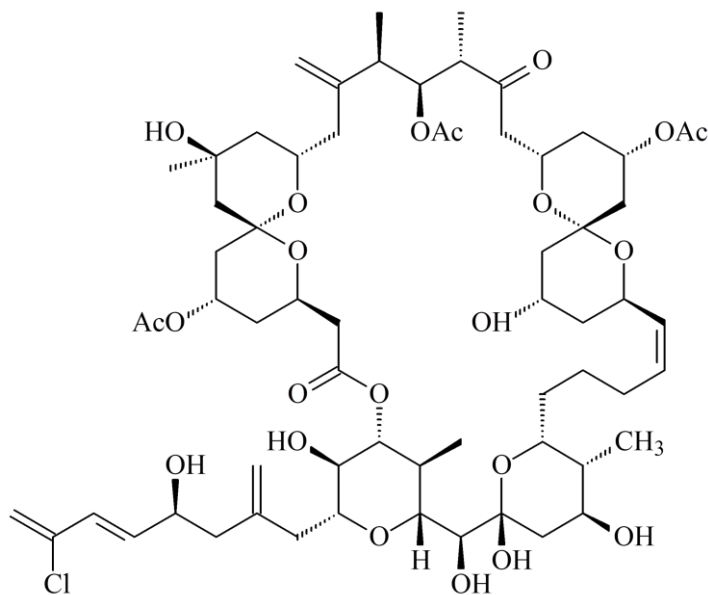


Рис. 2.7. Спонгистатин из тропических губок (Стоник, 2009)

особенностей физиологического действия этого макролида. Ингибирующая доза, вызывающая 50%-ную гибель опухолевых клеток ( $IC_{50}$ ), была равна  $10^{-10}$  М (в отношении клеток рака прямой кишки) и  $10^{-12}$  М (в отношении клеток рака молочной железы). В опытах на животных, имеющих смертельные злокачественные опухоли, при введении спонгистатина в дозе 25 мкг/кг наблюдали их 70% выживание.

В настоящее время внимание исследователей привлекают так называемые «двухголовые сфинголипиды» губок, представленные, в основном, различными гликозилированными и негликозилированными производными, а также гибридными соединениями, содержащими в качестве второй полярной «головы» производное изохинолина. Их объединяет общий «архитектурный» план построения молекул: две полярные головки с амино- и гидроксильными группами в каждой из них разделены 22–24 полиметиленовыми или полиеновыми мостиками. Аминогидроксисодержащие фрагменты данных соединений в большинстве своем напоминают полярные группы сфинголипидов, но в одном из них или даже в двух терминальная гидроксиметиленовая группа замещена на метильный остаток. Первым подобным гликозилированным соединением был *ризохалин*, выделенный из губки *Rhizochalina incrustata* (в настоящее время этот вид называют *Oceanapia incrustata*), обитающей у берегов о. Мадагаскар. В последующем были получены и другие гликозилированные двухголовые сфингомиелины, в том числе *ошенпайзид* из австралийской губки *Oceanapia phillipensis* и *каликсозид* из губки рода *Calyx* (семейство Oceanariidae), собранной у берегов Индонезии. Из известковой морской губки *Leucetta microraphis* были выделены первые негликозилированные природные соединения, родственные по структуре ризохалину – *леуцетамолы* А и В, проявляющие антимикробную активность (рис. 2.8).

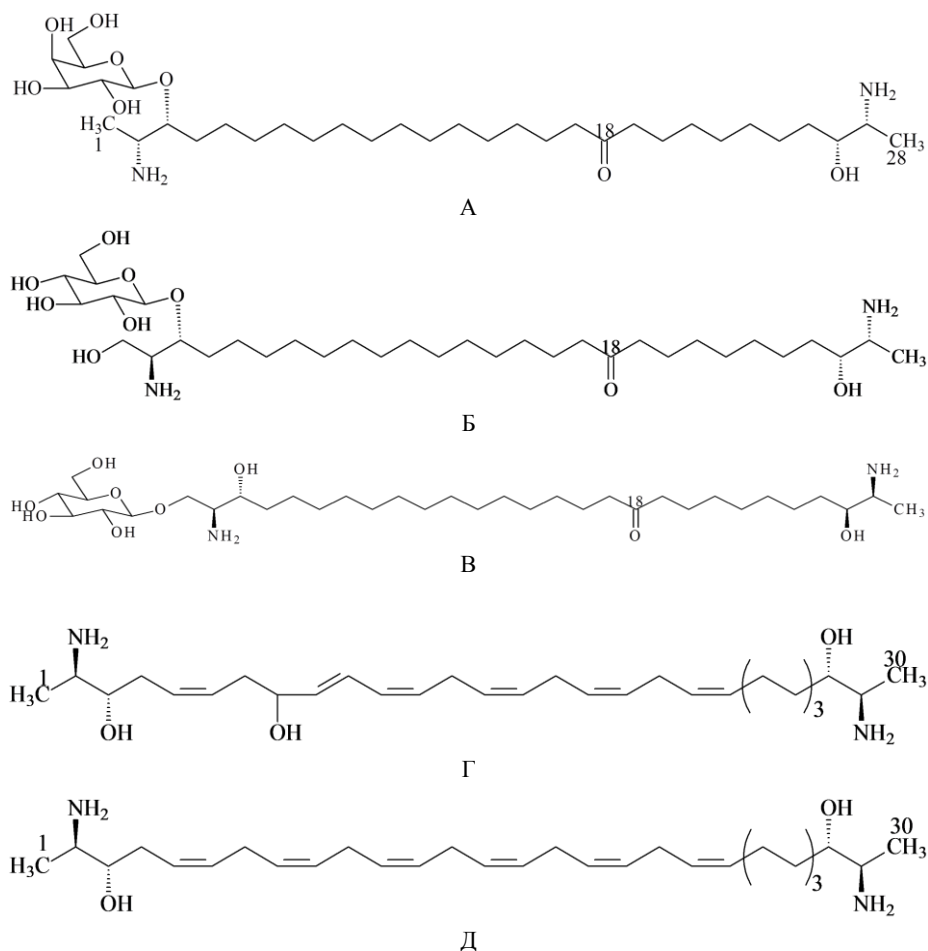


Рис. 2.8. Двухголовые сфингомиелины губок: А – ризохалин (*Rhizochalina incrustata*), Б – ошенпайзид (*Oceanapia incrustata*), В – каликсозид (*Calyx*), Г – леуцетамол, Д – леуцетамол А (Макарьева, 2013)

В результате изучения биологической активности двухголовых сфинголипидов было найдено, что они способны подавлять рост бактерий и микроскопических грибов, в том числе флуконазол-устойчивых грибов *Candida glabrata*, вызывающих микозы, которым обычно подвержены ВИЧ-инфицированные пациенты. Особо высокую активность в отношении этих грибов имеют агликаны ризохалина и ошенпайзида. Было показано, что каликсозид способен селективно разрушать ДНК. У ризохалина, его агликана и некоторых аналогов обнаружены антиканцерогенные, а также проапоптотические свойства. Ризохалин, ризохалин С и агликаны ризохалина, ризохалина А, ризохалина С в низких концентрациях модулируют сфинголипидный метаболизм в эндотелиальных клетках микрососудов сердца человека. Леуцетамол А является первым ингибитором гетеродимеризации убиквитин-конъюгирующих ферментов – важного этапа протеасомной деградации белков. Такие ингибиторы перспективны как противоопухолевые вещества, повышающие экспрессию и активность опухолевого супрессора – белка р53.



Было найдено, что леуцетамолы А и В являются первыми природными модуляторами морского происхождения в отношении TRPA1<sup>33</sup>-канала и первыми природными активаторами TRPM8<sup>34</sup>-канала.

В то же время создание на основе морских природных соединений медицинских препаратов нового поколения тормозится рядом осложняющих моментов. Во-первых, такие вещества часто труднодоступны. Достаточные для широкого использования количества невозможно получить из самих морских организмов, так как их продуценты, как правило, являются редкими и рассеянными видами, а способы марикультивирования таких биологических объектов в большинстве случаев не разработаны. Экономически приемлемые методы синтезов большинства этих веществ также до сих пор не созданы из-за сложности их структур и обилия в них асимметрических центров. Во-вторых, не всегда эти высокотоксичные для опухолевых клеток соединения показывают хорошую противоопухолевую активность на животных и людях. Наконец, в-третьих, некоторые из них обладают побочными эффектами, в том числе вызывают поражения почек или других органов и систем, что исключает их клиническое применение.

\*\*\*

Губки – это типичные пассивно-ядовитые животные, использующие для защиты от врагов свои токсические метаболиты. Ядовитость губок наряду с обладанием жестким скелетом, делающим их малосъедобными, обеспечило сохранение до наших дней этой наиболее примитивной группы многоклеточных животных. Губки могут служить удобной моделью для изучения эволюционных механизмов биогенеза физиологически активных соединений с селективными свойствами (антибиотиков, цитостатиков). Для человека губки не представляют существенного эпидемиологического значения, за исключением, может быть, тех видов, которые вызывают дерматиты при непосредственном контакте. Во всяком случае, это обстоятельство должны учитывать рыбаки, пловцы, аквалангисты. В то же время губки являются источником самых разнообразных и невероятных по структуре веществ. Возможно, нахождение необычных по биогенезу соединений более всего связано с тем, что губки являются самыми древними многоклеточными организмами нашей планеты, они были продуктом эволюционного прорыва от одноклеточных к многоклеточным организмам. Губки, вероятно, появились на нашей планете более 600 миллионов лет назад и, таким образом, они в 3000 раз старше вида *Homo sapiens*. Возможно, именно на них в процессе эволюции природа «отрабатывала» варианты биосинтеза тех или иных структурных групп биологически активных вторичных метаболитов. Поэтому выделение уникальных метаболитов губок напоминает обнаружение ископаемых форм вымерших организмов, по которым восстанавливают пути их биологической эволюции.

---

<sup>33</sup> TRPA1 – ионный канал, находящийся в мембранах болевых рецепторов, и играющий важную роль в возникновении нейропатической и воспалительной болей.

<sup>34</sup> TRPM8 – холодо- и ментолочувствительный ионный канал.

## СТРЕКАЮЩИЕ (Cnidaria)

*(И повествует Персей, как) скалы,  
Скрытые, смело пройдя с их страшным лесом трескучим,  
К дому Горгон подступил; как видел везде на равнине  
И на дорогах – людей и животных подобья, тех самых,  
Что обратились в камень, едва увидали Медузу;  
Как он, однако, в щите, что на левой руке, отраженным  
Медью впервые узрел ужасающий образ Медузы...*

*Овидий*



Э. Геккель, 1904

### 3.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Стрекающие, или книдарии (Cnidaria) – тип настоящих многоклеточных животных (Eumetazoa), которых вместе с гребневиками (Stenophora) объединяют в группу Кишечнополостные, или радиальные животные (Coelenterata, Radiata). Кишечнополостных традиционно противопоставляют таксону Bilateria<sup>35</sup>. Некоторые исследователи не рассматривают гребневиков в составе кишечнополостных и применяют последнее название в более узком смысле – в качестве синонима для типа Стрекающие. Кишечнополостные, или *sensu stricto* Книдарии исключительно водные обитатели, хотя многие виды могут находиться на суше во время отлива, на это время вытягивая щупальца и сжимаясь, тем самым сокращая площадь поверхности и снижая потери воды испарением. Уникальная черта этого типа животных – наличие стрекательных клеток (книдобластов, или нематоцитов), вырабатывающих ядовитый секрет, которые они используют для охоты и защиты от хищников (их нет только у двух видов из озера Медуз<sup>36</sup>). Этими клетками обладают оба поколения в цикле развития кишечнополостных – полип и медуза. Если полипы в подавляющем большинстве – сидячие формы, обитающие чаще всего на сравнительно небольших глубинах и предпочитающие скальные грунты (в частности актинии, madreporовые кораллы), то медузы – это свободно плавающие организмы. Наличие у кишечнополостных двух форм, двух состояний – полипоидного и медузоидного, способность этих животных образовывать колонии разнообразной формы, а также присущая им яркая окраска делают кишечнополостных очень многообразной по формам группой животных, несмотря на то, что их внутреннее строение имеет единый, общий план, и устроены они довольно просто.

Самые маленькие из них (например полипы на колониях гидроидов) едва достигают 1 мм, наиболее крупные, такие как медуза цианея (*Cyanea arctica*), имеют зонтик до 2 м в диаметре, а щупальца этой медузы растягиваются на 30 м.

Кишечнополостные – самые древние из настоящих многоклеточных животных. За время длительной истории развития этого типа его представители сумели очень хорошо приспособиться к самым разнообразным условиям обитания. Они заселили буквально весь океан от его поверхности до предельных глубин, их можно обнаружить и в полярных областях, и в тропиках. Поселяются кишечнополостные на самых разнообразных грунтах, некоторые из них способны выносить значительное изменение солёности морской воды, а отдельные виды проникли даже в пресные воды. Почти повсеместно они играют очень важную роль в образовании сообществ морских животных и растений – биоценозов моря.

---

<sup>35</sup> Двусторонне-симметричные, или билатеральные (Bilateria) – таксон, включающий всех настоящих многоклеточных животных за исключением кишечнополостных (Coelenterata).

<sup>36</sup> Озеро Медуз (*Jellyfish Lake*) – озеро на архипелаге Скалистые острова (Палау). Озеро Медуз расположено на востоке острова Эйл-Малк, в более чем 20 км к юго-востоку от Корора. Его размеры – всего 460 м на 160 м, площадь зеркала – 0.057 км<sup>2</sup>. Озеро представляет собой меромиктический слабосоленый водоём, отделённый от океана полосой земли около 200 м. Глубина – до 50 м. Образовалось озеро Медуз около 12 тыс. лет назад в результате движения земной коры. Озеро известно обособленной популяцией двух видов сцифоидных медуз – золотой (*Mastigias papua*) и лунной (*Aurelia aurita*). За время существования озера в отсутствие многих естественных врагов медузы размножились до примерно 2 млн особей. Кроме того, щупальца медуз утратили стрекательные клетки, что привлекает множество туристов – любителей дайвинга.

Все кишечнополостные – хищники. Пищей им служат самые разнообразные животные, начиная от мелких планктонных рачков (мадрепоровые кораллы, гидроидные медузы) и кончая рыбами (актинии, сцифоидные медузы).

### 3.1.1. Ядовитый аппарат стрекających

Ядовитый аппарат представлен у кишечнополостных особыми стрекательными клеткам, которые развиваются из недифференцированных промежуточных клеток эктодермы. Стрекательные клетки располагаются по всей поверхности тела кишечнополостных, но их наибольшие скопления наблюдаются на щупальцах и вокруг ротового отверстия, то есть в местах, где они нужнее всего. После «выстрела» стрекательная клетка погибает, и на ее месте или поблизости от него развивается новая стрекательная клетка. Известно, что стрекательные капсулы могут действовать и после гибели животного, поэтому прикосновение к мертвым, выброшенным на берег медузам может вызвать довольно сильные покраснения кожи, сопровождающиеся ощущением жжения. При поедании кишечнополостных животных некоторыми турбелляриями и заднежаберными моллюсками часть стрекательных клеток переходит в тело хищника. Здесь стрекательные клетки располагаются также в наружных покровах и могут нормально функционировать.

Стрекательные клетки, особенно содержащие ядовитую жидкость в капсулах, являются грозным оружием, которое используется кишечнополостными и для защиты, и для нападения. Несомненно, что процветание этих низкоорганизованных животных в значительной мере объясняется наличием у них стрекательных клеток. Мелкие животные, соприкасаясь с кишечнополостными, приклеиваются, опутываются и пронзаются стрекательными нитями, а в их тело попадает яд, вызывающий паралич и смерть. После этого жертва переносится щупальцами к ротовому отверстию и проглатывается. Даже довольно крупные животные часто оказываются пораженными ядом стрекательных капсул, вызывающим к тому же жгучую боль. Сила воздействия яда разных видов кишечнополостных на человека неодинакова: некоторые из них совершенно безвредны, другие представляют собой серьезную опасность.

Общая схема строения стрекательной клетки может быть представлена следующим образом.

Каждая стрекательная клетка содержит хитиноидную капсулу овальной или продолговатой формы. Стенка наружного конца капсулы впячивается внутрь ее и имеет вид тонкой спирально закрученной трубочки, называемой стрекательной нитью. Полость капсулы заполнена ядовитой жидкостью. На внешней поверхности стрекательной клетки имеется чувствительный волосок – книдоциль. Прикосновение к волоску вызывает моментальное раздражение клетки, проявляющееся в стремительном, подобном выстрелу выворачивании стрекательной нити. В зависимости от деталей строения и способа воздействия на врага или жертву различают несколько типов стрекательных капсул. Часть стрекательных капсул имеет длинную, снабженную шипами нить. При «выстреле» такой капсулы нить вонзается в тело жертвы, а через ее полость изливается содержимое капсулы, вызывающее общее или местное отравление. У других капсул нить короткая, лишенная шипов. Такие нити только опутывают жертву. Наконец, имеются липкие нити, которые удерживают добычу

приклеиванием. Они же могут служить и для временного прикрепления самих носителей стрекательных клеток при передвижении.

Рассмотрим подробнее строение стрекательных клеток (книдобластов, книдоцитов, или нематоцитов). Итак, книдобласты содержат очень мелкие внутриклеточные структуры сферической, овальной или веретенообразной формы – нематоцисты. Нематоциста состоит из капсулы и заключенной в ней полый нити, замкнутой на одной стороне, как бы вывернутой наизнанку и закрученной в спираль (рис. 3.1). Выстреливание нематоцисты заключается в быстром выбрасывании нитевидного отростка. У покоящейся нематоцисты та ее часть, через которую выбрасывается нить, обычно покрыта крышечкой. На наружном конце книдобласта образуется щетинковидный отросток – книдоциль. Нематоцисты кишечнополостных делятся на две большие группы: спироцисты *Zoantharia*, представляющие собой окрашивающиеся кислыми красителями тельца, снабженные особыми адгезивными нитями, и окрашивающиеся основными красителями собственно нематоцисты. Последние широко распространены у самых разных групп кишечнополостных. Собственно нематоцисты бывают различных типов, отличающихся строением их выстреливающих нитей. У нематоцист некоторых видов, например вольвент, замкнутая на верхнем конце нить свернута в плотную спираль и при выстреливании обвивается вокруг щетинок или фибрилл жертвы. Другие виды имеют нематоцисты с острыми наконечниками, с помощью которых они вонзаются в добычу, инъецируя в нее токсическое вещество. Нити этих нематоцист обычно покрыты шипами, расположенными в три спиральных ряда. При помощи этих шипов они прочно закрепляются в тканях, в которые проникли. Способность нитей, по крайней мере некоторых типов, прободать ткани настолько велика, что они могут проникать даже в хитинизированную кутикулу беспозвоночных.

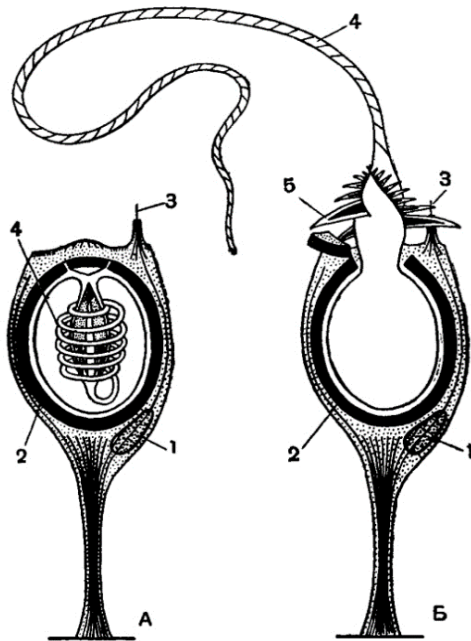


Рис. 3.1. Стрекательные клетки:  
 А – в покоящемся состоянии;  
 Б – с выброшенной стрекательной нитью; 1 – ядро, 2 – ядовитая капсула, 3 – чувствительный волосок (книдоциль), 4 – стрекательная нить, 5 – шипы (Wikipedia Commons)

Нематоциты могут выстреливать при изменении химизма окружающей среды. Реакция выстреливания носит контактно-химический характер, причем повышение чувствительности к механическому раздражению под действием химического вещества происходит почти мгновенно. Интенсивное механическое раздражение нематоцит индифферентными объектами вызывает лишь слабый ответ (примером могут служить случаи симбиоза крупных актиний с рыбами, свободно передвигающимися среди щупалец актиний и находящими здесь защиту от врагов), тогда как слабого механического раздражения естественной пищей оказывается достаточно, чтобы вызвать ее выстреливание.

Что касается механизма выстреливания нематоцит, то он еще до конца не выяснен. Предполагается, что выброс нити вызывается повышением давления внутри капсулы в результате поступления туда воды при раздражении или сокращении связанной с ней фибриллярной сети. Нематоциты *Metridium* sp., по-видимому, выстреливают вследствие поступления воды, выстреливание нематоцит *Physalia physalis* связано, очевидно, с сокращением фибрилл нематоцита. Считается, что жгутик книдоциля играет роль механорецептора, возбуждающего стрекательную клетку. Однако у многих Anthozoa книдоцили отсутствуют. Видимо рецепторной областью служит вся поверхность книдобласта.

Для выделения невыстреливающих нематоцит применяют несколько методов. Один из них заключается в аутолизисе щупалец при 4°C в течение 24–48 ч. Образовавшийся гомогенат затем профильтровывают. Таким способом из 3.8 л гомогената аутолизированных щупалец физалии можно получить ~ 1 кг конечного продукта, содержащего 55000000 заряженных нематоцит. Другой метод заключается в замораживании щупалец жидким азотом с последующим оттаиванием и экстрагированием нематоцит 7%-ной сахарозой или фосфатным буфером при pH 6.3 на холоду. Существуют и другие способы их выделения, однако нужно иметь в виду, что качественный состав яда изолированных нематоцит и щупалец различается, чем, видимо, и объясняются некоторые отличия в химическом составе яда, полученного разными исследователями.

Систематика кишечнополостных продолжает совершенствоваться, и современные зоологи не пришли еще к единому мнению о системе и номенклатуре ряда таксонов Coelenterata. Поэтому рассмотрим наиболее изученных ядовитых представителей кишечнополостных, не вдаваясь в подробности классификации.

## **3.2. ЯД МЕДУЗ И ПОЛИПОВ (Hydrozoa, Cubozoa, Scyphozoa)**

### **3.2.1. Медуза *Gonionemus vertens***

В качестве примера рассмотрим гидромедузу *Gonionemus vertens* (Hydrozoa, Limnomedusae), токсическое действие которой подробно описано в литературе. Это небольшая медуза, колокол взрослых особей достигает 25 мм в диаметре, по краю колокола расположено около 80 щупалец. Ее купол похож на колокольчик с четырьмя красно-коричневыми складками в виде креста на вогнутой стороне. За это *Gonionemus vertens* называют крестовичком (рис. 3.2). Медузы придерживаются небольших глубин и в период полового размножения близко подходят к берегу. Водятся они в водах Тихого океана: в



Рис. 3.2. Медуза *Gonionemus vertens* (Wikipedia Commons)

Японском море – у Владивостока, в заливе Ольги, в Татарском проливе, около южной оконечности Сахалина, у берегов Японии и Южных Курильских островов. Большие скопления *Gonionemus vertens* порой наблюдают в заливе Петра Великого. Они обычно держатся на мелководье. Во время дождей, когда морская вода у берегов значительно опресняется, медузы погибают. В дождливые годы их почти нет, зато к концу засушливого лета крестовички появляются массами. Их излюбленные места – заросли морской травы зостеры. Здесь они плавают и повисают на травинках, прикрепившись своими присосками. Иногда они попадаются и в чистой воде, но обычно невдалеке от зарослей зостеры.

В местах, где обычно купается много людей, для борьбы с крестовичком выкашивают зостеру, огораживают купальни мелкоячеистой сеткой, вылавливают крестовичков специальными сетями.

Иногда нашествия крестовичков принимают размеры стихийного бедствия. Несколько раз они появлялись в разгар плавательного сезона на акватории Приморья. Местные жители и отдыхающие на берегу Амурского залива хорошо помнят 17 июля 1966 года, когда к пляжам подошла несметная стая крестовичков. От них тогда пострадали более тысячи человек. Летом 1970 года только за один день там же получили ожоги от прикосновения крестовичков 1360 человек, из них 116 пришлось госпитализировать.

**Клиника отравления.** Уберечься от крестовичка довольно трудно. Ожог крестовичка по ощущениям сходен с ожогом крапивой, но в отличие от него влечет за собой тяжелую болезнь с резкими болями в пояснице и суставах, стесненным дыханием, сухим неукротимым кашлем, тошнотой, сильной жаждой, онемением рук и ног. Яд крестовичка нередко действует даже на психику, тогда больной впадает то в состояние крайнего нервного возбуждения, то в депрессию. Обычно плохое самочувствие длится 4–6 дней, но еще около месяца могут возобновляться боли и неприятные ощущения. Клиническая картина поражения крестовичком характеризуется резкой болью, гиперемией в местах «ожога», на которых через 10–15 мин появляется сыпь (рис. 3.3).

Характерный симптом – выраженное падение тонуса мышц конечностей, постепенно атония распространяется и на дыхательную мускулатуру. Больные часто жалуются на мучительные боли в конечностях, пояснице. По мере развития отравления у некоторых больных развиваются кратковременная слепота, глухота, помрачение сознания, психомоторное возбуждение, бред и галлюцинации. Поражение ЦНС весьма характерно при отравлении ядом крестовичка.



Рис. 3.3. «Ожог» стрекательными клетками *Gonionemus vertens* (Wikipedia Commons)

Пострадавших беспокоят кошмарные сновидения, они часто отказываются от пищи, плаксивы, раздражительны, и в то же время характерно полное безразличие, автоматическая подчиняемость, замкнутость. В тяжелых случаях возникают делириозные расстройства, продолжающиеся в течение нескольких суток. Со стороны сердечно-сосудистой системы отмечаются тахикардия и незначительное повышение АД в начале заболевания. Лечение носит симптоматический характер. Хотя крестовички могут свободно плавать, обычно они предпочитают подстергать добычу, прикрепившись к какому-либо предмету. Поэтому, когда одно из щупалец крестовичка случайно коснется тела купающегося человека, медуза устремляется в этом направлении и пытается прикрепиться при помощи присосок и стрекательных капсул. В этот момент купальщик ощущает сильный «ожог», через несколько минут кожа на месте прикосновения щупальца краснеет, покрывается волдырями. Почувствовав «ожог», нужно немедленно выходить из воды. Уже через 10–30 минут наступает общая слабость, появляются боли в пояснице, затрудняется дыхание, немеют руки и ноги. Пораженного нужно удобно положить и немедленно вызвать врача. Для лечения применяют подкожные инъекции адреналина и эфедрина; в наиболее тяжелых случаях применяется искусственное дыхание.

Особенно опасны повторные ожоги. Установлено, что яд крестовичка не только не вырабатывает иммунитета, а, напротив, делает организм повышенно чувствительным даже к небольшим дозам того же яда и может вызвать анафилактический шок.

Интересно отметить, что такими ядовитыми свойствами обладают крестовички, обитающие только в бассейне Тихого океана. Очень близкая форма, относящаяся к тому же виду, но к другому подвиду, живущая на американском и европейском побережьях Атлантического океана, совершенно безвредна.

**Химический состав и механизм действия.** Экспериментальное изучение яда *G. vertens* показало, что он избирательно блокирует Н-холинореактивные системы нейромышечных синапсов и парасимпатических ганглиев, симпатические ганглии оказались менее чувствительны к действию яда. Холиномиметическое действие яда может усиливаться и за счет его антихолинэстеразного действия. Яд обладает гистаминлибераторным действием, а также повышает содержание серотонина в



мозге мышей. Серотонин-потенцирующее действие яда «крестовичка» во многом может объяснить психотические симптомы в клинической картине отравления.

### 3.2.2. Огненные, или жгучие кораллы (Milleporidae)

Огненные (жгучие) кораллы – Milleporidae (Hydrozoa, Anthoathecata) – очень опасны для человека. Каждый год в тропических и субтропических широтах по всему миру от ожогов огненными кораллами страдает более 1500 человек. Основу коралла составляют полипы – морские беспозвоночные животные размером 1–1.5 миллиметра или чуть больше (в зависимости от вида). Едва появившись на свет, полип начинает строить домик-ячейку, в котором и проводит весь свой век. Микродомики полипов группируются в колонии, формирующие «огромные ветвистые известковые деревья», «кустарники», «грибы» (рис. 3.4). Для охоты полип высовывает из «домика» щупальца со множеством стрекательных клеток. Мельчайшие животные, составляющие планктон, наталкиваются на щупальца полипа, тот парализует жертву и отправляет ее в ротовое отверстие.

Миллепоры селятся недалеко от берега, а поскольку кораллы очень красивы, это провоцирует желание их коллекционировать. Хорошо известна *Millepora dichotoma*, или сетчатая миллепора, представляющая собой ветвящиеся в одной плоскости колонии в виде желто-коричневого с белыми верхушками веера высотой до 60 см. Обычна на открытых верхних участках склонов высотой до 15 м на большинстве красноморских рифов. На менее открытых местах можно встретить и *Millepora platyphylla* (пластинчатую миллепору), «ожоги» которой не так сильны. Однако в большинстве случаев соприкосновение с миллепорой вызывает



Рис. 3.4. Жгучий коралл *Millepora dichotoma* (Wikipedia Commons)

ощущение контакта с раскаленным докрасна железом. Нередко после ожогов на коже образуются долго незаживающие язвы. Случаев смерти от яда кораллов не зафиксировано, но может наступить болевой шок, потеря сознания, что на глубине может закончиться летальным исходом.

Из нематоцист *Millepora tenera* выделены белковые компоненты, обладающие летальной, гемолитической и дермoneкротической активностью. Для мышей  $DL_{50}$  токсина *M. tenera* составила 40 мкг белка/кг. Один миллилитр сыворотки крови кроликов, предварительно иммунизированных ядом миллепоры, нейтрализует 50 некротических и 1550 гемолитических доз яда.

### 3.2.3. Медуза *Physalia physalis*

Физалия *Physalia physalis* (Hydrozoa, Siphonophorae) – яркий и очень токсичный представитель колониальных гидроидных из отряда сифонофор – распространена в тропических и субтропических зонах Атлантического океана, другие виды обитают в Тихом и Индийском океанах. Сифонофоры – колониальные животные, в состав которых входят как полипоидные, так и медузоидные особи.

В этой громадной плавающей колонии медуз и полипов каждый выполняет свою, строго определенную функцию: трофическую, оборонительную, репродуктивную. Связанные общей жизнедеятельностью, они составляют единый организм. На плаву физалии держатся с помощью пневматофора – плавательного пузыря, наполненного газом (рис. 3.5). Плавательный пузырь физалий ярко окрашен, дрейф физалии по ветру напоминает маневры парусной флотилии, что и послужило основанием называть их «португальский военный кораблик» (Portuguese man-of-war). Газ, наполняющий пневматофор, состоит в основном из азота (около 90%) с небольшой примесью кислорода и аргона. Его вырабатывают железы внутри пузыря. Некоторые физалии, изменяя объем плавательного пузыря, могут опускаться на разную глубину. Книзу от пневматофора отходит ствол, к которому прикреплены несколько сотен полипов. Щупальца-арканчики питающихся полипов (гастрозоидов) уходят в глубину на 20–30 метров. По всей длине они усеяны стрекательными клетками. Сокращаясь, щупальца медленно подтаскивают добычу к центру колонии, где ее переваривают питающие полипы.

В последнее время наблюдается значительное увеличение численности этого вида. С 1989 года физалия объявилась в Средиземном море, впервые у берегов Африки, затем Корсики, в 2010 году была обнаружена у берегов Мальты. В период 2009–2010 гг. были зафиксированы случаи появления физалий у побережий Ирландии и Флориды. Целые флотилии «португальских корабликов» сегодня

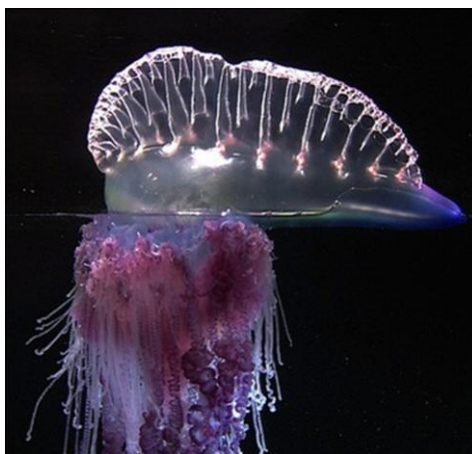


Рис. 3.5. Медуза *Physalia physalis* (Wikipedia Commons)



Рис. 3.6. «Ожог» стрекательными клетками *Physalia physalis* (Wikipedia Commons)

можно обнаружить у берегов Гайаны, Колумбии, Ямайки, Венесуэлы, Австралии и Новой Зеландии. Большую опасность для людей представляют плавающие физалии.

**Клиника отравления.** «Ожоги», вызываемые физалией, причиняют сильную боль и местное поражение кожи (рис. 3.6). Приведем достаточно красочное описание симптомов поражения физалией одним из пострадавших.

«Это был страшный, сокрушительный залп стрекательных батарей сифонофоры, и он попал в цель. Тысячи мельчайших стрел вонзились в кожу, в мышцы, под ногти. Лихорадочная попытка избавиться второй рукой от обвивавших щупалец лишь ухудшила положение – все новые и новые клетки посылали свои отравленные стрелы. Буквально через несколько минут кисти рук оказались парализованными, щемящая, ноющая боль распространилась на лимфатические узлы под мышками. Кожа на руках посинела, вздулась и заблестела. Одновременно появились сильные рези в желудке, приступы удушья, судороги. Уколы с целью поддержания сердечной деятельности и новокаин несколько облегчили муки, но все же в течение часа приступы удушья и судороги повторялись дважды. В общей сложности болезненное состояние продолжалось около двух часов, после чего боль начала утихать, но все еще сильно ломало в локтевых суставах и предплечье. Через несколько дней, когда я пересаживался на другое судно, то с большим трудом, преодолевая мышечную боль, смог забраться на борт по шторм-трапу».

В тяжелых случаях наблюдаются расстройства дыхания, сердечной деятельности, судороги, иногда летальный исход. «Ожог» физалии по токсичности сравним с укусом ядовитой змеи. При «ожогах» необходимо обработать пораженное место 3–5% уксусом, дабы предотвратить выход яда из оставшихся в ране стрекательных клеток. Лишь в редких случаях «ожоги» физалии приводят к смерти. Особенно опасна физалия для детей, пожилых людей и аллергиков. Лечение симптоматическое.

**Химический состав и механизм действия.** Экспериментальная картина отравления характеризуется сильной болью в месте инокуляции яда, атаксией, постепенным развитием вялого паралича, охватывающего и дыхательную мускулатуру. Вследствие этого развивается одышка, наблюдаются непроизвольные дефекация и мочеиспускание, перед наступлением смерти могут быть судороги

аноксической природы. При вскрытии обнаруживаются ишемические легкие, сердце, остановленное в систоле, очаги геморрагии в брюшной полости. В зависимости от способа приготовления яда его  $DL_{50}$  для мышей может составить 50–70 мг/кг.

В составе яда обнаружены АТФаза, неспецифическая аминопептидаза, РНК-аза, ДНК-аза, АМФ-аза и фибринолизин. В высоких концентрациях яд физалий проявляет фосфолипазную активность. Летальный эффект вызывается белковым фактором с молекулярной массой ~ 150000, который при разделении дает серию белковых фракций, еще не изученных с достаточной степенью точности.

Фармакологические эффекты ядов довольно разнообразны. Яд токсичен для позвоночных и беспозвоночных животных, вызывает сокращение гладкой мускулатуры, возможно за счет кининоподобного действия. На нервно-мышечную передачу в скелетной мускулатуре яд действует слабо, но в высоких дозах блокирует. В дозах 100–300 мкг/кг экстракт нематоцист физалии вызывает у крыс кратковременную дозозависимую гипотензивную реакцию. Кардиотоксическое действие экстракта проявляется в увеличении интервала  $Q-T$ , укорочении интервала  $P-R$  и инверсии зубца  $P$ . Летальные дозы яда вызывали развитие атриовентрикулярного блока.

Яд физалий обладает выраженными мембранотропными свойствами. В экспериментах *in vitro* яд приводит к деструкции митохондрий, лизосом, саркоплазматического ретикулума. Инкубация изолированных тучных клеток крысы с ядом физалии способствует высвобождению из них гистамина. Особенность гистамин-либераторного действия яда заключается в том, что этот эффект не зависит от ионов  $Ca^{2+}$  (рис. 3.7) и у него отсутствует температурный оптимум. Кроме того, одновременно с гистамином высвобождается цитоплазматический маркер – лактатдегидрогеназа, что указывает на цитолитический механизм действия яда физалии. Характерным свойством яда является увеличение транспорта натрия через изолированную кожу лягушки, однако этот эффект наблюдается только при воздействии на дерму, но не на эпидермис. Гемолитические компоненты в яде не

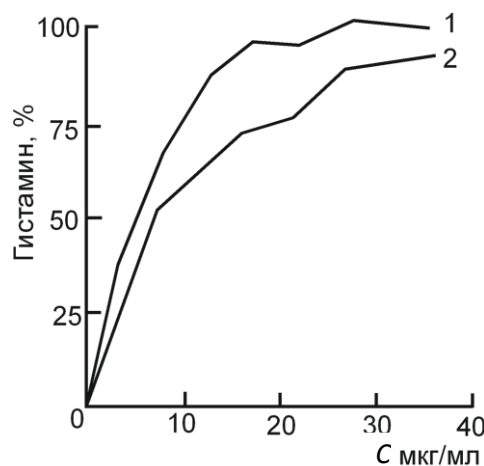


Рис. 3.7. Влияние яда медузы *Physalia physalis* на высвобождение гистамина из изолированных тучных клеток крысы в отсутствие (1) и в присутствии (2) ионов кальция (Flowers, Hessinger, 1981)

выявлены. Яд обладает слабыми антигенными свойствами, поэтому получение антисывороток с высоким титром антител представляет определенные трудности даже при использовании адьювантов.

### 3.2.4. Медуза *Chironex fleckeri*

Медуза *Chironex fleckeri* относится к кубомедузам (Cubozoa, Chiropsida). Эта небольшая группа кишечнополостных включает около 20 видов, населяющих тропические и тёплые умеренные моря с океанической солёностью. Кубомедузы довольно быстро плавают и способны легко изменять направление движения. Некоторые представители опасны для человека: ожоги, вызываемые их стрекательными клетками, могут быть смертельны. Кубомедузы – обитатели прибрежных теплых вод Австралии, Индонезии (*Chironex*, *Chiropsalmus*), Африки (*Carybdea*). Живут кубомедузы в тропических водах. Они предпочитают мелководные, защищенные от ветра бухточки с песчаным дном и в тихую погоду подходят к пляжам. В жаркие дни кубомедузы опускаются на глубину, а по утрам и вечерам поднимаются к поверхности.

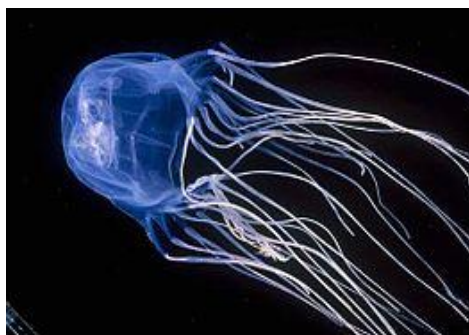


Рис. 3.8. Медуза *Chironex fleckeri* (Wikipedia Commons)

Почти весь день кубомедузы проводят на дне, лишь к ночи появляясь на поверхности воды. Своё название кубомедузы получили за слегка округлую кубическую форму колокола (рис. 3.8). В нижних углах куба у этой медузы есть четыре выроста – так называемые «руки». Каждая «рука» разделяется на несколько «пальцев», заканчивающихся длинными тонкими щупальцами. Опасность контакта с этими небольшими (не более 20 сантиметров в диаметре) полупрозрачными медузами велика, поскольку их трудно заметить в воде, и они довольно быстро плавают. Наибольшую опасность представляет *Chironex fleckeri* (Chiropsida) – самая ядовитая из кубомедуз, названная за это «морской осой». *Chironex fleckeri* и некоторые другие медузы в большом количестве встречаются около Северной Австралии в летние месяцы (примерно



Рис. 3.9. А – «ожог», вызванный *Chironex fleckeri*; Б – указатель, предупреждающий о кубомедузах на пляже Cape Tribulation в Квинсленде, Австралия (Wikipedia Commons)

с ноября по апрель). В связи с этим на общественных пляжах размещают предупредительные знаки (рис. 3.9), а также в воде устанавливают специальные сетки, сквозь которые кубомедузы не могут проникнуть, поэтому люди плавают, не боясь быть атакованными. Есть указания, что одним из эффективных средств защиты могут служить женские колготы, которые однажды использовали спасатели на соревнованиях по серфингу в Квинсленде.

**Клиника отравления.** На побережье Австралии зарегистрировано много клинических случаев поражения медузой *Ch. fleckeri*, закончившихся смертельным исходом, причем смерть наступала в течение нескольких минут. Как полагают, за последние 100 лет ожогами кубомедузы были вызваны до 100 смертей. В совокупности это служит основанием для широко распространённого мнения о том, что это самая ядовитая и самая опасная медуза в мировом океане, а возможно даже и самое опасное животное во всём мире. Симптомы отравления характеризуются резкой жгучей болью, на пораженной коже развивается папулезный дерматит с последующим изъязвлением и некрозом тканей (рис. 3.9). Нападать кубомедуза не любит, она предпочитает уплыть от опасности, в том числе и от людей. Любые соприкосновения с человеком являются случайными, вызванными его неожиданным появлением в воде, например нырянием. В этом случае медуза просто не успевает отплыть и поражает человека смертельно опасным ядом. Несмотря на то, что существует противоядие, своевременное лечение пострадавшего может быть затруднено или невозможно. У пораженных медузой купальщиков нередко развивается сердечный приступ, и они тонут, даже не успев добраться до берега или лодки.

В тяжелых случаях отмечаются адинамия, спазмы скелетной и гладкой мускулатуры, нарушения дыхания и сердечной деятельности, ведущие к коллапсу и смерти. Смачивание ожога уксусом незамедлительно угнетает все не среагировавшие нематоциты, а трение места ожога только усугубляет проблему.

Приставшие к телу щупальца следует осторожно удалить защищёнными руками или с помощью пинцета. Удалённые щупальца остаются опасными до самого разрушения со временем, и даже будучи высушенными могут восстанавливать свои свойства при увлажнении.

Яд *Chironex fleckeri* обладает антигенными свойствами, что позволило получить лечебную сыворотку. Поэтому обращение в службу скорой помощи является задачей первостепенной важности.

Кроме того, в Австралии предложен двухкомпонентный состав для местного лечения «ожогов», вызываемых кишечнополостными, а также против ядов насекомых, пауков, скатов. Средство состоит из хлорида или сульфата аммония и детергента – этоксилата 12–15-атомного спирта. Спирт удаляет жировой покров кожи и открывает доступ к инокулированному яду солей алюминия, вызывающих денатурацию белковых компонентов яда.

**Химический состав и механизм действия.** Тяжесть клинической картины отравления и сравнительно высокая частота поражений *Ch. fleckeri* привлекли внимание исследователей к яду медузы. Уже в начале экспериментального изучения этого яда было выяснено, что секрет нематоцист и ядовитый экстракт, полученный из щупалец, лишенных нематоцист, отличаются по своим фармакологическим свойствам.

**Яд нематоцист.** В экстракте нематоцист обнаружены белки, углеводы и производные индола. Из белковой фракции удалось выделить факторы, ответственные за летальное, гемолитическое и дерматонекротическое действие яда. Целый экстракт токсичен для креветок, рыб и млекопитающих (мышей, крыс). Экстракт, полученный от 50000 нематоцист, убивал креветок за 5–90 с, а от 25000 нематоцист – за 2 мин. Инъекция экстракта от 35000 нематоцист вызывает смерть у мышей через 2 мин от острой сердечной и дыхательной недостаточности. При вскрытии обнаруживаются отечные легкие с очагами геморрагии в них. Подкожное введение яда вызывает развитие некроза кожи. Внутривенная инъекция сублетальных доз яда вызывает у крыс начальное повышение АД, длящееся 10–20 с, с последующим падением АД и вторичной длительной гипертензией. Изменения, наблюдаемые в ЭКГ при введении токсических доз яда нематоцист, указывают на нарушения в проводящей системе сердца: развитие атриовентрикулярного блока с последующей фибрилляцией желудочков.

Эксперименты на изолированных органах и тканях показали, что яд нематоцист вызывает сокращение поперечно-полосатой и гладкой мускулатуры и нарушает передачу в нервно-мышечных синапсах, однако проводимость изолированного нервного ствола под действием яда не изменяется.

**Яд щупалец.** Экстракт, полученный из щупалец, угнетает проведение возбуждения по изолированному нерву амфибий, вызывает начальное падение АД, не обладает дерматонекротическими свойствами. Деполяризующее действие этого экстракта на поперечно-полосатую мускулатуру гораздо слабее, чем яда нематоцист, однако блокирующее влияние на нервно-мышечную передачу выражено сильнее. Кардиотоксическая и гемолитическая активность экстракта щупалец была сравнима с ядом нематоцист. В низких дозах он вызывал обратимое уменьшение коронарного кровотока, частоты и амплитуды сердечных сокращений. При увеличении дозы наступали необратимые изменения, которые наблюдались как *in vivo*, так и на изолированном сердце.

Хроматографической очисткой из экстракта щупалец был выделен белок с молекулярной массой ~ 70000, обладающий гемолитической активностью, которая неспецифически тормозится ганглиозидами. Лизис клеточных мембран приводит к гиперкалиемии, которая может быть одной из причин развития боли. Имеются сведения о присутствии в яде гистаминлибераторов, гистамина, серотонина, кининоподобных соединений, но не обнаружены простагландины. Эти вещества также могут быть ответственны за развитие боли.

### 3.2.5. Медуза *Carukia barnesi*

Медуза ируканджи (*Carukia barnesi*) – вид ядовитых медуз (Cubozoa, Carybdeida). Кроме вида *Carukia barnesi*, к роду *Carukia* в настоящее время отнесены еще несколько видов медуз ируканджи – *Carukia shinju* (Gershwin, 2005), а также *Malo kingi*, *Alatina mordens*, *Alatina moseri* и др.

Первые сведения об этих чрезвычайно ядовитых медузах предоставил в 1952 г. Х. Флекер (H. Flecker), который назвал их в честь австралийского племени ируканджи, обитавшего когда-то в районе австралийского города Кэрнс. В 1964 г. Д. Барнс испытал действие медузы ируканджи на себе, своем сыне и одном спасателе, а также составил подробное описание медузы и синдромов действия яда, что впоследствии послужило основанием для научного названия медузы – *Carukia barnesi*.

Взрослая особь ируканджи, по виду напоминающая небольшой прозрачно-беловатый колокольчик, имеет размер примерно 12×25 мм. У неё имеется 4 длинных тонких почти прозрачных щупальца длиной от нескольких миллиметров до 1 метра, покрытых стрекательными клетками. Поражение человека ядом ируканджи сопровождается характерными симптомами: сильной головной болью, болями в спине, мышцах, в области живота и таза, тошнотой и рвотой, потливостью, беспокойством, гипертензией, тахикардией и отеком легких – называемыми синдромом ируканджи. В отдельных случаях отравление способно привести к смерти, причем пациент страдает от очень сильных болей по всему телу в течение суток. Лечение симптоматическое. Лечебная сыворотка, помогающая при «ожогах» *Chironex fleckeri*, эффективна и при «ожогах», вызванных *Carukia barnesi*.

Медуза обитает преимущественно в водах Австралии. Но по данным последних исследований, всемирное потепление, в том числе океанических вод, приводит к постепенному распространению синдрома ируканджи в водах Мирового океана от Кейптауна до Флориды.

**Другие кубомедузы.** Очень похожая на *Chironex*, но несколько меньших размеров кубомедуза *Chiropsalmus quadrigatus* (Chirodropida) также обладает ядом с дерматонекротическими и гемолитическими свойствами. Активность яда *Chiropsalmus* ниже, чем у *Chironex*. В последние годы в ряде медицинских и биологических журналов стали появляться сообщения о серьезных отравлениях, вызываемых крупными кубомедузами хиродропус *Chirodropus* (Chirodropida).



### 3.2.6. Медуза *Chrysaora quinquecirrha*

Наиболее изученными и опасными представителями класса Сцифоидных медуз (Scyphozoa), входящих в отряд Дискосмедуз (Semaestomeae), являются «морская крапива» *Chrysaora quinquecirrha* (рис. 3.10), цианея *Cyanea capillata* и пелагия *Pelagia noctiluca*.

**Клиника отравления.** Хризаора распространена в субтропических и тропических водах Индийского, Атлантического и Тихого океанов. Чаще встречается в теплых прогретых верхних слоях прибрежных вод. «Морская крапива» вызывает мучительные «ожоги» с возникновением папулезного и эритематозного дерматитов и явлений некроза (рис. 3.11). В тяжелых случаях развивается сердечно-сосудистая недостаточность. Лечение симптоматическое.



Рис. 3.10. Медуза «морская крапива» *Chrysaora quinquecirrha* (Wikipedia Commons)



Рис. 3.11. «Ожог» стрекательными клетками *Chrysaora quinquecirrha* (Wikipedia Commons)

**Химический состав и механизм действия.** В яде нематоцист обнаружен широкий набор ферментов, физиологически активных веществ: аминов и пептидов, а также белков с летальным, кардиотоксическим, гемолитическим и дерматонекротическим действием. Среди ферментов яда выделены ДНК-аза, РНК-аза, АТФаза, гиалуронидаза, кислая и щелочная протеазы и коллагеназа. Кроме того, в яде в высоких количествах содержатся простагландины, гистамин, серотонин, гистаминолибераторный фактор и кининоподобные вещества. Некоторые ферменты (ДНК-аза, кислая протеаза) получены в очищенном виде.

Экспериментальное изучение яда хризаоры выявило широкий спектр его биологической активности. Летальный фактор для мышей – белок с молекулярной массой ~ 150000, который, видимо, состоит из двух субъединиц, различающихся по значению изоэлектрической точки. Дерматонекротический фактор отличается от летального большей термостабильностью, а также устойчивостью к карбокси-пептидазе. Гемолитическое действие связано с полипептидным фактором, активным даже при сравнительно низких концентрациях яда.

Существуют различия в химическом составе яда, полученного из ловчих и мезентериальных щупалец хризаоры. Например, в ловчих щупальцах оказалось большее содержание летального и дерматонекротического фактора, а также кининоподобных веществ, чем в мезентериальных. Эти различия могут отражать функциональные особенности щупалец: обездвиживание жертвы ловчими и предварительное переваривание мезентериальными.

Высокая токсичность яда хризаоры связана с выраженными нейротоксическими и кардиотоксическими свойствами. Яд вызывает уменьшение амплитуды ПД изолированного нерва лягушки и блокирует передачу возбуждения через нервно-мышечный синапс. Причем в последнем случае выявляются различия в механизме действия целого яда и выделенного из него деполяризующего фактора.

Целый яд снижает амплитуду МПКП, не затрагивая частоты их возникновения. Деполяризующий фактор, напротив, вызывает резкое увеличение (с 2 до 500 с<sup>-1</sup>) частоты МПКП, что указывает на пресинаптический характер его действия. Деполяризация клеточных мембран, вызываемая этим фактором, носит обратимый характер. Кроме того, фиксация мембранного потенциала на уровне -90 мВ приводит к восстановлению параметров ПД. Все это указывает на неспецифический механизм деполяризации, вызываемой ядом хризаоры.

Одним из существенных симптомов отравления ядом хризаоры является поражение сердечной мышцы. Электрофизиологические исследования, проведенные на изолированных волокнах Пуркинье сердца собаки, показали, что яд снижает амплитуду ПД и скорость проведения возбуждения в них. С другой стороны, папиллярные мышцы сердца оказались более устойчивыми к влиянию яда.

Повышение концентрации Са<sup>2+</sup> в среде препятствовало развитию кардиотоксического действия яда. Эти данные могут иметь определенное терапевтическое значение, поскольку токсическое действие яда связывают либо со снижением концентрации кальция, фиксированного на мембране миокардиальных клеток, либо с понижением чувствительности мембраны к кальцию.

Мембранотропное действие яда хризаоры продемонстрировано на изолированных митохондриях, лизосомах, эндоплазматическом ретикулуме, культуре клеток и др. Под влиянием яда происходит набухание и лизис митохондрий клеток печени крысы. Электронная микроскопия выявляет отчетливое нарушение целостности мембраны митохондрий и разбухание крист. Морфологические изменения сопровождаются и угнетением окислительного фосфорилирования в митохондриях. Модификация ядом клеточных мембран приводит к возрастанию транспорта натрия через них, что показано на препаратах изолированной кожи лягушки и тонкой кишки хомячка.

### 3.2.7. Медуза *Cyanea capillata*

Самой большой медузой в мире считается арктическая гигантская медуза цианея волосистая (*Cyanea capillata*), обитающая в Северо-Западной Атлантике (рис. 3.12). Одна из таких медуз, выброшенная на берег в Массачусетском заливе, имела диаметр колокола 2.28 м, а ее щупальца простирались на 36.5 м. Каждая такая медуза в течение жизни может съесть около 15 тыс. рыбок. Распространена в холодных и теплых водах Мирового океана.

**Клиника отравления.** Контакт с щупальцами цианеи уже через несколько секунд приводит к возникновению жгучей боли, к которой через 10–20 мин присо-

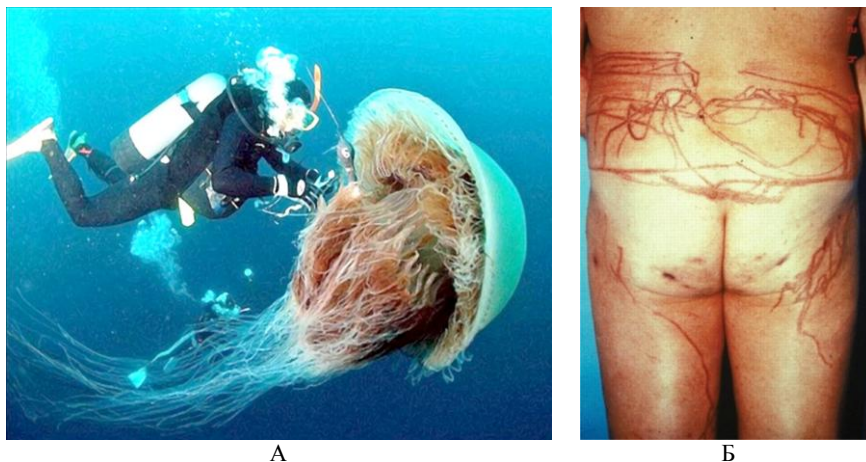


Рис. 3.12. А – волосистая цианея *Cyanea capillata*; Б – «ожог» стрекательными клетками цианеи (Wikipedia Commons)

единяются симптомы поражения кожи – эритема<sup>37</sup>, иногда отек, удерживающиеся от 40 мин до 48 ч (рис. 3.12). Лечение симптоматическое.

**Химический состав и механизм действия.** Экспериментальное изучение токсической фракции, выделенной из нематоцист цианеи, показало, что это смесь белков с молекулярной массой ~ 70000. Токсины нематоцист цианеи вызывали у мышей затруднение дыхания, судороги и смерть, которая при введении доз больших чем 1 DL<sub>50</sub> наступала через 4–10 мин. При вскрытии наблюдаются застойные явления во внутренних органах и правой стенке сердца. Внутривенное введение токсина крысам в дозе 1.6 мг/кг приводит к резкому и необратимому падению АД. При инъекции меньших доз на ЭКГ можно наблюдать удлинение интервала P – Q, снижение уровня сегмента S – T и амплитуды волны R, что указывает на поражение проводящей системы сердца и развитие ишемии сердечной мышцы.

На изолированных органах токсины нематоцист цианеи вызывают необратимое сокращение препаратов гладких и поперечно-полосатых мышц, а также приводят к возрастанию числа аритмически сокращающихся одиночных клеток культуры тканей крысы. Аритмогенное действие токсинов проявляется в низких концентрациях (20 нг/мл), что позволяет использовать их в качестве аритмогенных агентов для тестирования активности антиаритмических средств.

### 3.2.8. Медуза *Pelagia noctiluca*

В 1977–1979 гг. в северной части Адриатического моря наблюдалось необычное для этих вод массовое появление *P. noctiluca* (рис. 3.13). Количество медуз было так велико, что они затрудняли движение судов и нанесли урон

<sup>37</sup> Уместно привести описание поражения этой медузой, сделанное А. Конан Дойлем в рассказе «Львиная грива»: «...Мы онемели от удивления. Его спина была располосана темно-багровыми рубцами, словно его исхлестали плетью из тонкой проволоки».

рыболовству. Одновременно резко возросло число поражений этой медузой. Если в период с 1947 по 1975 гг. были зарегистрированы 10 случаев, то только в 1978 г. таких случаев было уже 250000. Больные жаловались на резкую боль в пораженном участке кожи. Было отмечено несколько шоковых состояний. Лечение носит симптоматический характер.

### 3.2.9. Медуза *Rhizostoma pulmo*

Корнеротые медузы (Scyphozoa, Rhizostomeae) не имеют щупалец, их ротовые лопасти разветвляются, образуя многочисленные складки, сросшиеся между собой. Концы ротовых лопастей не образуют складок, а заканчиваются восемью корневидными выростами (рис. 3.14).

*Rhizostoma pulmo* обычна у нас в Черном и Азовском морях и вызывает довольно болезненные «ожоги». Из нематоцит *R. pulmo* выделен пептид, состоящий из 6 остатков аминокислот, названный *ризостомин*. У экспериментальных животных он вызывает дыхательный паралич и смерть.

### 3.2.10. Медуза *Stomolophus meleagris*

Один из самых интересных представителей отряда Rhizostomeae, корнерот *Stomolophus meleagris* получил свое неофициальное название – пушечное ядро – за округлый, правильной формы зонтик (рис. 3.15). Как и у других корнеротов, ротовые лопасти «пушечного ядра» растут не отдельно, а представляют собой единую сросшуюся структуру, внешне похожую на клубок корней, в центре которого располагается рот медузы. Этими лопастями корнероты *Stomolophus meleagris* прощупывают окружающую их воду, а обнаружив зоопланктон, выпускают токсичную слизь, которая обездвиживает жертву. Ядовитая слизь помогает корнеротам отпугивать небольших хищных рыб, однако не спасает от их главных врагов – кожистых черепах. Медузы покрыты стрекательными



Рис. 3.13. Медуза *Pelagia noctiluca* (Wikipedia Commons)



Рис. 3.14. Медуза *Rhizostoma pulmo* (Wikipedia Commons)



Рис. 3.15. Медуза *Stomolophus meleagris* (Wikipedia Commons)

клетками, способными вызвать сильную боль при контакте с кожей человека или ожог глаз.

«Пушечные ядра» в большом количестве встречаются в теплых, умеренно соленых водах Тихого океана – от восточного побережья Северной Америки до Бразилии. Эти морские обитатели отлично плавают и без труда преодолевают большие расстояния в толще воды. Корнероты *Stomolophus meleagris*, в отличие от большинства своих собратьев, являются объектом морского промысла. Их желто-коричневые зонтики богаты питательными веществами, а низкое содержание жира и холестерина сделало их популярным деликатесом во многих странах, в том числе и Японии. В странах Азии корнероты *Stomolophus meleagris* широко используются в народной медицине. Считается, что «пушечные ядра» способны излечить артрит, болезни легких, снизить артериальное давление.

Токсин, выделенный из нематоцист этой медузы, обладает кардиотоксическим действием. При внутривенном введении крысам и кроликам токсин приводит к развитию брадикардии. Наблюдается инверсия зубцов *P* и *T* на ЭКГ, уменьшение амплитуды комплекса *QRS*. Поражение проводящей системы сердца влечет развитие атриовентрикулярного блока, желудочковой экстрасистолии и фибрилляции желудочков в терминальную фазу отравления. В крови имеет место гипонатриемия, гиперкалиемия, гемолиз. В сублетальных дозах токсин вызывает повышение уровня лактатдегидрогеназы. Нарушение электролитного баланса крови при введении токсина свидетельствует о его влиянии на процессы трансмембранного транспорта ионов. В экспериментах на изолированной коже лягушки токсин *S. meleagris* увеличивал транспорт натрия аналогично вазопрессину. Ингибирование активного транспорта натрия сердечным гликозидом оубаином предотвращало стимулирующий эффект токсина, тогда как тормозящий эффект повышенных концентраций ионов  $Ca^{2+}$  был обратим при действии токсина. Дальнейшая очистка токсина *S. meleagris* позволила выделить фракции как стимулирующие, так и тормозящие транспорт натрия. Фракция, тормозящая транспорт натрия, имела  $M_r \sim 50000$ ,  $pI$  3.3 и обладала действием, подобным оубаину, а также геморрагической активностью. Токсическое действие яда *S. meleagris* связано с более высокомолекулярной фракцией ( $M_r \sim 300000$ ) с  $DL_{50}$  32 мкг/кг, вызывающей у мышей цианоз слизистых, нарушение дыхания и судороги в терминальной стадии отравления. Эта же фракция усиливала транспорт  $Na^+$  через кожу лягушки. Таким образом, токсический эффект яда *S. meleagris* обеспечивается интегральным взаимодействием компонентов, увеличивающих перенос натрия через клеточные мембраны, и кардиотонических компонентов, блокирующих активный транспорт натрия.

### 3.3. ЯД КОРАЛЛОВЫХ ПОЛИПОВ (Anthozoa)

Коралловые полипы не образуют медуз и поэтому существуют только в полипидном состоянии. Имеются две большие группы коралловых полипов: восьмилучевые (*Octocorallia*) и шестилучевые (*Hexacorallia*). Восьмилучевые кораллы обладают известковым или известково-роговым скелетом. Среди шестилучевых кораллов встречаются как бесскелетные формы, например актинии (*Actinaria*), так и полипы, обладающие мощным известковым скелетом, – мадрепоровые кораллы (*Madreporaria*). Коралловые полипы – сидячие животные, поэтому их эпидемиологическая опасность сравнительно невелика. Чаще всего «ожоги» стрекательными

клетками коралловых полипов получают сборщики губок, аквалангисты, а также заготовители мадрепоровых кораллов для хозяйственных целей.

### 3.3.1. Роговые кораллы (*Gorgonaria*)

Роговые кораллы, или горгонарии (*Gorgonaria*) – парафилетическая группа восьмилучевых кораллов (*Ostocorallia*), ранее фигурировавшая в ранге отряда. Насчитывает около 1200 видов. Некоторые виды являются объектом промысла. Горгонарии обладают своеобразным скелетом, образованным из концентрических роговых пластинок, обычно пропитанных известью (рис. 3.16). Роговые кораллы широко распространены в Мировом океане, предпочитая мелководье особенно тропических и субтропических областей, хотя немногочисленные виды встречаются в водах Арктики и Антарктиды. Спиртовые экстракты горгонарий обладают цитотоксичностью, а также антибактериальным действием.



Рис. 3.16. Горгонарии (Wikipedia Commons)

Изучение горгонарий рода *Lophogorgia*, обитающих в прибрежных водах Мексики и Калифорнии, показало, что они продуцируют токсическое вещество, названное *лофотоксином* (рис. 3.17).

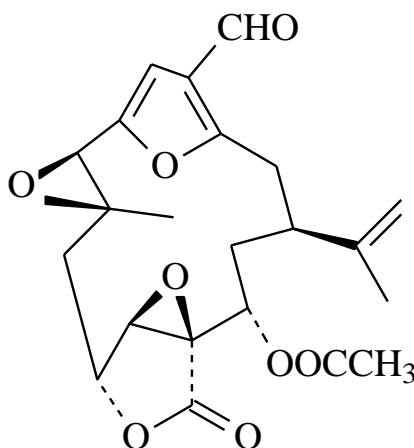


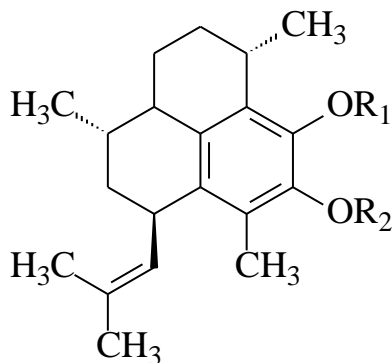
Рис. 3.17. Лофотоксин

Лофотоксин был выделен из горгонарий *L. alba*, *L. cuspidata*, *L. rigida* (Мексика) и калифорнийской горгонарии *L. chilensis*. Молекулярная формула лофотоксина –  $C_{22}H_{24}O_8$ , его структура была установлена методами масс-спектропии и ЯМР. Подкожное введение этого токсина в дозе 8 мкг/г ( $DL_{50}$ ) мышам вызывает у

них смерть. Симптомы отравления: атаксия, мышечный паралич и смерть от остановки дыхания. В концентрации  $10^{-8}$  моль/л лфотоксин необратимо блокирует нервно-мышечную передачу. Биологические свойства во многом определяются его эпоксилактонной и фуранальдегидной группировками.

Сильным противовоспалительным действием обладают псевдоптерозины – группа дитерпеноидных гликозидов, выделенных из карибской горгонарии *Pseudopterogorgia elisabethae* в конце 80-х годов, например псевдоптерозин Е (рис. 3.18).

По своему противовоспалительному действию эти вещества превосходят известное противовоспалительное лекарственное средство индометацин. Они влияют на биохимические трансформации арахидоновой кислоты, уменьшая синтез эйкозаноидов.



Название	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Псевдоптерозин Е	H	
Метоптерозин	Ксилопираноза	CH <sub>3</sub>

Рис. 3.18. Псевдоптерозины из горгонарии *Pseudopterogorgia elisabethae* (Стоник, 2009)

На основе частично очищенных экстрактов *P. elisabethae*, содержащих псевдоптерозин Е, компанией Estee Lauder был создан косметический крем для кожи лица, который производится для коммерческой реализации. Для того чтобы обеспечить производство этого продукта необходимым количеством псевдоптерозинов, был осуществлен сбор большого количества горгонарий вдоль побережья Багамских островов и изучена регенерация этих кораллов после удаления части их колонии. С целью уменьшения ущерба для подводных биоценозов разрабатывались также два других подхода для наработки псевдоптерозинов: их агликоны были синтезированы несколькими способами и затем гликозилированы, а кроме того, был найден биотехнологический путь их получения из фарнезилпирофосфата под действием ферментов, выделенных из *P. elisabethae*.

### 3.3.2. Актинии (Actinaria)

Актинии, или морские анемоны – отряд морских стрекающих из класса коралловых полипов (Anthozoa). Представители лишены минерального скелета. Большинство актиний – сидячие организмы, обитающие на твёрдом грунте. Актинии – в подавляющем большинстве одиночные морские животные, своей формой напоминающие причудливые цветы (рис. 3.19). Морские анемоны – одни из древнейших известных хищных животных на Земле. Они охотятся на мелких рыб, ракообразных и моллюсков, обездвигая их при помощи стрекательных клеток, расположенных на щупальцах вокруг ротового отверстия.

Классические примеры симбиоза двух организмов даёт сожительство раков-отшельников и актиний (рис. 3.19). Совместная жизнь актинии и рака-отшельника даёт несомненные преимущества каждому из партнеров. Актинии теперь не нужно находиться в постоянном и напряженном ожидании поимки пищи. Она без труда улавливает щупальцами взмученные остатки пищи рака-отшельника, в поисках которой он непрерывно движется по дну водоема. Рак же находится теперь под надежной защитой стрекательных капсул актинии – грозного оружия для большинства врагов раков-отшельников.



Рис. 3.19. Актинии: А – *Actinia equine*; Б – симбиоз актинии и рака-отшельника (Wikipedia Commons)

**Клиника отравления.** Стрекательные клетки актиний поражают кожу человека, вызывая зуд и жжение в месте контакта, позднее распространяющееся дальше по телу. На месте «ожога» образуется папула роговой консистенции с последующим некрозом тканей. В тяжелых случаях развиваются лихорадка, головная боль, общая слабость. Известно также, что биологи, часто имеющие дело с актиниями, иногда страдают упорной крапивницей.

**Химический состав и механизм действия.** Изучение химического состава яда актиний, начатое еще в начале XX века, привело к выделению из актиний токсических веществ, названных *талласином* и *конгестином*, химическая структура которых не была установлена. В настоящее время эти термины не используются, так как из многих актиний выделены активные начала полипептидной природы, для целого ряда которых определена первичная структура.



Во второй половине XX века одной из первых была установлена первичная структура токсина AX<sub>1</sub> из актинии *Anthopleura xanthogrammica*, имеющая следующий вид:

GVSCLCDSGDGPSVRGNTLSGTLWLYPGCPGWHNCLANGPTIGWCKQ.

Уже на начальном этапе исследований токсины стрекательных клеток актиний по своему физиологическому действию были разделены на нейротоксины и цитотоксины; последние, как правило, имеют большую молекулярную массу и, в отличие от нейротоксинов, экстрагируются из актиний водой.

**Нейротоксины.** Нейротоксические полипептиды были выделены и с разной степенью полноты охарактеризованы для нескольких видов актиний (табл. 3.1). Они представляют собой полипептидные цепочки, состоящие из ~ 50 аминокислотных остатков, с молекулярной массой ~ 5000, имеющие 2–3 дисульфидные связи. Эти полипептиды токсичны для позвоночных и беспозвоночных животных и обладают нейротропными и кардиотропными свойствами (табл. 3.2).

Таблица 3.1

**Химическая характеристика некоторых нейротоксинов актиний  
(Schweitz et al., 1981)**

Шифр токсина	Количество аминокислотных остатков	Молекулярная масса	Выход токсина на 1 кг массы актиний, мг
<i>Anemonia sulcata</i>			
AS <sub>1</sub>	46	4821	15
AS <sub>2</sub>	47	4948	116
AS <sub>3</sub>	27	2339	10
AS <sub>5</sub>	46	4483	7.6
<i>Anthopleura xanthogrammica</i>			
AX <sub>1</sub>	49	5138	60
AX <sub>2</sub>	51	5725	7.8

Таблица 3.2

**Фармакологические свойства некоторых нейротоксинов актиний  
(Schweitz et al., 1981)**

Шифр токсина	DL <sub>50</sub> для мышей, мкг/кг	DL <sub>100</sub> для крабов, мкг/кг	K <sub>d</sub> * нмоль/л	ED <sub>50</sub> ** нмоль/л
<i>Anemonia sulcata</i>				
AS <sub>1</sub>	>4000	4.4	7000	10 000
AS <sub>2</sub>	100	3.7	150	200
AS <sub>3</sub>	>18 000	6.7	>10 000	>10 000
AS <sub>5</sub>	19	10.4	50	15
<i>Anthopleura xanthogrammica</i>				
AX <sub>1</sub>	66	22	120	47
AX <sub>2</sub>	8	78	35	7

\* K<sub>d</sub> – связывание с синапсосомами; \*\* ED<sub>50</sub> – стимуляция поглощения <sup>22</sup>Na<sup>+</sup> клетками нейробластомы.

Нейротоксины актиний вызывают замедление инактивации  $\text{Na}^+$ -каналов электрогенной мембраны, приводящее к увеличению длительности ПД в нервных и мышечных волокнах, появлению ритмических разрядов ПД, увеличению высвобождения медиатора из пресинаптических терминалей, изменению силы и частоты сердечных сокращений. Первая фаза действия нейротоксина на синаптическую передачу заключается в усилении выброса медиатора на одиночное раздражение нерва, приводящее к увеличению амплитуды ВПСП и усилению постсинаптической реакции. Вторая фаза связана с развитием стойкой деполяризации возбудимой мембраны и блокированием проведения возбуждения.

В наномолярных концентрациях нейротоксины актиний вызывают положительный инотропный эффект на изолированном сердце теплокровных, причем, в отличие от сердечных гликозидов, стимулирующее действие нейротоксинов не связано с ингибированием  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФ-азы. Один из самых мощных кардиостимулирующих полипептидов антоплеурин-А (из *A. xanthogrammica*) действует эффективнее сердечных гликозидов или глюкагона, причем его положительный инотропный эффект не сопровождается учащением ритма сердцебиения и повышением АД. В токсических концентрациях нейротоксины вызывают нарушение сердечной деятельности – аритмию, фибрилляцию и остановку сердца в систоле. Модификация нейротоксинами клеточных мембран отражается и на внутриклеточных регуляторных процессах. Так, в частности, токсин II из *A. sulcata* вызывает 40-кратное увеличение содержания цГМФ в мозжечке мышей, при этом содержание цАМФ увеличивается в меньшей степени. Следует подчеркнуть, что сходным механизмом действия обладают и полипептидные нейротоксины скорпионов, которые также замедляют инактивацию  $\text{Na}^+$ -каналов.

Модификация аминокислотных остатков в токсине II из *A. sulcata* позволила выявить их функциональную гетерогенность. Так, Arg14 обуславливает нейротоксические свойства и связывание молекулы токсина с рецептором; Asp7, Asp9, Gln47 важны для проявления токсических свойств, но, видимо, не участвуют в связывании токсина.

**Цитотоксины.** Цитотоксические полипептиды актиний можно отнести к группе мембраноактивных полипептидов (МАП), встречающихся в ядах других животных (перепончатокрылых, змей). МАП актиний, очевидно, способны проникать через неполярные центры липидного бислоя внутрь мембраны, при этом предполагалось, что рецептором для цитотоксинов большинства актиний может служить сфингомиелин, увеличение концентрации которого в среде инактивирует цитолитическое действие МАП (табл. 3.3). Показано, что цитолизины актиний проявляют высокую гемолитическую активность в отношении мембран эритроцитов. Их действие на биологические и модельные мембраны ингибируется экзогенным сфингомиелином, и поэтому они отнесены к группе сфингомиелин-ингибируемых цитолизин. Единственный известный представитель высокомолекулярных цитолизин актиний – метридиолизин из *Metridium senile*. Действие метридиолизина ингибируется холестерином. Этот токсин является представителем группы холестерин-ингибируемых цитолизин и по физико-химическим свойствам подобен SH-активируемым бактериальным цитотоксинам. Представителем низкомолекулярных цитолизин является *теалиатоксин* из актинии *Tealia feline* с  $M_r = 7800$  Да.

Таблица 3.3

**Характеристика цитотоксинов актиний  
(Bernheimer, Avigad, 1982)**

Источник токсина	Молекулярная масса	Торможение		Гемолитическая активность, ед.
		сфингомиелином	холестерином	
<i>Actinia equina</i>	20000	+	0	–
<i>Stoichactis helianthus</i>	16000	+	0	70000
<i>Condylactis gigantea</i>	18300	+	0	9400
<i>Epiactis prolifera</i> (эпиактин В)	19500	+	0	326000
<i>Tealia lofotensis</i>	10000	+	0	≥5000
<i>Anthopleura xanthogrammica</i>	10000	+	0	250
<i>Metridium senile</i>	80000	0	+	1580

Рассмотренные нейротоксические и цитотоксические свойства токсинов актиний отнюдь не исчерпывают многообразных сторон их физиологического действия. К концу прошлого века кроме токсических полипептидов у актиний были обнаружены фосфолипаза А<sub>2</sub> (*Aiptaisia*), полипептиды, обладающие антигистаминным действием (*Tealia felina*), антикоагулянты (*Rhodactis showesi*). При выделении токсинов из водных экстрактов актинии *Anemonia sulcata* были обнаружены полипептиды, ингибирующие трипсин, хомотрипсин, плазмин и калликреин. Позже был выделен ряд основных ингибиторов сериновых протеиназ с M<sub>r</sub> 6000–7000 Да из других видов актиний.

**Современный этап в изучении БАВ актиний.** В настоящее время наблюдается значительный прогресс в изучении токсинов и БАВ, содержащихся в стрекательных клетках актиний, обусловленный, в первую очередь, широким внедрением методов молекулярной биологии и геной инженерии<sup>38</sup>. По современным представлениям морские актинии – богатый источник биологически активных соединений белковой природы: нейро- и цитотоксинов (цитолизин), ферментов и ингибиторов протеиназ. Нейротоксины актиний – полипептиды с небольшими молекулярными массами от 3000 до 6000 Да, тогда как для цитолизин молекулярная масса составляет 17000–20000 Да.

**Цитолитические компоненты** яда анемон – цитолизины, представляющие собой неоднородную группу мембраноактивных молекул. Первая группа объединяет полипептидные цитолизины с молекулярной массой 5–8 кДа, проявляющие порообразующую и антигистаминную активность. Ко второй группе относятся многочисленные актинопорины – белки с молекулярной массой около 20 кДа, формирующие поры в клеточных мембранах. В третью группу (белки с M<sub>r</sub> 30–40 кДа) входят пороформирующие белки и фосфолипазы А<sub>2</sub>. Представителем по-

<sup>38</sup> В нашей стране передовые позиции в изучении БАВ анемон занимают Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН и Тихоокеанский институт биорганической химии ДВО РАН.

следней группы является уже упоминавшийся холестерин-ингибируемый цитолизин – метридилизин с молекулярной массой около 80 кДа.

Помимо цитолитических и токсичных компонентов, в анемонах обнаружены полипептидные компоненты с обезболивающим действием, например *селективные блокаторы протон-чувствительных каналов* (ASIC3) и *модуляторы активности ваниллоидного рецептора* TRPV1, которые привлекли к себе внимание широкого круга исследователей.

**Селективные блокаторы протон-чувствительных каналов.** Из нематоцитов актинии *Urticina grebelnyi* в результате механической стимуляции их стрекательных клеток был получен яд, из которого выделен пептид Ugr 9-1, вызывающий 100%-ное ингибирование быстрой компоненты, а также неполное подавление медленной компоненты токов через протонактивируемые ASIC3 каналы.

Напомним, что протон-активируемые ионные каналы (*acid sensitive ion channels* – ASICs) впервые были обнаружены в сенсорных нейронах. Семейство ASIC каналов включает 6 разновидностей: ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b, ASIC3, ASIC4. Протон-активируемые каналы, по-видимому, являются тетрамерами, субъединица канала состоит из двух трансмембранных доменов и большой внеклеточной петли. Канал активируется при снижении внеклеточного pH с 7.4 до 6.9 и ниже. Канал типа ASIC1 имеет проводимость ~ 14 пСм, проницаем для ионов Na<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> и блокируется амилоридом в концентрациях от 0.1 до 1 мМ. Считается, что основная функция ASICs – восприятие боли, вызванной закислением. Некоторые пептиды, а также арахидоновая кислота увеличивают активность ASIC. Протон-активируемые каналы с различной чувствительностью к pH и кинетикой были обнаружены в сенсорных нейронах, а также в нейронах ЦНС, олигодендроцитах.

Пептид Ugr 9-1 состоит из 29 аминокислотных остатков:



Кроме того, разработан способ получения рекомбинантного пептида<sup>39</sup> Ugr 9-1 в бактериальной системе экспрессии. Методами ЯМР установлена уникальная пространственная структура рекомбинантного Ugr 9-1, представляющая собой «уплощенную» β-шпильку с пятью β-поворотами, стабилизированную 2 дисульфидными и 8 водородными связями. Пептид Ugr 9-1 в эксперименте оказывает обезболивающее (анальгетические) действие на модели воспалительных реакций. Известно, что в этом случае вклад в восприятие боли вносят протон-чувствительные ASIC3 каналы. Эксперименты показали, что пептид Ugr 9-1 в дозах 0.1 и 0.5 мг/кг в значительной мере ослабляет тепловую гиперчувствительность, вызванную введением воспалительного агента, а также снижает ответ более чем на 40% в тесте кислотной стимуляции боли. В то же время известный анальгетик морфин в этих опытах оказывал обезболивающее действие в дозах на порядок больших: 1–5 мг/кг. Таким образом, пептид Ugr 9-1 обладает обезболивающим эффектом при физиологически допустимых концентрациях, значения которых на порядок меньше, чем для известных обезболивающих препаратов, применяемых в медицинской практике.

<sup>39</sup> Рекомбинантные белки – это белки, ДНК которых была создана искусственно. ДНК из двух или более источников включают в одну рекомбинантную молекулу.



Рис. 3.20. Актиния *Heteractis crispa* (Wikipedia Commons)

**Модулятор болевого ваниллоидного рецептора.** Впервые из анемон *Heteractis crispa* выделен модулятор болевого ваниллоидного рецептора TRPV1, проявляющий по отношению к этому рецептору пролонгированный ингибирующий эффект.

Как известно, температурная и болевая чувствительность связана с деятельностью ваниллоидных рецепторов, обозначаемых аббревиатурой TRPV (*transient receptor potential vanilloid*). В 2005 году было об-

наружено, что от них зависит «правильное» ощущение температуры; мыши, у которых эти рецепторы были выключены, неадекватно реагировали на тепло. TRPV отвечают за сопряжение ощущения температуры с ощущением боли: без них нельзя отличить «тёплое» от «горячего» и от «очень горячего».

Название рецепторов связано с капсаицином – жгучим природным соединением, выделяемым из многих видов красных перцев рода *Capsicum*, за которыми в Центральной Америке сохранилось ацтекское название чили. С химической точки зрения – это производное ваниллинамида (8-метил-N-ваниллил-6-ноненамид) с молекулярной массой 305.42. Нейрофармакологическое исследование капсаицина продолжается почти 50 лет с тех пор, как венгерский физиолог Н. Янчо (N. Jancso) выяснил, что среди раздражителей, действующих на первичные афференты, только капсаицин и родственные ему ваниллоиды способны кроме острого возбуждения вызвать длительную рефрактерность (десенситизацию). Ключевым направлением в местном лечении хронических дисестезических невропатических болевых синдромов (жгучих, стреляющих болей, парестезии, аллодинии) является десенситизация ваниллоидных рецепторов, играющих ключевую роль в развитии периферической сенситизации терминалей ноцицепторов (то есть снижение уровня деполяризации мембран аксонов, необходимого для генерации потенциала действия). Более 150 лет применяются препараты красного жгучего перца, механизм действия которых заключается в селективной стимуляции немиелинизированных C-волокон, вызывающей высвобождение субстанции P и, возможно, других нейротрансмиттеров из терминалей. Последовательное истощение запасов субстанции P приводит к уменьшению ноцицептивной афферентации в центральную нервную систему и десенситизации ваниллоидных рецепторов. Местное применение капсаицина (алкалоида жгучего перца) в виде кожных мазей и кремов оказалось эффективным в лечении поверхностных жгучих болей и аллодинии, не вызывая при этом серьезных побочных эффектов при таких патологиях, как диабетическая полиневропатия, постгерпетическая невралгия, болевые дистальные полиневропатии, при послеоперационных невропатических болевых синдромах. Однако некоторые пациенты были вынуждены прервать терапию в самом начале из-за того, что не могли переносить усиление жжения, которое обычно возникает в первую неделю лечения, а затем регрессирует. Для улучшения переносимости терапии капсаицином в состав крема рекомендуют добавлять тринитрат глицерина – это

предотвращает возникновение жжения и потенцирует анальгетический эффект капсаицина.

Аминокислотная последовательность и пространственная структура ингибитора из актинии *Heteractis crispa* оказались высокоомологичными со структурами ингибиторов сериновых протеиназ из данного вида и из других видов актиний. Анальгетическое действие ингибитора рецептора TRPV1 высокоспецифично, что связано с его высокой аффинностью к TRPV1, а высокая стабильность в организме обусловлена протеиназо-ингибирующей активностью. Впервые показано, что исследуемые ингибиторы актинии *H. crispa* являются полифункциональными полипептидами. Построены структурные модели комплексов полипептидов комбинаторной библиотеки *H. crispa* с рецептором TRPV1. Показано, что модулирующее действие полипептидов на функцию TRPV1 может быть обусловлено увеличением времени релаксации канала в связанном состоянии.

**Нейротоксины.** Стрекательные клетки актинии *Heteractis crispa* продуцируют также нейротоксины нового структурного типа 2, так называемые длинные анемотоксины (RTX-III и RTX-IV). Токсины типа 2 характерны для представителей сем. Stichodactylidae, тогда как токсины типа 1 продуцируются актиниями сем. Actiniidae. Токсины обоих типов содержат 46–49 а.о. и имеют три дисульфидных мостика, локализация которых впервые определена для RTX-III. В пределах одного типа анемотоксинов наблюдается высокая степень структурной гомологии (до 98%), тогда как между полипептидами разных типов она не превышает 40%. Характерной особенностью токсинов 2-го типа является отсутствие одного остатка на N-конце последовательности и наличие 3–4 основных остатков на C-конце. В последовательностях 2-го типа содержится гораздо больше заряженных и ароматических остатков. Несмотря на значительные различия, идентичное расположение S–S связей и наличие консервативных остатков у обоих типов позволяет предположить, что они имеют общий предковый ген и значительно дивергировали в ходе эволюции.

Однако разделение длинных анемотоксинов на два структурных типа не позволило объяснить различия в их фармакологических свойствах.

Систематическое исследование структурно-функциональных взаимоотношений нейротоксинов типа 2 на примере наиболее токсичного полипептида RTX-III позволило сделать вывод об отсутствии в последовательности RTX-III абсолютно важного для его функциональной активности остатка, что опровергло существовавшую концепцию «активного центра» (с остатком Arg13 в качестве центра связывания с Na<sup>+</sup>-каналом). Не считая эффекта от разрушения S–S связей, максимальное падение активности (в 12 раз) происходило лишь в результате модификации N-концевой альфа-аминогруппы, в то время как модификация других остатков влияла на токсичность в значительно меньшей степени и не сопровождалась изменением конформации молекулы. Наличие эффекта от модификации заряженных остатков позволило сделать вывод, что взаимодействие RTX-III с Na<sup>+</sup>-каналом является, с одной стороны, электростатическим, а с другой – многоточечным, т.к. после блокирования одного-двух функционально важных остатков остальные, оставшиеся свободными, продолжают выполнять свою функциональную роль. В результате электрофизиологических исследований было показано, что RTX-III взаимодействует с участком наружной поверхности канала. Эта поверхность не принадлежит воротному устройству канала, которое находится во внутриклеточном сегменте и отвечает за инактивацию. Оказываемый эффект замедления кинетики инактивации канала осуществляется посредством

аллостерических взаимодействий токсина с каналом с образованием стабилизирующих гидрофобных контактов, на что указывает наличие на поверхности молекулы RTX-III обширной гидрофобной области.

**Актинопорины.** Морские актинии продуцируют яд, в состав которого входят пороформирующие цитотоксины, называемые актинопоринами. Актинопорины связываются преимущественно с мембранами, содержащими сфингомиелин, и образуют катион-селективные поры. Актинопорины высокотоксичны для рыб и ракообразных. Они играют основную роль в защите актиний от нападения и в захвате жертв, которыми они питаются. У позвоночных животных эти токсины вызывают лизис эритроцитов, отек легких, сердечные приступы. Актинопорины являются одной из наиболее широко исследуемых групп мембраноактивных полипептидов, продуцируемых актиниями, ядовитыми морскими кишечнорастворимыми. В настоящее время эти полипептиды относят к семейству  $\alpha$ -пороформирующих токсинов ( $\alpha$ -ПФТ), их действие связано с образованием в мембранах пор (диаметром 1–2 нм), проницаемых для катионов и небольших молекул. Пространственная структура актинопорина позволяет им находиться как в водорастворимом состоянии, так и в мембраносвязанном (рис. 3.21), причем переход в последнее обусловлен конформационными перестройками молекулы при ее включении в мембрану. В настоящее время  $\alpha$ -ПФТ используют в качестве инструментов исследования структурной организации и механизмов функционирования биологических и модельных мембран. Разнообразие проявляемых актинопоринами видов биологической активности (кардиостимулирующая, антиопухолевая, антипаразитарная) дает возможность конструировать на основе их структуры высокоспецифичные фармакологические препараты направленного действия.

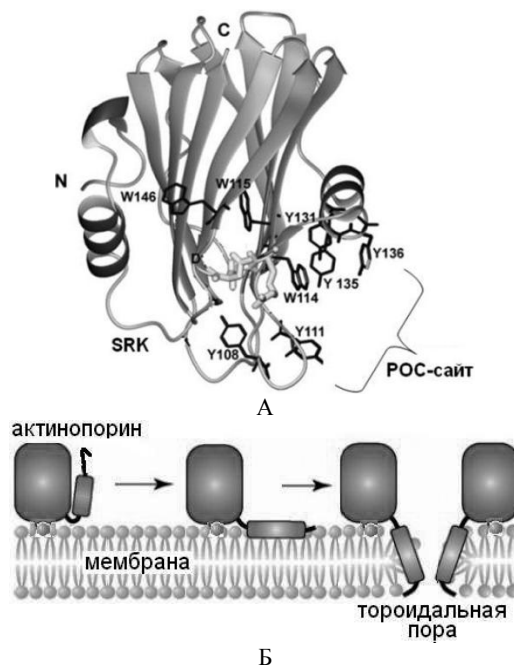


Рис. 3.21. А – 3D-модель актинопорина Nct-S6 из *Heteractis crispa*; Б – схематичная модель порообразования (Меньшов и др., 2011)

Проведено исследование механизма действия актинопоринов на биологических и модельных мембранах (эритроцитах, яйцеклетках морского ежа, липосомах, бислойных липидных мембранах). Показано, что формируемые ими в мембранах каналы потенциал-зависимы и селективны для катионов. Также было установлено, что для необратимого связывания с мембраной помимо сфингомиелина необходим холестерин, т.к. именно эти два соединения образуют в биологических и модельных мембранах липидные микродомены (рафты), которые, очевидно, являются местом связывания актинопорина с мембраной. При помощи двух независимых методов – точечной фиксации потенциала на изолированном фрагменте эритроцита кролика и дифференциальной сканирующей микрокалориметрии теней эритроцитов человека – доказан общий для модельных и биологических мембран механизм литического действия цитолизина актиний и связывания цитолизина с белками цитоскелета эритроцитов. Установлено, что специфическое связывание цитолизина со сфингомиелином происходит за счет образования неполярных гидрофобных связей и приводит к последующему формированию в липидном матриксе пор диаметром 6–10 Å.

Из разных видов актиний (*H. crista*, *Oulactis (Anthopleura) orientalis*, *Metridium senile*, *Cribrinopsis similis*) выделены низкомолекулярные (5 и 6 кДа) и высокомолекулярные (20 кДа) цитолизины (актинопорины).

Приведем некоторые примеры. Установлено, что актинопорин RTX-A из анемона *Radianthus macrodactylus* оказывает высокую канцерпревентивную активность по отношению к мышинным эпителиальным клеткам JB6P+Cl41, трансформированным в раковые. В результате исследования мембранотропного действия актинопоринов на биологических моделях, развивающихся эмбрионах и неоплодотворенных яйцеклетках морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* было установлено, что помимо белок-липидных взаимодействий актинопорины участвуют в белок-белковых, что может объяснять их фармакологическую активность по отношению к опухолевым, паразитарным и другим видам клеток-мишеней. Эти данные явились предпосылкой к дальнейшему исследованию актинопоринов и получению их рекомбинантных форм, а также к изучению взаимодействий актинопоринов с их возможными мембранными рецепторами, интегринами на молекулярном уровне. С использованием методов молекулярной биологии получен рекомбинантный актинопорин RTX-S3, обладающий гемолитической активностью, идентичной нативному актинопорину RTX-SII.

Актиния *Actinia equina* вырабатывает эквинатоксин-II (Eqт-II), а *Stichodactyla helianthus* – стихолизин-II (St-II). Оба токсина имеют молекулярную массу около 20 кДа и свернуты в β-сэндвич, который окружен с двух сторон α-спиралями. Токсины связываются с липидным бислоем посредством кластера ароматических аминокислот, локализованных в петле на верхушке β-сэндвича и в С-концевой α-спирали. Амфифильная N-концевая α-спираль из 30 аминокислотных остатков, которая изначально располагается параллельно мембране, затем, не нарушая структуру β-сэндвича, встраивается в мембрану клеток и уже располагается перпендикулярно мембране. В конце этого процесса из спиралей трех или четырех мономеров формируется тороидальная трансмембранная пора.





Рис. 3.22. Зоантарии (Wikipedia Commons)

### 3.3.3 Корковые кораллы (Zoantharia)

Зоантарии – своеобразная группа кораллов, напоминающих своим внешним видом мелких актиний (рис. 3.22). Они ведут как одиночный, так и колониальный образ жизни. Не имея собственного скелета, организмы способны укреплять свою кутикулу всевозможными мелкими чужеродными предметами: песчинками, иглами губок, раковинами фораминифер и т.д. Зоантарии ведут донный образ жизни, часто обрастая колонии других

беспозвоночных (губок, мшанок, медрепоровых кораллов). В тканях мелководных зоантарий могут поселиться зеленые симбиотические водоросли *Zooxanthellae*. *Palythoa* sp., один из представителей этих кишечнополостных, является сожителем обитающей в японских водах горгонарии *Corallium inutile*. Коралл-хозяин служит для *Palythoa* не только субстратом для прикрепления и отдаления от грунта, но, что гораздо любопытнее, и поставщиком материала для строительства внешнего скелета: *Palythoa* инкрустирует поверхность своей колонии известковыми склеритами горгонарии. Другой вид зоантарий, распространенный в Адриатическом море, – *Parazoanthus axinellae* – сожитель двух видов губок из рода *Axinella*, хотя, как исключение, поселяющийся и на некоторых других губках.

**Химические свойства и механизм действия.** Токсические свойства зоантарий *Palythoa* были издавна известны аборигенам о. Таити и Гавайских островов, которые использовали их для приготовления отравленного оружия. Места обитания этих кораллов держались в секрете. Тем не менее группе Шойера из Гавайского института морской биологии удалось выделить из зоантарий *Palythoa toxica* высокотоксическое соединение, названное *палитоксин*. Японские исследователи, независимо изучая токсичность рыб *Alutera scripta*, обнаружили в ее кишечнике зоантарии *P. tuberculosa*, из которых было выделено токсическое вещество *палитоатоксин*, как оказалось впоследствии, идентичный палитоксину. Палитоксин содержится также в зоантариях Карибского моря *P. caribacorum*, *P. mammillosa*. Это аморфное гигроскопичное бесцветное вещество, ограниченно растворимое в ДМСО, пиридине и воде, плохо – в спиртах, нерастворимое в ацетоне, эфире; разлагается при  $\sim 300^{\circ}\text{C}$ ; теряет активность в сильно кислых и щелочных средах.

Токсичность палитоксина чрезвычайно высока, она варьирует не только от колонии к колонии, но и у разных особей одной колонии. Оказалось, что токсичными являются богатые зрелыми яйцами женские особи зоантарий, причем максимум токсичности падает на период с мая по сентябрь. Однако в последнее время появилось сообщение, что палитоксин продуцируется вирусом, находящимся в симбиозе с зоантариями. Из водных экстрактов актинии *H. crispa* выделен палитоксин, ранее обнаруженный только в зоантариях, что косвенно подтверждает гипотезу о его синтезе симбионтными микроорганизмами.

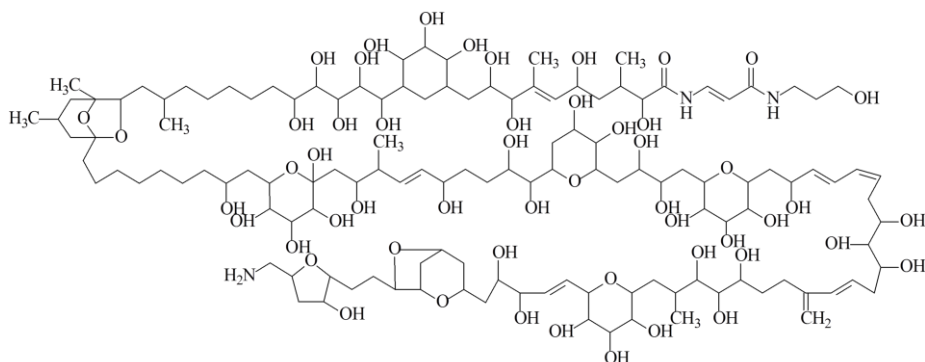


Рис. 3.23. Структура палитоксина (Wikipedia Commons)

Палитоксин – модифицированная жирная кислота с концевой аминогруппой, его молекулярная формула  $C_{129}H_{223}N_3O_{54}$ , молекулярная масса 2700 (рис. 3.23).

Палитоксин высокотоксичен для теплокровных:  $DL_{50}$  для мышей при внутривенном введении составляет всего 0.53 мкг/кг; для морских свинок, крыс, обезьян  $DL_{50} - (0.8-1.1) \times 10^{-4}$  мг/кг, в/в; для кроликов –  $0.2 \times 10^{-4}$  мг/кг, в/в; для человека, видимо, смертельны дозы  $(0.1-0.2) \times 10^{-4}$  мг/кг, в/в. Обладает кардиотоксическим действием. Гибель животных наблюдается через 5–30 мин в результате сужения коронарных сосудов и остановки дыхания. Вероятно, механизм действия обусловлен его прочным связыванием с  $Na^+, K^+$ -АТФазами клеток нервной ткани, сердца, эритроцитов. Образующиеся в местах связывания в цитоплазматических мембранах поры приводят к потере клетками ионов  $K^+$  и  $Ca^{2+}$  и их гибели. Симптомы поражения частично снимаются введением животным папаверина, аденозина и кортикостероидов (все вызывают накопление в клетках цикло-АМФ).

При внутрижелудочном введении токсичность палитоксина заметно падает; внутривенное введение кошкам в дозе 0.2 мкг/кг вызывает начальное резкое повышение АД с последующей необратимой гипертензией. Искусственное дыхание не спасает животных. Сублетальные дозы палитоксина увеличивают уровень кортизола в крови, который, видимо, защищает животных при последующих попаданиях палитоксина, поскольку предварительное введение кортикостероидов снижает его токсический эффект.

Он оказывает гемолизирующее действие на эритроциты, однако действие развивается с большим латентным периодом 1–2 ч. Гемолитическая активность достигает оптимума в интервале температур 25–42°C и при pH 7–8. Кроме того, цитолитическое действие палитоксина проявляется и в высвобождении гистамина из тучных клеток.

Палитоксин – один из самых сильных деполяризующих агентов. Он вызывает сокращение гладкой мускулатуры в концентрации  $10^{-10}$  г/мл (рис. 3.24).

В безкальциевой среде его действие блокируется, сходный эффект вызывает и применение блокатора кальциевых каналов Д-600. Защитное действие кортикостероидов и кальций-зависимый эффект палитоксина создают основу для выработки рациональных мер помощи при отравлении этим токсином.

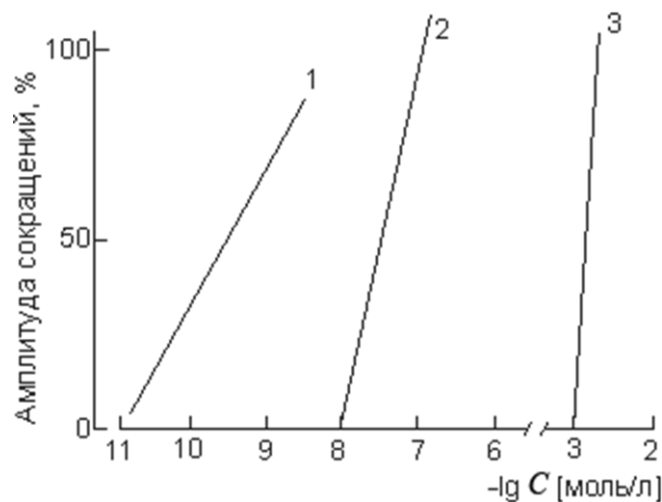


Рис. 3.24. Влияние палитоксина (1) из зоантарий *Palythoa tuberculosa*, норадrenalина 2) и калия (3) на сокращение изолированной артерии кролика (Ito et al., 1977)

### 3.3.4. Мадрепоровые кораллы (*Madreporaria*)

Мадрепоровые кораллы характеризуются мощным наружным известковым скелетом и хорошо известны как основные рифообразующие организмы (рис. 3.25). Контакты с некоторыми из них, например *Acropora*, *Goniopora*, могут вызывать довольно ощутимые «ожоги».

**Химический состав и механизм действия.** Из *Goniopora* sp. выделен полипептидный токсин, состоящий из 105 аминокислотных остатков, с молекулярной массой ~12000. Из 1 кг кораллов удалось получить 30 мг токсина, токсичность которого для мышей ( $DL_{50}$ ) составила 0.3 мкг/г. У отравленных животных развивается ригидность произвольных мышц, расстройство дыхания. Смерть наступает в интервале от 5 мин до 10 ч. В экстракте *Goniopora* кроме нейротоксина содержится и гемолитический компонент с молекулярной массой ~30000.

Нейротоксин *Goniopora* усиливает сокращение гладких мышц в ответ на электрическую стимуляцию, а также вызывает положительный инотропный эффект на изолированных папиллярных мышцах сердца морской свинки. Токсин не влияет на электрические характеристики постсинаптических структур, но увеличивает длительность ПД в миокарде и гигантском аксоне краба. В концентрации 25–50 нмоль/л он усиливает расслабление изолированного нервно-мышечного препарата кишки морской свинки и увеличивает амплитуду в



Рис. 3.25. Мадрепоровые кораллы (Wikipedia Commons)

них ТПСР при интрамуральном раздражении. Этот эффект наблюдается в условиях блокады холинергических систем атропином и адренергических систем гуанетидином и, вероятно, может быть связан с пуринергическими системами. Это предположение подтверждается также усилением высвобождения <sup>3</sup>H-аденозина из препарата под действием токсина гониопоры. Очевидно, токсин оказывает прямое действие на нехолинергические и неадренергические нейроны (возможно пуринергические), усиливая высвобождение из них медиатора (АТФ или родственных нуклеотидов). Возбуждающее действие токсина гониопоры может быть связано и с увеличением Na<sup>+</sup>-проводимости, поскольку ТТХ блокирует его эффекты.

\* \* \*

У желудочно-кишечных впервые встречаются яды белковой природы, среди которых имеются как токсические неэнзиматические полипептиды, так и ферменты с различной субстратной специфичностью. Наличие белковых ядов у желудочно-кишечных хорошо коррелирует с особенностями строения ядовитого аппарата (стрекательные клетки), обеспечивающего парентеральное введение токсинов в организм жертвы. Среди токсинов имеются как цито-, так и нейротоксины, причем последние характеризуются высокой специфичностью взаимодействия с ионными каналами, например у актиний. Отравления, вызываемые желудочно-кишечными, – серьезная медицинская проблема в некоторых регионах, и поэтому изучение их яда имеет важное теоретическое и практическое значение.

Сокращение запасов традиционных объектов морского промысла и необходимость увеличения производства пищевой продукции из гидробионтов обуславливают поиск и вовлечение в промышленную эксплуатацию нетрадиционных видов биоресурсов Мирового океана. Такими объектами являются тихоокеанские сцифоидные медузы, имеющие перспективное промысловое значение. Наиболее ценными считаются медузы *Rhopilema asamushi* и *Aurelia aurita*. Промысел и заготовка медуз в Приморье были наиболее развиты до 1937 года. В настоящее время широкомасштабный промысел и экспорт пищевой продукции из медуз ведут около 40 лет страны Юго-Восточной Азии, ежегодный мировой вылов составляет 300–320 тыс. тонн. Япония импортирует до 10 тыс. тонн полусухой медузы на 25 млн долларов США ежегодно. В кулинарии и медицине Китая, Японии и других стран блюда из медуз используют более 17-ти веков. Их рекомендуют при трахеите, повышенном артериальном давлении, для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата. Биомасса сцифоидных медуз в морях Дальневосточного бассейна по оценке специалистов (в зависимости от сезонных колебаний) составляет от 1 до 3 млн тонн. Предприятиями рыбной промышленности Дальнего Востока разрабатываются орудия и технологии лова, однако сведения по биотехнологии пищевых продуктов из медуз и оценке их качества имеют до сих пор фрагментарный характер.

В то же время медузы способны уничтожить целые экосистемы. Именно такая катастрофа произошла, когда медузы, принадлежащие к виду мнемипсис (*Mnemiopsis*), совершили нашествие на Черное море. Их занесли американские суда вместе с водой, закаченной в них вместо доставленного груза. Медузы захватили Черное море, подкосив рыболовство Грузии, Болгарии и Румынии, нанеся удар по анчоусам и осетровым. С ростом количества медуз в Черном море исчезли эти ценные рыбы. Однако одна из причин – интенсивная ловля анчоусов, хищ-

ников медуз. Аналогичное положение наблюдается и у берегов Южной Африки. Против мнемипсис выпускают медуз берос, имеющих нечто наподобие зубов. Это помогает им поедать мнемипсис.

Проблемой является попадание большого количества медуз в различные технические устройства. Так, в 2006 г. американский авианосец «Рональд Рейган» стал «жертвой» тысяч медуз, которых засосало в охлаждающие системы ядерных двигателей авианосца. Нашествию медуз постоянно подвергаются, начиная с 1960 года, японские атомные электростанции. В декабре 1999 года 40 миллионов жителей Филиппин неожиданно лишились света. Подлинными виновниками оказались медузы, которые забили охлаждающую систему важнейших электростанций и вывели их из строя. Спасатели выгребли огромное количество медуз, для вывоза которых потребовались 500 гигантских грузовиков. Нашествие медуз приняло всепланетный характер – от Арктики до Антарктики. Так, у берегов Южной Африки на водном пространстве в 30 тысяч квадратных миль когда-то шло интенсивное рыболовство. Ежегодно добывалось около миллиона тонн рыбы. Но вот в 2006 году на 3.9 миллиона тонн рыбной биомассы уже приходилось 13 миллионов тонн биомассы медуз. Они, помимо всего прочего, блокируют вакуумные помпы, которые используют для добычи бриллиантов с морского дна.

Почему медузы захватывают нашу планету? Основные причины связаны с особенностями их биологии. Во-первых, низкий метаболический уровень позволяет им существовать в водах с незначительным содержанием кислорода. Во-вторых, медузы характеризуются рекордными показателями размножения, которое называют «самооплодотворением гермафродитов». В-третьих, они фантастически прожорливы. Так, мнемипсис съедает пищу, которая весит в десять раз больше его тела, и увеличивается в размере каждый день. Медузы вкладывают в свой рост больше энергии, чем более сложные существа, с которыми они соперничают. Наконец, в-четвертых, они практически бессмертны. В «тяжелые времена» они просто уменьшаются в размере, но их тела не теряют своих пропорций, как это происходит с голодающими рыбами или людьми. Если пища вновь появляется, медузы вновь начинают расти. Некоторые медузы живут до десяти лет. А вот в стадии полипа они практически бессмертны.

## ЧЕРВИ (Vermes)

Чем выше образ твой был вознесен во мне,  
Чем ярче ты жила как светлая мечта,  
Тем ниже ты теперь в холодной глубине,  
Где рой морских червей, где сон и темнота...

*К. Бальмонт*



#### 4.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

У червей<sup>40</sup>, как и у других беспозвоночных животных, в процессе эволюции выработались средства химической защиты от врагов, а также специальные структуры, обеспечивающие активное введение ядовитых веществ в тело жертвы. Спектр этих химических веществ достаточно широк. Так, при раздражении плоские черви *Cycloporus popillosus* и *Stylostomum ellipse* с помощью специальных клеток эпидермиса выделяют очень кислый секрет с pH = 1. *Бонеллин* и *ангидробонеллин* – пигменты, родственные хлорофиллу и регулирующие половой диморфизм у эхиурид *Bonellia* sp., в разведении 1:4000 токсичны для простейших, дафний, нематод. Возможно, что это явление носит приспособительный характер и способно защитить самку от проникновения паразитов. У пиявок хорошо известен сильный белковый антикоагулянт *гирудин*. Производные бромфенолов, выделенные из полихет *Thelepus setosus*, обладают антибиотической активностью. У некоторых червей и морских членистоногих обнаружены *гомарин* (N-метилпиколиновая кислота) и *тригонеллин* (N-метилникотиновая кислота), обладающие кардиотропным и нейротропным действием. Наконец, у немертин найдены нейротоксины и цитотоксины, избирательно действующие на клеточные мембраны.

Физиологически активные вещества, вырабатываемые различными червями, интенсивно изучаются. Здесь будут рассмотрены наиболее изученные токсины, выделенные, в основном, из немертин и некоторых представителей кольчатых червей.

#### 4.2. ЯД НЕМЕРТИН (Nemertini)

Немертины (Nemertea, или Nemertini) – тип беспозвоночных, насчитывающий на сегодняшний день не менее 1275 описанных видов червей (Чернышев, 2011), которые обитают преимущественно в морях, а также встречаются в пресных водоемах, в супралиторали и на суше, являются симбионтами различных морских беспозвоночных. Первое формальное описание относится к 1770 году, когда норвежский натуралист и епископ Йохан Эрнст Гуннерус описал вид *Ascaris longissima* (ныне *Lineus longissimus*). Название «немертины» происходит от имени средиземноморской нимфы nereиды Немертеи (Немертес), дочери бога водяной стихии Нерее и океаниды – нимфы Дориды.

В настоящее время проблема происхождения немертин остается столь же нерешенной, как и 100 лет назад. Исследования в этом направлении представляются чрезвычайно актуальными, поскольку связаны с решением таких фундаментальных проблем, как происхождение низших Trochozoa и эволюционные преобразования в пределах типа Nemertea (Чернышев, 2011).

Немертины – черви, обитающие преимущественно в морях, лишь редкие виды живут в опресненных водах. Немертины – хищники, питающиеся аннелидами, ракообразными, моллюсками и даже рыбой.

Как правило, немертины – лентовидные черви, выделяющие большое количество слизи, практически лишённые заметных наружных органов. От переднего конца вглубь тела уходит длинное впячивание, способное выворачиваться и служащее для

---

<sup>40</sup> Термин «черви» (лат. Vermes) – установленный Линнеем тип животного царства (расформирован зоологами в конце XVIII в.) не имеет классификационного значения и используется в целях удобства изложения материала. В современной классификации к червям относят три типа из подраздела Первичноротые (круглые, плоские и кольчатые черви).

захвата добычи, – хобот. Большинство видов – морские бентосные животные, но известно небольшое количество морских пелагических, пресноводных и даже живущих во влажных сухопутных местообитаниях. Подавляющее большинство – хищники, также есть падальщики; известны комменсалы мантийной полости моллюсков.

Типичная немертина по форме тела напоминает нить или ленту: вытянута в передне–заднем направлении, иногда несколько сплющена в спинно–брюшном. Длина тела у разных представителей варьирует от миллиметров до метров (до 54 м – рекорд длины у животных). Измерение линейных размеров немертины осложнено их способностью, подобно пиявкам, сокращая мышцы, значительно изменять свою длину и склонностью сворачиваться в спутанный клубок. При необходимости сделать промеры используют раствор хлорида магния, препятствующий работе мышц.

Тело немертин обычно разделено на два отдела – головной и туловищный. Граница проходит по шейной борозде. Головной отдел (или, если он не выражен, передний конец тела) несёт ротовое отверстие, отверстие хобота, фронтальные и церебральные органы и несколько глаз (рис. 4.1).

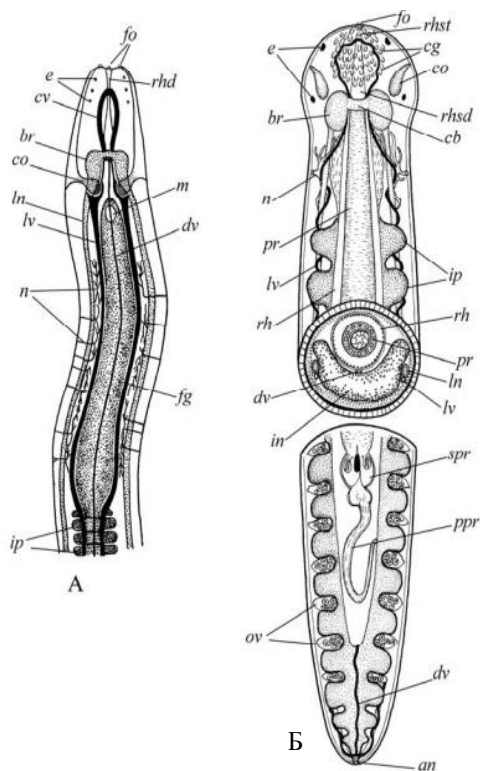


Рис. 4.1. Схема строения немертин: А – передняя часть тела *Poseidon viridis* (Иванов и др., 1981); Б – вооруженная немертина. Сокращения: an – анус, br – мозг, cb – комиссура мозга, cg – головная железа, co – церебральный орган, cv – головной сосуд, dv – спинной сосуд, e – глаза, fg – передняя кишка, fo – фронтальный орган, in – кишечник, ip – карманы кишечника, ln – боковой нерв, lv – боковой сосуд, m – рот, n – нефридии, ov – яичники, ppr – задний отдел хобота, pr – хобот, rh – ринхоцель, rhsd – ринхостомадеум, rhst – ринхостом, spr – стилетный отдел хобота (Чернышев, 2011)



Туловищный отдел практически лишён видимых наружных органов: по бокам тела открываются протоки протонефридиев и половых желёз, а на заднем конце тела расположено анальное отверстие.

Покровы немертин выделяют много слизи, которая защищает их от хищников. Многие виды имеют яркую апосематическую окраску, хотя существуют и неокрашенные немертины, через покровы которых хорошо видны внутренние органы.

Немертин принято делить на две большие группы – Aporla (невооруженные немертины) и Eporla (вооруженные немертины).

**Ядовитый аппарат.** Органами нападения и защиты у немертин служит хобот, эпителий которого способен к выделению ядовитого секрета. Хоботной аппарат немертин – специфическое для этого типа животных образование (рис. 4.2), которое отсутствует лишь у *Arhynchonemertes axi*. Этот аппарат состоит из ринходеума, ринхоцеля и хобота; последний через ринходеум и ринхопору выворачивается наружу и является органом нападения и защиты. У некоторых гоппонемертин (Eporla) – прежде всего наземных и полуназемных – хобот используется и для передвижения.

Невооруженные немертины захватывают и парализуют жертву при помощи хобота, который при выворачивании обвивает жертву винтовой спиралью и не дает ей вырваться. Железистый (или наружный) эпителий хобота покрывает наружную поверхность вывернутого хобота и состоит из железистых, а также сенсорных клеток. Последние представляют собой тактильные ресничные клетки. Среди желез особый интерес представляют клетки, содержащие псевдокниды. Псевдокниды по своему строению напоминают нематоцисты Cnidaria и, по видимому, служат для удержания жертвы и создают множественные микроскопические отверстия на ее поверхности, через которые затем проникают токсины, вырабатываемые эпителиальными железами. Предполагают, что эпителий с псевдокнидами должен располагаться внутри такой спирали, то есть непосредственно контактировать с телом жертвы. Чем больше площадь контакта, тем труднее жертве высвободиться и тем быстрее в нее проникают токсины.

Ринхоцель большинства немертин на поперечном сечении по форме приближается к кругу. У невооруженных немертин соотношение элементов билатеральной и радиальной симметрии разнообразно, хотя билатеральная обычно преобладает. У вооруженных немертин эволюционные преобразования переднего отдела хобота происходят на фоне радиальной многолучевой симметрии. Причины этого видятся прежде всего в формировании стилетного отдела хобота с вооружением. Основная функциональная задача хобота Eporla – полностью вывернуться и нанести укол жертве, от которого она быстро погибает. Захват и удержание жертвы при помощи хобота не имеет столь важного значения, как у Aporla. Вероятно, при таком функционировании отпадает необходимость в сохранении билатеральных паттернов хобота – за исключением среднего (стилетного) отдела, в котором сохраняется билатеральная симметрия из-за расположения базиса «сбоку» от извергательного канала.

Средний отдел хобота имеется у всех вооруженных немертин. Обычно средний отдел состоит из стилетной части и бульбуса (или баллона). В стилетной части находится вооружение, состоящее из базиса, одного (рис. 4.2) или многих центральных стилетов и карманов с запасными стилетами. Бульбус соединяется с передним отделом при помощи ductus ejaculatorius, который проходит непосредственно около базиса. Предполагается, что при помощи этого канала токсин по-

ступают из бульбуса к центральному стилету. Вооружение хобота состоит из трех основных компонентов: базиса, центрального стилета (или стилетов) и карманов с запасными стилетами. Среди вооруженных немертин вооружение полностью отсутствует лишь у рода *Malacobdella*. Вооружение частично редуцировано у симбиотических немертин из рода *Gononemertes*, а также у свободноживущей *Sacconemertella lutulenta*.

Принято различать полистилиферное и моностилиферное вооружение. В первом случае серповидный или уплощенно-удлиненный базис несет несколько короткоконических (возможно – немного уплощенных) стилетов. У моностилиферного вооружения базис варьирует от овального до цилиндрического и несет только один игловидный стилет. Поскольку стилетный отдел у ряда полистилиферных немертин развит слабее, чем у моностилиферных, полистилиферное вооружение обычно рассматривается как эволюционно примитивное. Полистилиферное вооружение при атаке совершает скребущие движения, проделывая в покровах жертвы разрез.

При таком движении положение стилетов вдоль плоскости базиса представляется наиболее эффективным (перпендикулярное расположение привело бы к утрате части стилетов). Однако при этом передние стилеты должны стачиваться. Очень большое число карманов с запасными стилетами (до 20) указывает, что процесс разрушения и замены стилетов происходит довольно быстро.

Моностилиферное вооружение устроено принципиально иначе: при атаке оно лишь немного выдвигается вперед, в результате чего единственный стилет наносит колотую рану.

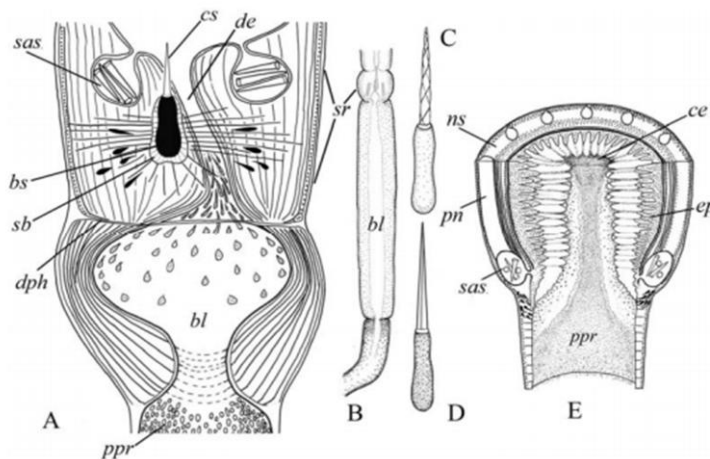


Рис. 4.2. Строение среднего отдела хобота и вооружения у Monostilifera: А – средний отдел *Tortus tokmakovae*; В, D – средний отдел и вооружение *Otythyphlonemertes nikolaii*; С – вооружение *O. valentinae*; Е – средний отдел *Korotkevitschia pelagica*. Сокращения: bl – бульбус, bs – базис, ce – скопления экстрацеллюлярного материала, cs – центральный стилет, de – ductus ejaculatorius, dph – диафрагма, ep – железистый эпителий, ns – невральная прослойка, pn – нервы хобота, ppr – задний отдел хобота, sas – карманы с запасными стилетами, sb – диафрагма базиса, sr – стилетный отдел (Чернышев, 2011)

#### 4.2.1. Вооруженные немертины (Euplra)

Первые сведения о токсинах немертин связаны с работами бельгийского фармаколога Бака, который в середине 30-х годов прошлого века установил холинергический эффект водного экстракта из гоппонермертины *Amphiporus lactifloreus* при действии на изолированную скелетную мышцу лягушки и шейные вегетативные ганглии кошки. Стабильность действующего вещества, названного амфипорином, в щелочной среде к органическим растворителям позволила Баку сделать вывод о никотиноподобном строении и действии амфипорина.

Дальнейшие исследования показали, что вооруженные гоппонемертины (Euplra) содержат алкалоиды – производные пиперидина, тогда как невооруженные гетеронемертины (Anopla) продуцируют, в основном, пептидные и белковые нейротоксины и цитотоксины (Kem et al., 2006).

Наиболее изученным токсином вооруженных немертин является *анабазеин* – 2-(3-пиридил)-3,4,5,6-тетрагидропиридин, выделенный Кемом и др. (1971) из гоппонемертины *Paranemertes peregrina*. Это крупная (>15 см) тихоокеанская немертина отличается своим независимым поведением: скользит во время отлива по илстой поверхности на виду у потенциальных хищников (чаек и др.) в поисках добычи – кольчатых червей. Из этанольного экстракта, полученного из нескольких тысяч немертин, было выделено свыше 1 грамма алкалоида, который был идентифицирован как анабазеин. Спустя 10 лет анабазеин был выделен из муравьев *Arphaenogaster*. Структура анабазеина была определена с помощью ЯМР- и масс-спектрометрии, а впоследствии подтверждена синтезом (рис. 4.3):

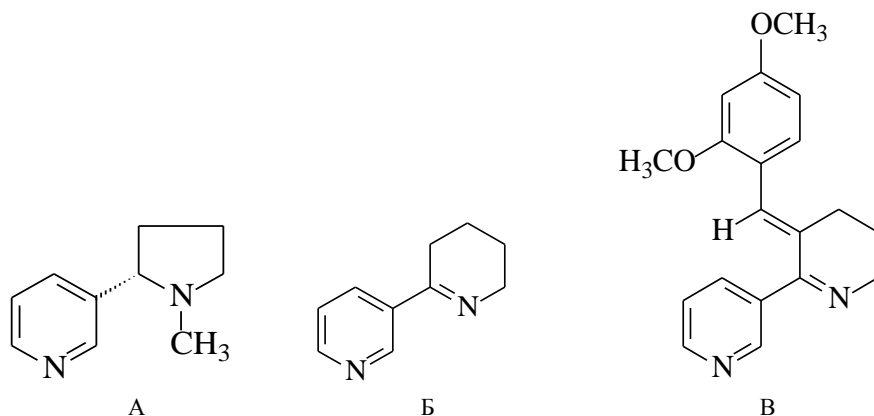


Рис. 4.3. Структура (S)-никотина (А), анабазеина (Б) и 2,4-диметоксибензилиден-производного анабазеина (DMXBA) (В)

Анабазеин структурно близок к анабазину (рис. 4.4)  $C_{10}H_{14}N_2$  – алкалоиду пиридинового ряда, содержащемуся в ежовнике безлистном (*Anabasis aphylla* L.), а также в табаке. Анабазин – агонист никотиновых ацetylхолиновых рецепторов (АХР), снижает влечение к курению. В больших дозах оказывает аналептическое действие, в том числе возбуждает дыхательный центр продолговатого мозга. В больших дозах он вызывает деполаризующий блок, что приводит к развитию

симптомов, сходных с никотиновым отравлением, и в тяжелых случаях – к смерти от асистолии. Считается, что в больших количествах он обладает тератогенным действием на свиней. При внутривенном введении  $DL_{50}$  анабазина составляет от 11 до 16 мг/кг для мышей, в зависимости от энантиомера. По фармакологическим свойствам близок к никотину (рис. 4.3), цитизину и лобелину. Анабазин, в отличие от анабазеина, имеет иминную связь в ненасыщенном пиридиновом кольце.

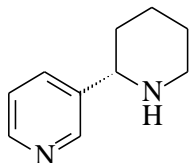


Рис. 4.4. Анабазин

Анабазеин обладает *никотиноподобным действием* и вызывает у крабов судороги с последующим параличом и смертью. При его прямом действии на нервы ходильной ноги краба наблюдается возникновение спонтанных потенциалов действия. Для обездвиживания относительно крупной полихеты *Amphitrita ornata* (масса 8–10 г) достаточно ввести 50–100 мкг природного или синтетического анабазеина.

**Ацетилхолиновый рецептор и токсины гоппонемертин.** Известно, что никотиновый ацетилхолиновый рецептор (Н-холинорецептор, nACh-receptor) – подвид ацетилхолиновых рецепторов, который обеспечивает передачу нервного импульса через синапсы и активируется никотином (кроме ацетилхолина). Этот рецептор найден в химических синапсах как в центральной, так и в периферической нервной системе, в нервно-мышечных синапсах, электрических органах некоторых скатов, а также в эпителиальных клетках многих видов животных. В физиологических условиях взаимодействие ацетилхолина (ACh) с рецептором активирует проницаемый для катионов канал, что приводит к деполяризации клеточной мембраны и генерации нервного импульса в нейроне или сокращению мышечного волокна (в случае нервно-мышечного синапса). Успехи в изучении Ах-рецепторов были обусловлены, в частности, их высокой концентрацией в электрических органах скатов *Torpedo californica* и *Torpedo marmorata*, а также обнаружением  $\alpha$ -бунгаротоксина<sup>41</sup> ( $\alpha$ BGT) – нейротоксического полипептида из яда змеи *Bungarus multicinctus* (крайт), который является необратимым лигандом и специфическим антагонистом ацетилхолина для никотиновых рецепторов в нервно-мышечных синапсах. Это послужило предпосылкой для выделения и детального исследования никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. Было доказано, что рецептор является гетероолигомерным комплексом, состоящим из четырех разных белковых субъединиц, которые были названы соответственно их молекулярной массе (в кДа):  $\alpha$  (40),  $\beta$  (50),  $\gamma$ , или  $\epsilon$  (60),  $\delta$  (65). При естественной экспрессии в клетке сначала возникают димерные комплексы  $\alpha$ - $\gamma$  и  $\alpha$ - $\delta$ , потом формируется тример  $\alpha$ - $\beta$ - $\delta$  и, наконец, после объединения димера и тримера в клеточную мембрану встраивается функциональный пентамер со стехиометрией  $\alpha_2\beta\gamma\delta$ .

В периферической нервной системе имеются АХР «мышечного типа», которые имеют стехиометрию  $\alpha_1\beta_1\delta\gamma$  и встречаются в эмбриональных тканях или

<sup>41</sup> Подробнее см. главу 17.

электрических органах Торпедо), либо АХР со стехиометрией  $\alpha_1\beta_1\delta\epsilon$ , характерной для взрослых, или ганглионарные АХР (например  $\alpha_3\beta_4$ ). В центральной нервной системе АХР бывают двух основных подклассов: рецепторы с высокой аффинностью к  $\alpha$ -бунгаротоксину ( $\alpha$ -ВТХ), но с низким сродством к агонисту никотину (например  $\alpha_7$ -рецепторы), и АХР, которые связывают никотин с высоким сродством, но обладают, напротив, низкой аффинностью к  $\alpha$ -ВТХ (например  $\alpha_4\beta_2$ ).

Как и никотин, анабазеин стимулирует в той или иной мере все АХР и, следовательно, мог бы быть отнесен к неселективным агонистам никотиновых АХР. Тем не менее, анабазеин преимущественно стимулирует те же АХР (например, в скелетных мышцах и мозге), которые имеют высокое сродство к  $\alpha$ -ВТХ, то есть подтип  $\alpha_7$ . В отличие от этого, никотин преимущественно и почти полностью стимулирует  $\alpha_4\beta_2$  (мозг) и  $\alpha_3\beta_4$  (преимущественно ганглионарные) рецепторы. Таким образом, анабазеин является полным агонистом  $\alpha_7$ -рецепторов, но обладает средней эффективностью к рецепторам подтипа  $\alpha_4\beta_2$ .

Количественное определение анабазеина основано на цветной реакции с *n*-диметиламинбензальдегидом. Используя этот метод, установили, что 30% всего анабазеина содержится в хоботе, причем 90% – в передней части. В поверхностных тканях токсина в 15 раз меньше, чем во внутренних органах. В хоботе содержится примерно 70-кратный запас анабазеина, необходимый для обездвиживания полихет на участке обитания немертены. По-видимому, он играет двойную роль: токсин, содержащийся в хоботе, предназначен для активной охоты, тогда как анабазеин эпидермиса служит для защиты.

Из другой гоппломертины *Amphiporus anguiatus* выделены еще два пиридиновых деривата: 2,3'-бипиридил и 3,2'-;3',2''-;4'',3'''-тетрапиридил, названный *немертилленом* (рис. 4.5):

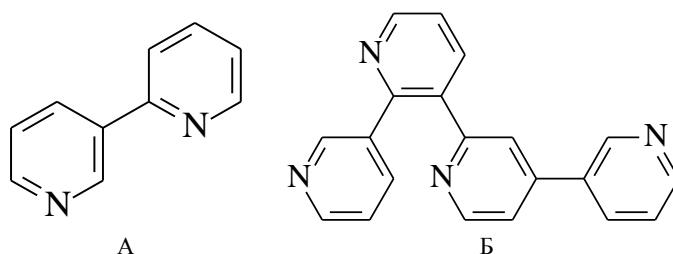


Рис. 4.5. А – 2,3'-бипиридил; Б – немертиллен

2,3'-Бипиридил обладает никотиноподобным действием и еще более активно, чем анабазеин, парализует ракообразных, но не влияет на млекопитающих. Токсичность немертиллена значительно ниже, хотя его содержание в немертине наибольшее. Так, выход токсинов из свежих немертин составил: немертиллена – 540 мкг/г; 2,3'-бипиридила – 120, метилбипиридина – 60 и анабазеина – 14 мкг/г.

Анабазеин оказывает действие на АХР и других беспозвоночных. Морские кольчатые черви, которые являются обычной добычей для *Paranemertes* sp., могут быть парализованы анабазеином так же, как ракообразные и насекомые. Холинэргические рецепторы никотина в основном находятся в центральных нейронах у членистоногих, но встречаются и в ганглионарных пейсмекерах сердечного ритма. Немертиллен, анабазеин и 2,3'-бипиридил стимулируют необычный рецептор в стоматогастральных мышцах ракообразных, который, по-видимому, является

хлорным каналом. Известны разнообразные пиридиновые соединения, включая анабазеин и 2,3'-бипиридил, способные стимулировать хеморецепторы сенсорных нейронов, находящиеся на поверхности ходильных ног раков и омаров и влияющие на пищевое поведение. Однако именно анабазеин и 2,3'-бипиридил наиболее активно стимулировали эти рецепторы у лангустов. Полагают, что алкалоиды немертин, воздействуя на эти хеморецепторы, могут оказывать репеллентное действие против некоторых хищников. Некоторые из этих соединений также способны ингибировать обрастание морскими желудями подводных частей судов и других сооружений и, таким образом, могут быть перспективны в качестве «добавки» в краски.

В то время как анабазеин является агонистом никотина в отношении большинства типов АХР, в настоящее время получены более 200 производных анабазеина, обладающих селективным взаимодействием с  $\alpha 7$ -типом рецепторов (рис. 4.6). Особый интерес представляют 3-арилиден-анабазеины, демонстрирующие перспективную терапевтическую активность. Было установлено, что они обладают нейропротекторным действием, а также улучшают когнитивные процессы.

В качестве примера приведем 3-(2,4-диметоксибензилиден)-анабазеин, DMXBA (рис. 4.3). Его фармацевтическое кодовое название GTS-21 отражает очередность его синтеза как 21-го соединения, полученного в рамках совместного научного проекта Университета Флориды (University of Florida) и японской фармацевтической компании Taiho Pharmaceuticals. DMXBA был первым агонистом никотина, селективно взаимодействующим с  $\alpha 7$ -типом АХР. Это соединение было также первым  $\alpha 7$ -агонистом, которое проходит клинические испытания как средство возможного лечения когнитивных нарушений при шизофрении, паркин-

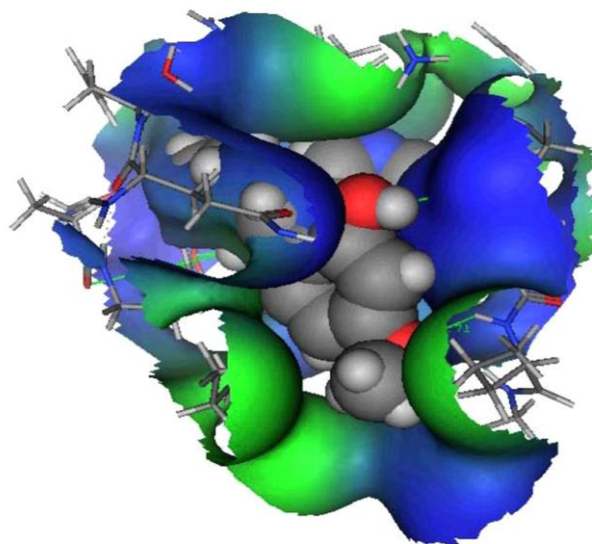


Рис. 4.6. Связывание протонированной формы DMXBA с  $\alpha 7$ -типом АХР. Зеленая и голубая области соответствуют гидрофобным и гидрофильным поверхностям. Атомы лиганда окрашены в соответствующие цвета: красный (кислород), серый (углерод), синий (азот) и светло-серый (водород) (Kem et al., 2006)

сонизме и болезни Альцгеймера. DMXBА является липофильным соединением, которое легко проходит через биологические мембраны, включая желудочно-кишечные стенки и гематоэнцефалический барьер, и достигает пиковых концентраций в крови и головном мозге в течение очень короткого времени. Следует отметить, что если в низких концентрациях DMXBА избирательно стимулирует  $\alpha 7$ -тип АХР, то в высоких он является антагонистом  $\alpha 4\beta 2$  (мозг) АХР.

Тем не менее, пристальный научный и клинический интерес к DMXBА обусловлен, в первую очередь, его избирательным стимулированием  $\alpha 7$ -типа АХР. Дело в том, что физиологические функции этого рецептора было очень трудно исследовать из-за быстро развивающегося снижения чувствительности при применении высоких концентраций агониста. Поэтому первоначально этот рецептор был позиционирован только как мишень  $\alpha$ -ВТХ, хотя позже обнаружился широкий спектр физиологических функций, в том числе способность стимулировать разнообразные системы вторичных мессенджеров.

Два десятилетия назад впервые появились сообщения о резком снижении числа АХР у пациентов с болезнями Альцгеймера и Паркинсона. Этот факт стимулировал значительный интерес к агонистам никотиновых рецепторов, которые могут избирательно стимулировать оставшиеся АХР мозга, участвующие в когнитивных и других критических психических функциях. Тем более, что к этому времени уже было ясно, что антагонисты являются малоэффективными терапевтическими средствами при лечении нейродегенерации и слабоумия, характерных для нашего времени. В этом плане DMXBА является фактически единственным препаратом, который легко попадает в мозг и действует как агонист  $\alpha 7$ -типа АХР. Его влияние на когнитивные функции было исследовано на различных млекопитающих, получен положительный результат. Хорошие терапевтические перспективы имеет использование свойств агонистов  $\alpha 7$ -типа АХР при остром воспалении или подавлении ангиогенеза (роста новых кровеносных сосудов).

#### 4.2.2. Невооруженные немертвыны (Anopla)

Большие гетеронемертвыны, такие как *Cerebratulus* или *Parbolasia*, продуцируют токсические полипептиды. Из слизистого секрета гетеронемертвин, обитающих вдоль северо-восточного побережья Северной Америки, выделены две группы токсических полипептидов: цитолитические (группа А) и нейротоксические (группа В). *Цитотоксин А-III* – полипептид с молекулярной массой ~ 10000, стабилизирован тремя дисульфидными связями, локализован в интегументарных тканях (коже или хоботке). Во вторичной структуре А-III, определенной методом кругового дихроизма, обнаружено (в %) 40  $\alpha$ -структур, 10  $\beta$ -цепей и 50 неупорядоченных структур. Предполагается, что треть С-концевой последовательности полипептида имеет структуру спиральной шпильки и участвует в формировании поры, увеличивая проницаемость мембран клеток различных видов, а также липосом различного липидного состава. По-видимому токсин формирует поры большого диаметра, так как они хорошо проницаемы для высокомолекулярных белков.

В концентрациях 1–10 мкг/мл А-III вызывает лизис эритроцитов млекопитающих, чувствительность которых убывает в следующем порядке: коза > человек > крыса. Интересно, что чувствительность эритроцитов к А-III пропорциональна

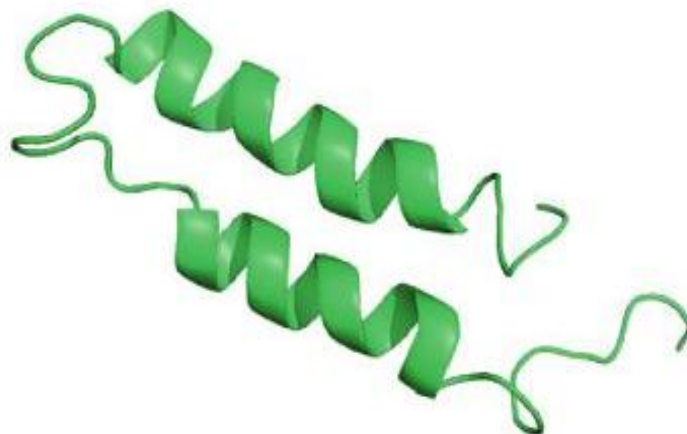
соотношению в их мембранах сфингомиелина и фосфатидилхолина. Повышение концентрации фосфолипидов ингибирует цитолитическое действие А-III. Эффективность связывания с биомембранами для цитотоксинов группы А достигает 1200 молекул/мкм<sup>2</sup>.

В сублитических концентрациях цитотоксин *Cerebratulus* тормозит потенциал-зависимые каналы для K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> в гигантском аксоне кальмара и сердце собаки. В низких дозах 0.25–1 мкг/мл А-III вызывает деполяризацию изолированных папиллярных мышц сердца собаки. Деполяризующее действие токсина снижается при увеличении концентрации внеклеточного Ca<sup>2+</sup>, однако блокаторы Na<sup>+</sup>-каналов – ТТХ и сакситоксин – в этих условиях не эффективны. При увеличении концентрации токсина А-III ≥ 2 мкг/мл наблюдаются необратимые структурные изменения миокардиальных клеток. В сублитических концентрациях токсин ингибирует протеинкиназу С.

**Нейротоксины группы В** – небольшие полипептиды с молекулярной массой около 6000. Изучены четыре полипептида В-I–В-IV. Выход токсинов В-I–В-IV из 2040 г свежих немертин (160 особей) составил, соответственно, 7.0; 6.0; 3.9 и 101.0 мг. Наиболее токсичен В-II; его паралитическая и летальная активность для рака *Procambarus* равны, соответственно, 35200 и 22700 ед./мг. Для токсина В-IV, содержание которого в секрете немертин максимально, эти значения следующие: 13400 и 1650 ед./мг.

Первичная структура токсинов В-II и В-IV (рис. 4.7) установлена: интересно, что они совпадают по 38 позициям из 55. Молекула токсинов имеет 4 дисульфидные связи.

5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55  
 ASATWGAAY/.../ACENNCRKKYDLCIRCGKWAGKRGKCAANCI IQKNCKGKCKKE  
 А



Б

Рис. 4.7. Первичная структура (А) и 3D диаграмма (Б) растворимой структуры нейротоксина В-IV из атлантической гетеронемертины *Cerebratulus lacteus*. Две длинные α-спирали соединены шпилькой и стабилизированы четырьмя дисульфидными мостиками



3D структура этой молекулы, состоящей из 95 аминокислотных остатков, была определена в водном растворе с помощью ЯМР  $^1\text{H}$ -спектроскопии при 600 МГц. Этот катионный пептид образует две антипараллельные спирали и имеет четко определенную спиральную структуру шпильки. Ветви шпильки соединены четырьмя дисульфидными связями. Три аминокислотных остатка Arg17, -25 и -34, определяющие функциональную активность токсина, находятся на одной стороне молекулы, в то время как другой функциональный остаток Trp30 находится на противоположной стороне.

Характерным фармакологическим эффектом токсинов группы В является удлинение фазы реполяризации потенциала действия в нейронах ракообразных. Используя метод модификации отдельных аминокислотных остатков в молекуле, были предприняты попытки выяснить структурно-функциональные взаимосвязи в токсине В-IV. В результате было установлено, что в активный центр токсина В-IV включены остатки Trp9 и Trp30. Применение меченных  $^{125}\text{I}$  дериватов В-IV позволило установить, что токсин специфически связывается с везикулами, приготовленными из аксона омара, с  $K_d = 80\text{--}100$  нмоль/л.

#### 4.3. ЯД ПОЛИХЕТ (Polychaeta)

Многощетинковые черви, или полихеты (лат. Polychaeta, от греч. πολύς – «много», греч. χαίτη – «волос») – класс кольчатых червей (тип Annelida, от annelus – колечко). В настоящее время этот класс насчитывает более 10 тысяч видов. Наиболее известные представители – пескожил *Arenicola marina* и nereида *Nereis virens*. Полихеты – типичные морские формы, очень многие приспособились к жизни в сильно опресненной воде (устья рек) или в пресной (Байкал, большие озера Северной Америки). Встречаясь во всех частях Мирового океана, полихеты особенно обильны в мелководье, немногочисленны в абиссали, ряд форм приспособился к пелагическому и планктонному существованию. Многие виды живут во временных или постоянных трубках, в том числе и грунте. Среди сидячих (седентарных) полихет наиболее распространены седиментаторы (например представители семейств Sabellidae, Serpulidae, Spigorbidae). Они питаются детритом, добывая его с помощью ловчих щупалец, выполняющих также функцию жабр, из толщи воды.

Свободноживущие (эррантные) полихеты – детритофаги или хищники. Детритофаги могут добывать органическое вещество из грунта, поедая его, например представители семейств Arenicolidae, Ampictenidae. Некоторые собирают детрит с поверхности грунта длинными пальцами (например Spionidae). Широко распространено хищничество, к примеру среди Nereididae, Glyceridae, Syllidae. Они питаются мелкими пелагическими организмами, а также растительными остатками, заключенными в иле. Хищные, ведущие придонный образ жизни полихеты встречаются по преимуществу среди камней, ракушечника и водорослей. Нередки случаи комменсализма – в губках, иглокожих, моллюсках.

**Ядовитый аппарат.** У большинства свободноживущих хищных полихет, к которым относятся ядовитые виды, глотка превращается в мускулистую выдвигающуюся или выворачивающуюся наподобие хобота цилиндрическую трубку (рис. 4.8А). Она представляет собой продолжение буккального отдела. На границе между глоткой и буккальным отделом лежат хитиновые челюсти. Они крючкообразно изогнуты остриями внутрь, и внутренний край зазубрен. В передний отдел

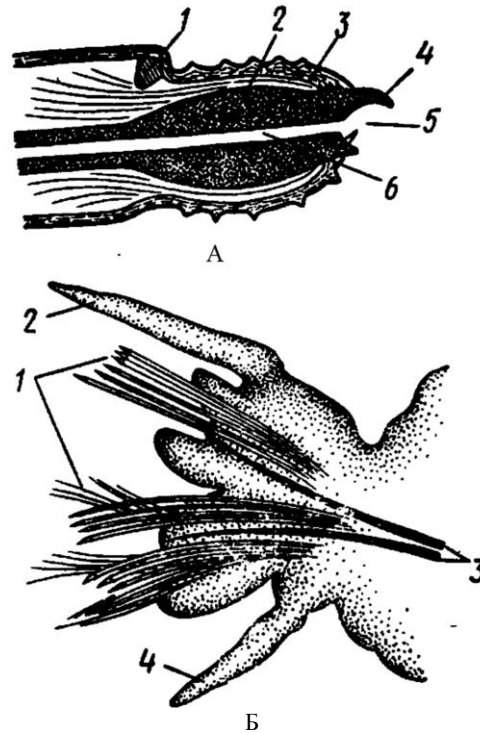


Рис. 4.8. Передний отдел многощетинкового червя с выдвинутой глоткой (А): 1 – мозг; 2 – мускулистая стенка глотки; 3 – стенка буккального отдела; 4 – челюсть; 5 – отверстие полости глотки; 6 – глотка. Параподия атокной формы *Nereis pelagica* (Б): 1 – щетинки; 2 – спинной усик; 3 – опорные щетинки; 4 – брюшной усик (Иванов и др., 1958)

пищевода, следующего за глоткой, открывается пара продолговатых слюнных желез, наружная поверхность которых сильно складчатая. Они и продуцируют ядовитый секрет.

Однако ядовитость полихет может быть связана и с параподиями (рис. 4.8Б). В этом случае их щетинки полые и легко обламываются. Яд может постоянно заполнять полость щетинки или выделяться в момент погружения в ткани. В данном случае, несомненно, проявляется защитное значение яда.

**Клиника отравлений.** Отравления, вызванные полихетами, чаще всего носят профессиональный характер (например у рыбаков) и характеризуются как местными (острая боль, гиперемия, отек), так и общими (головная боль, рвота, асфиксия) симптомами.

#### 4.3.1. Химический состав и механизмы действия яда

Было замечено, что мухи и муравьи, поедающие падаль морских кольчатых червей, погибают от паралича. Токсические вещества морских аннелид были выделены еще в 1922 г. из полихеты *Lumbriconereis heteropoda* и названы *нереисто-*

ксином. В 1960 г. была установлена структура (рис. 4.9) нереистоксина (4-диметиламино-1,3-дителиолана), а затем токсин был синтезирован:

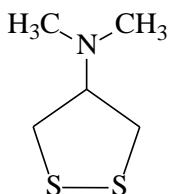


Рис. 4.9. Нереистоксин

Фармакологическое изучение показало, что токсин – сильный инсектицид, поражающий, в основном, нервную систему насекомых. Для позвоночных животных он сравнительно малотоксичен. Так, для мышей  $DL_{50}$  (в мг/кг) при внутривенном введении составила 30, при подкожном введении – 1000 и при приеме внутрь – 118. Рыбы (караси и карпозубые) без вреда для себя съедают полихет, однако добавление нереистоксина в воду может вызвать смерть. Отмечено, что при подщелачивании воды его токсичность возрастает, но падает почти до нуля при pH ниже 5.6.

Для беспозвоночных животных токсичность нереистоксина ниже, чем коммерческих инсектицидов (ДДТ и др.). Однако по парализующему действию этот токсин даже превосходит некоторые из них. Он не обладает антихолинэстеразным действием и этим отличается от известных фосфорорганических инсектицидов.

Электрофизиологическими методами установлено, что нереистоксин конкурирует с экзогенным ацетилхолином за связывание с холинорецептором и угнетает амплитуду ПКП и МПКП в нервно-мышечном соединении. Полагают, что угнетающее действие нереистоксина на ЦНС беспозвоночных животных также связано с блокированием холинергической передачи.

На основе нереистоксина был синтезирован целый ряд его аналогов: бенсультап, картап (падан), тиоциклам, тиосультап (рис. 4.10), характеризующихся повышенной устойчивостью, но легко гидролизующихся с образованием действующего компонента – нереистоксина, то есть являющихся его прекурсорами.

Эти соединения широко используются для борьбы с вредителями риса, чая, хурмы и других сельскохозяйственных культур. Достаточно сказать, что уже в 1972 г. производство картапа в Японии достигло 1500 т. Для млекопитающих картап малотоксичен. Изучение его хронической токсичности при скормливании мышам в течение 3 месяцев показало, что в дозе  $0.5 DL_{50}$  у животных не наблюдалось существенных отклонений от нормы, за исключением небольшого снижения массы тела. Минимальная токсическая доза картапа для мышей при пероральном ежедневном введении в течение трех месяцев составила 100 мг/кг.

Другой популярный инсектицид – бенсультап [S,S-[2-(диметиламино)-триметилен]-добензотиосульфат]. Препарат эффективен в борьбе с чешуекрылыми и жесткокрылыми вредителями многих культур, является распространённым средством борьбы с колорадским жуком (*Leptinotarsa decemlineata*). Применяется в виде 50%-ного смачивающегося водой порошка под торговым названием «Банкол» (Bancol).

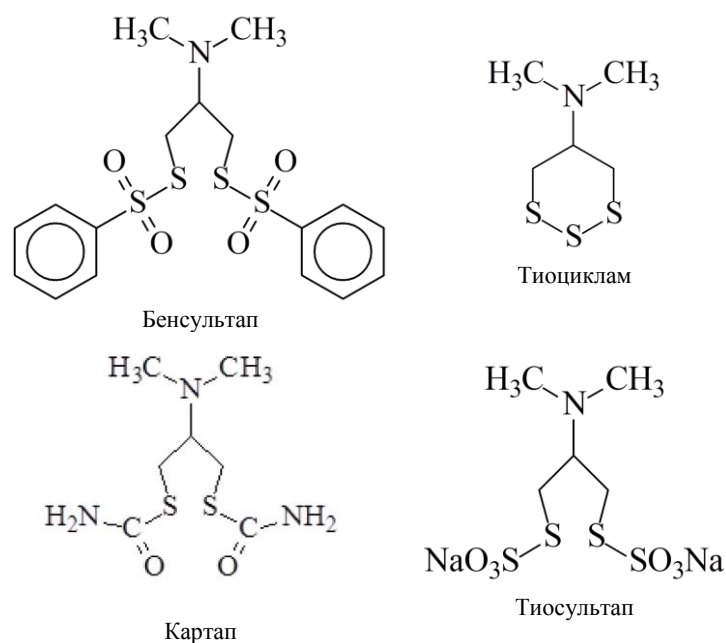


Рис. 4.10. Аналоги (прекурсоры) нерестиоксина

Как уже указывалось, соединение легко гидролизуется в водной среде в присутствии оснований, причем вторая стадия – окисление – проходит очень быстро в присутствии кислорода воздуха (рис. 4.11):

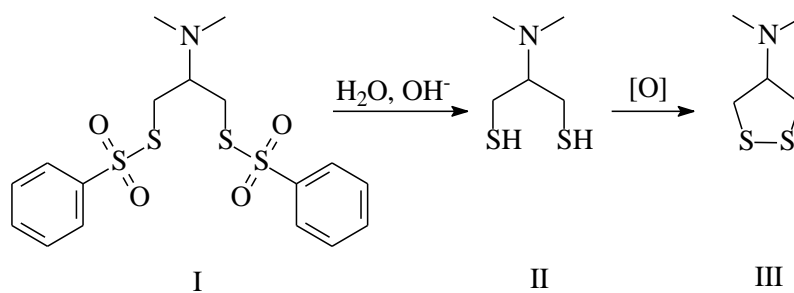


Рис. 4.11. Гидролиз бенсультапа

Блокирование холинорецепторов бенсультапом приводит к тому, что насекомые теряют способность реагировать на внешние сигналы, впадают в состояние коллапса, протрацию, становятся безразличными к еде, их тела размягчаются, и они падают с поверхности растений. «Банкол» – контактный инсектицид, но он обладает способностью проникать во внутренние ткани растений. «Банкол» малотоксичен для теплокровных ( $DL_{50}$  для крыс более 1000 мг/кг), а также для рыб и птиц. Он нефитотоксичен, малостоек в растениях, остаточные количества препарата не обнаруживаются уже через 7 дней после обработки.

Полихеты вырабатывают также и белковые яды. В качестве примера укажем кольцеца *Clicera convoluta*. Предварительное изучение фармакологической активности экстракта цельных желез (150 желез в 1 мл буфера) показало, что он вызывает остановку сердца дафний. Экстракт обладает протеолитической активностью, оцениваемой по гидролизу синтетического субстрата ВАЕЕ, которая тормозилась полипептидными ингибиторами протеаз. Коллагеназная активность экстракта, оцениваемая по расщеплению природного коллагена, была сравнима с активностью коллагеназы из *Clostridium histolyticum*. Молекулярная масса токсических фракций, выделенных колоночной хроматографией, оказалась равной 110000–120000, тогда как фракции, обладающие протеолитической активностью, имели молекулярную массу 60000–70000. Кроме того, экстракт ядовитых желез *G. convoluta* обладает нейротропной активностью и способен вызывать длительное увеличение частоты МПКП в нервно-мышечном препарате лягушки, краба и электрических пластинок ската. Пресинаптическое действие экстракта проявилось только в присутствии в среде  $Ca^{2+}$ , но легко снималось отмыванием. Активирующее действие экстракта *G. convoluta* объясняют повышением под его влиянием концентрации  $Ca^{2+}$  в аксоплазме.

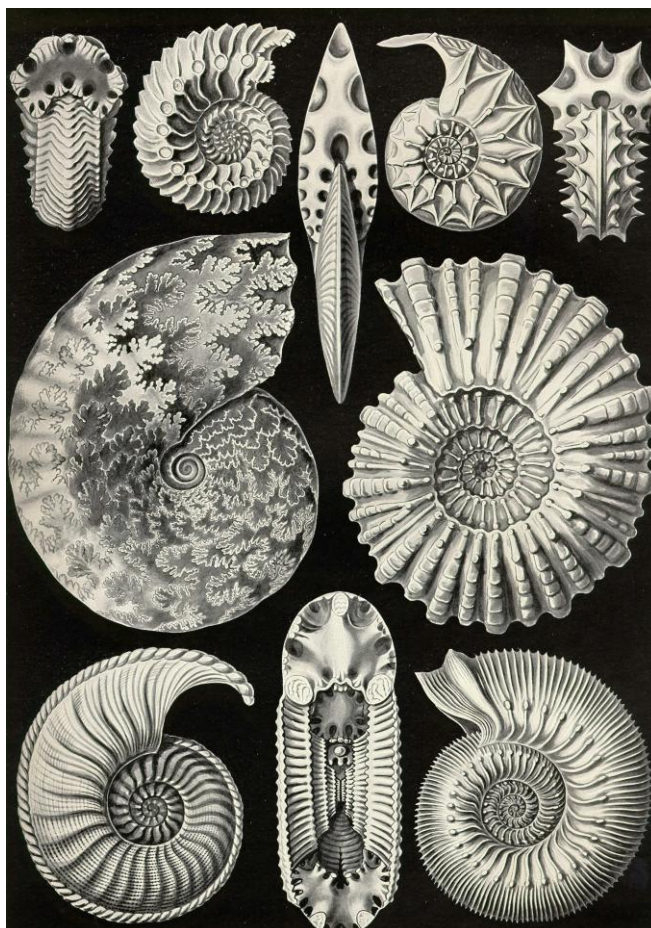
\* \* \*

Оценивая степень изученности биологически активных веществ червей, следует признать, что она далека от завершения и в настоящее время по существу только начинает развертываться широкий фронт работ по изучению токсинов этой группы беспозвоночных животных. Естественные токсины, действующие на никотиновые АХР, не только являются эффективными инструментами для исследования этого типа рецепторов, но также могут служить молекулярными моделями для проектирования никотиновых агонистов и антагонистов как лекарственных средств. Наконец, создание инсектицидов – хороший пример использования природных токсинов для целенаправленного синтеза на их основе новых высокоэффективных соединений.

## МОЛЛЮСКИ (Mollusca)

Современная палеонтология уже достаточно изучила все виды живых организмов Кембрийского периода: около тысячи различных видов моллюсков, но есть основание полагать, что первая растительность и даже первые моллюски появились все же в конце Архейской эры, также входящей в состав третьего дня творения. В следующий Силурийский период количество моллюсков увеличивается до десяти тысяч различных разновидностей, в Девонский период появляются и двоякодышащие рыбы, не имеющие позвоночника, но покрытые панцирем, как переходная форма от моллюсков к рыбам.

*Протоиерей Стефан Ляшевский*



Э. Геккель, 1904

## 5.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

**М**оллюски, или мягкотелые (лат. Mollusca) – тип первичноротых целомических животных со спиральным дроблением. В 2002 году в составе типа Mollusca насчитывали около 113 тыс. видов, в России – 2863 вида. Этот тип обычно делят на 9 или 10 классов, два из которых полностью вымерли. Название «моллюск» происходит от латинского molluscus – «мягкий». Наука, изучающая моллюсков, называется малакология, а наука, изучающая их раковины – конхиология. Моллюски распространены по всему земному шару, за исключением полярных областей. Моллюски встречаются как на суше, так и в пресноводных водоёмах, а также в морях и океанах. Самые глубоководные моллюски обнаружены в Марианской впадине на глубине около 11000 м, а ареал сухопутных виноградных улиток простирается в горные районы до высоты 2000 м над уровнем моря. Моллюски освоили практически все среды обитания: морские и пресноводные водоёмы, сушу. Самые маленькие представители моллюсков относятся к классу брюхоногих. Взрослые особи самого мелкого вида достигают в длину 0.5 мм. К моллюскам относятся и крупнейшие представители беспозвоночных – гигантские кальмары из класса головоногих: их полная длина (вместе со щупальцами) достигает 16.5 метров. Моллюски – главным образом свободноживущие организмы, однако есть некоторое количество паразитических форм. Моллюски очень разнообразны не только по размеру, но и по анатомическому строению и поведению. Головоногие моллюски, такие как кальмары, каракатицы и осьминоги, занимают одно из первых мест среди беспозвоночных по степени развития нервной системы. Около 80% видов моллюсков относятся к классу брюхоногих. Большинство моллюсков могут передвигаться с помощью ноги. У головоногих моллюсков нога трансформирована в щупальца. Одна из характерных особенностей моллюсков – минерализованная раковина, форма и строение которой меняется от класса к классу. У большинства головоногих раковина отсутствует. Характерным для моллюсков является особый ротовой орган – радула. У двустворчатых радула (как и вся голова) полностью редуцирована. Жизненные циклы моллюсков также весьма разнообразны. Сухопутные моллюски и класс головоногих развиваются без промежуточных форм, а у других классов существуют личиночные формы, такие как трохофоры, глохидии и велигеры.

Появление типа моллюсков датируется ранним Кембрийским периодом. Классификация, филогения и даже монофилия моллюсков как типа являются предметом дебатов. Моллюски – важный источник питания для человека, а также источник материалов, служащих сырьём для предметов роскоши, таких как перламутр, жемчуг, пурпур и виссон. Вместе с тем некоторые моллюски являются сельскохозяйственными вредителями, а также могут представлять прямую угрозу для человека.

Токсикологическая характеристика типа моллюсков, или мягкотелых (Mollusca) имеет большое практическое значение, так как многие из них добываются с пищевыми или промышленными целями. Среди моллюсков можно встретить типичные формы ядовитых животных от активно-ядовитых (конусы, головоногие) до пассивно-ядовитых (некоторые брюхоногие и большинство двустворчатых). В настоящей главе будут рассмотрены моллюски, относящиеся к классу брюхоногих (Gastropoda) и головоногих (Cephalopoda), среди которых описаны наиболее ядовитые виды. Что касается двустворчатых моллюсков (Bivalvia), то их токсино-

логическая характеристика была дана в главе 1, поскольку они относятся к типичным вторично-ядовитым животным, аккумулирующим экзогенные яды.

## 5.2. ЯД БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ (Gastropoda)

Брюхоногие, или гастроподы, или улитки (лат. *Gastropoda* от др.-греч. γαστήρ «брюхо» и ποῦς «нога») – самый многочисленный класс<sup>42</sup> в составе типа Mollusca, который включает около 100000 видов, в России – 1620 видов. Основным признаком брюхоногих моллюсков является торсия, то есть поворот внутренностного мешка на 180°. Кроме того, для большинства гастропод характерно наличие турбоспиральной раковины. Среди брюхоногих встречаются как активно-ядовитые, характерными представителями которых являются конусы (Conidae), так и пассивно-ядовитые формы (Buccinidae, Turbinidae, Aplysiidae и др.). У последних яд может локализоваться в различных частях тела, но главным образом во внутренних органах. Кроме того, ядовитой может быть слизь, выделяемая покровами тела.

### 5.2.1. Активно-ядовитые брюхоногие моллюски

Эту группу подробно рассмотрим на примере моллюсков рода *Conus*, имеющих своеобразную раковину почти правильной конической формы (рис. 5.1). Конусы нередко имеют очень красивую расцветку раковины, что и привлекает к ним внимание человека. Конусы, наряду с раковинами каури<sup>43</sup>, очень высоко ценятся коллекционерами. Конус Глориамарис (*Conus gloriamaris*), называемый «Славой морей» (рис. 5.1), считается самой красивой раковиной в мире, которая была описана ещё в 1777 г. До 1950 г. были известны всего около двух десятков этих раковин, и поэтому они могли стоить до нескольких тысяч долларов. Сейчас найдены места обитания этих моллюсков, и их цена резко упала.



Рис. 5.1. Конус «Слава морей» *Conus gloriamaris* (Wikipedia Commons)

<sup>42</sup> Известны более 400 современных семейств и около 200 вымерших. В старых системах выделяли 4 подкласса брюхоногих: Opisthobranchia (заднежаберные); Gymnomorpha (безраковинные); Prosobranchia (переднежаберные); Pulmonata (лёгочные). По новой системе (Bouchet & Rocroi, 2005) с учётом строения ДНК современная классификация лишлась подклассов и отрядов (они заменены на клады – clade).

<sup>43</sup> Каури, или фарфоровые улитки (лат. Suraeidae), – семейство морских брюхоногих моллюсков, обитающих в тёплых, преимущественно тропических морях, некоторые встречаются в Средиземном море. Насчитывается около 300 видов. Каури отличаются изобилием вариантов рисунка и расцветки.



Конусы (лат. Conidae) – семейство хищных брюхоногих моллюсков. Своих жертв, в роли которых обычно выступают многощетинковые черви и моллюски (реже – ракообразные и рыбы), конусы парализуют с помощью яда. Описаны около 500 видов. Большинство представителей приурочено к тёплым тропическим морям, однако некоторые способны обитать в высоких широтах. Яд некоторых представителей рода *Conus* смертельно опасен для человека. В то же время яд других видов используют в фармакологии для изготовления сильнодействующих обезболивающих препаратов, не вызывающих наркотической зависимости. Конусы широко распространены в тропической и субтропической зонах Мирового океана (преимущественно в Индийском и Тихом океанах). Пищей им служат различные беспозвоночные – полихеты, моллюски, а некоторые виды, например *C. geographus*, питаются рыбами. Конусы – ночные хищники, прячущиеся днём в песке, характеризуются наличием ядовитого аппарата, детали строения которого варьируют от вида к виду.

**Ядовитый аппарат.** Ядовитый аппарат включает ядовитый пузырек, ядовитый проток, радулу, снабженную зубами, и хоботок (рис. 5.2).

Подвижный мускулистый хоботок (рис. 5.3), представляющий собой передний конец головы, вооружен одним из передних зубов радулы и служит для поражения добычи.

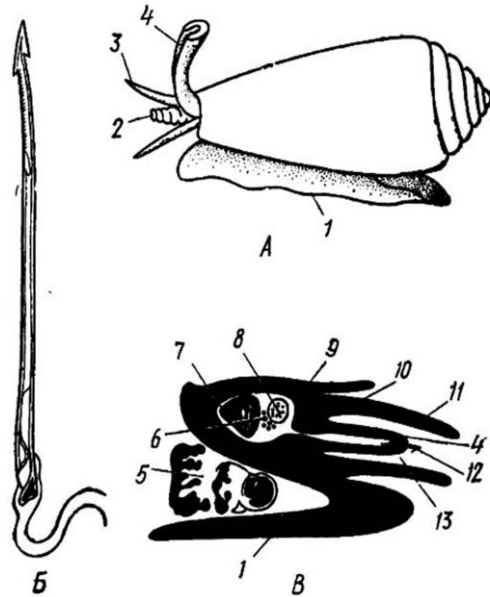


Рис. 5.2. Схема строения брюхоногого моллюска и его ядовитого аппарата (Холстед, 1965): А – общий вид; Б – ядовитый зуб; В – сагиттальный разрез тела; 1 – нога; 2 – хоботок; 3 – щупальца; 4 – сифон; 5 – висцеральная полость; 6 – проток ядовитой железы; 7 – ядовитая железа; 8 – футляр радулы; 9 – мантия; 10 – глотка; 11 – роstrум; 12 – зуб; 13 – буккальная полость



Рис. 5.3. Мускулистый хоботок и зуб радулы конуса (Wikipedia Commons)

Остальные зубы расположены в два ряда по бокам радулы. Зубы имеют форму гарпуна и снабжены каналом, по которому стекает яд, поступающий из ядовитого протока. Образование яда происходит именно в ядовитом протоке, имеющем секреторирующий эпителий, тогда как ядовитый пузырек служит для нагнетания яда в канал зуба. Если торчащий из хоботка зуб застрянет в покровах жертвы, ему на смену приходит другой – уже заполненный ядом. Ядовитые зубы конусов, напоминая своим строением ядовитые зубы змей, являются хорошим примером конвергентного развития.

Когда конус с помощью органа чувств (осфрадия) обнаруживает добычу, один зуб радулы выходит из глотки, его полость заполняется секретом ядовитой железы, проходит хобот и зажимается на конце этого хобота. Приблизившись на достаточное расстояние, улитка выстреливает гарпун (рис. 5.4), и в жертву вливается сильный токсин, обладающий паралитическим действием.



Рис. 5.4. Охота конуса (Wikipedia Commons)

Некоторые виды конусов имеют выросты-приманки, которыми они подманивают рыб. Небольшие рыбки парализуются практически мгновенно, заглатываются целиком, а на большие экземпляры моллюск надевается как чулок.

**Клиника отравления.** Б. Холстед отмечает, что поражение конусом может произойти па крайней мере в двух случаях. Один из них связан с профессиональной деятельностью ловцов, которые складывают моллюсков в сетчатый мешок и

могут получить укол при неосторожной транспортировке мешка, обычно привязанного к поясу. Другой относится к неопытным коллекционерам, которые, желая очистить раковину моллюска, начинают ее скоблить, тем самым провоцируют конуса на укол и нередко расплачиваются за это тяжелым отравлением. Для человека такой укол может стать опасным. Особенно опасен для человека географический конус (*Conus geographus*). По некоторым утверждениям смерть может наступить в течение пары минут. В Тихом океане от укусов конуса ежегодно погибает 2–3 человека, а от акул – лишь один. По данным статистики, один из трех, а то и из двух случаев укула шипом конуса заканчивается смертью. Чаще всего, привлеченный красотой раковины, человек пытался взять её в руки и вынуждал конуса защищаться.

Характерные симптомы отравления ядом включают сильную боль в месте укула, сопровождающуюся чувством онемения в окружающих тканях. Онемение довольно быстро распространяется по телу, охватывая мышцы рта и конечностей. По мере всасывания яда наступают общие симптомы отравления: тошнота, одышка, расстройство зрительных и слуховых ощущений, нарушение координации движений, головокружение, за грудины боли, саливация, лакримация. В тяжелых случаях развивается паралич дыхательной мускулатуры, приводящий к гибели. Лечение симптоматическое. В 1993 г. были зарегистрированы 16 смертельных случаев в мире от укула конусом, из них 12 приходится на *Conus geographus*, два – *C. textile*. Кроме того, опасными следует считать *C. aulicus*, *C. marmoreus*, *C. omaria*, *C. striatus* и *C. tulipa*. Как общее правило, наиболее опасными следует считать таких конусов, которые охотятся на рыб.

### 5.2.1.1. Химический состав и механизм действия яда

**Начальный этап.** Активное изучение химического состава яда конусов и механизмов действия входящих в их состав токсинов началось во второй половине XX века. В качестве примера приведем токсикологические характеристики яда наиболее изученных в этот период конусов, показывающие достаточно широкий спектр их биологической активности.

***Conus striatus*.** Экспериментальное отравление мышей ядом *C. striatus* вызвало парезы, диспноэ, тонические спазмы скелетной мускулатуры и прогрессирующую дыхательную недостаточность с последующей остановкой сердца. Токсичность яда для мышей ( $DL_{50}$ ) составляла 2.3 мг/кг. Яд обладал выраженными нейротропными свойствами. Под действием яда развивался блок нервно-мышечной передачи в препарате изолированной диафрагмы крысы. Кроме того, яд вызывал угнетение амплитуды ПД нервных и мышечных клеток, причем этот эффект развивался на фоне деполяризации клеточных мембран. Особое внимание привлекают кардиотропные свойства яда. В концентрации 10 мкг/мл он вызывал положительный инотропный эффект на изолированных предсердиях и желудочках сердца морской свинки длительностью свыше 3 ч. Стимулирующее действие яда на деятельность сердца угнеталось двухвалентными ионами ( $Mn^{2+}$ ,  $Ln^{2+}$ ), а также блокаторами кальциевых (верапамил) и натриевых (ТТХ) каналов. Электрофизиологическими методами установлено, что стимулирующий эффект яда на деятельность сердца связано с увеличением амплитуды и длительности ПД сердечной мышцы. Эти данные показывают, что яд способен оказывать прямое влияние на быстрые (натриевые) и медленные (кальциевые) каналы миокардиальных

клеток. Кроме того, следует учитывать и высвобождение катехоламинов под действием яда, что также оказывает стимулирующее влияние на деятельность сердца.

***Conus magus***. Яд этого моллюска в концентрации 2 мкг/мл также вызывал длительное увеличение амплитуды сокращений изолированного сердца морской свинки. Однако, в отличие от яда *C. striatus*, действие яда *C. magus* проявлялось в отсутствие двухвалентных катионов. Яд *C. magus* вызывал сокращение изолированных препаратов гладких и поперечно-полосатых мышц, которое при увеличении концентрации переходит в стойкую контрактуру.

***Conus geographus***. Яд *C. geographus* по своим свойствам довольно сильно отличается от ядов других конусов. В концентрации 25 мкг/мл он хотя и вызывал блокаду сокращений изолированной диафрагмы крысы на прямое раздражение, но не влиял на гладкую и сердечную мускулатуру млекопитающих. Скелетные мышцы амфибий и гладкая мускулатура брюхоногих также устойчивы к действию этого яда. Даже в высоких концентрациях (1 мг/мл) яд *C. geographus* не изменял амплитуду ПД седалищного нерва амфибий в течение 90 мин. Для сравнения укажем, что яд *C. magus* в концентрации 0.1 мг/мл уже в течение 1 ч полностью блокировал проведение возбуждения по седалищному нерву лягушки. Активное начало яда – полипептиды с молекулярной массой ~ 1500–2000, чувствительные к обработке протеолитическими ферментами и названные конотоксинами I и II. Конотоксины вызывали у мышей вялый паралич и смерть от остановки дыхания. DL<sub>50</sub> конотоксина I для мышей составляла 12 мкг/кг. Смесь конотоксинов в концентрации ≥ 2 мкг/мл вызывала уменьшение амплитуды ПКП и МПКП, что указывает на постсинаптический характер их действия. Конотоксины эффективнее d-тубокурарина тормозили связывание такого специфического лиганда, как <sup>125</sup>I-α-бунгаротоксин, с холинорецептором.

***Conus californicus***. Токсичность целого экстракта ядовитого протока *C. californicus* для мышей составляла 2.4 мг/кг. Холиномиметический компонент яда вызывал торможение сокращений сердца моллюска *Mercenaria mercenaria* и гиперполяризацию нейронов ЦНС аплизии *Aplysia californica* за счет увеличения медленной калиевой проводимости. Холиномиметическое действие яда *C. californicus* блокировалось антагонистами ацетилхолина.

***Conus achatinus***. Добавление яда (0.5 м.е./мл) к раствору, омывающему препарат изолированной диафрагмы крысы, вызывало ее деполяризацию, оцениваемую по изменению мембранного потенциала. Использование гипонатриевых растворов или применение местного анестетика прокаина, блокирующего натриевые каналы, делало деполяризацию, вызываемую ядом, обратимой. Ионы Mn<sup>2+</sup> и донатор сульфгидрильных групп дитиотретиол также уменьшали деполяризующее действие яда *C. achatinus*. Эти данные показывают, что яд увеличивает проницаемость мембран для ионов натрия и кальция.

***Conus eburneus***. Фармакологическое изучение яда этого моллюска, обитающего у побережья о. Окинава, показало, что он вызывал сильное и длительное сокращение изолированной аорты кролика. Этот эффект ингибировался блокатором кальциевых каналов верапамилем.

***Conus arenatus***. Из передней части ядовитого протока *C. arenatus*, а также *C. lividus*, *C. quercinus* был получен экстракт, обладающий протеолитическим действием. Экстракт гидролизует казеин с оптимумом pH 9–10. Протеазы, содержащиеся в этом экстракте, видимо не серинового типа, так как соевый ингибитор трипсина их не инактивировал. Возможно, что эти протеазы ответственны за местные некротические явления.

**Другие моллюски.** Кроме конусов, к активно-ядовитым можно отнести моллюсков, обладающих ядовитым секретом слюнных желез. В слюнных железах *Neptunea arthritica* и *N. intersculpta* (Neptunidae) содержится тетрамин, вызывающий иногда пищевые отравления. У наиболее ядовитых особей *Neptunea* содержание тетрамина достигает 7–9 мг/г массы железы, тогда как токсическая доза для человека 350–450 мг. Отравление сопровождается слабостью, тошнотой, фотофобией, нарушением координации движений, иногда наблюдается крапивница. У мышей введение токсической дозы приводит к двигательному параличу, перед смертью наблюдаются судороги, сердце продолжает сокращаться и после остановки дыхания. У человека симптомы отравления развиваются через 30–60 мин и удерживаются в течение нескольких часов. В слюнных железах *Thaishae mastoma* содержится токсин, парализующий устриц. Для мышей  $DL_{50}$  этого токсина составляет 43 мг/кг. Экстракт слюнных желез обладает сильным сосудорасширяющим действием. У кошек токсин вызывает брадикардию, падение АД, а также поражение ЦНС. Нейротоксин, по-видимому, содержится и в слюнных железах некоторых видов *Cassis*, охотящихся на морских ежах. Моллюск выделяет слюну из своего хоботка, которая обратимо парализует морского ежа. Частичный паралич наблюдается при помещении небольшого морского ежа в раствор, содержащий  $10^{-3}$  г/мл токсического секрета. Хотя слюна *Thais* и *Cassis* содержит кислоту, растворяющую раковину моллюсков или панцирь иглокожих, паралитическое действие слюны связано с другими ее компонентами.

**Современный этап.** В настоящее время благодаря быстро растущему числу новых пептидов, полученных как непосредственной очисткой из яда многочисленных видов конусов, так и синтезом на основе структур, выявленных генно-инженерными методами, количество используемых в исследованиях конотоксинов и их аналогов исчисляется уже сотнями. Пептиды обладают высокой селективностью по отношению к разным биологическим мишеням: они взаимодействуют с кальциевыми и натриевыми каналами нервных мембран, никотиновыми рецепторами ацетилхолина в холинергическом синапсе, переносчиками норадреналина, рецепторами NMDA<sup>44</sup>, рецептором нейротензина. Существенным моментом является сравнительная простота химического синтеза  $\alpha$ -конотоксинов.

По своему молекулярному разнообразию яд конусов не уступит яду змей, однако его особенностью является присутствие большого количества физиологически активных компонентов пептидной природы.

Первоначальные оценки предполагали в яде каждого вида *Conus* около сотни самых разных по структуре и функции пептидов, названных общим термином *конопептиды*. Применение усовершенствованных методов жидкостной хроматографии в совокупности с масс-спектрометрией увеличили это число до 1000–1900 и, таким образом, эта природная пептидная библиотека может насчитывать сотни тысяч соединений. Существующая классификация различных конопептидов основана на их структурном сходстве, выражающемся, в первую очередь, в наличии, количестве и схеме замыкания дисульфидных связей, что связано как со специфической пространственной структурой, так и с определенным типом биологической активности. Конопептиды, имеющие две и более дисульфидные связи, предложено назвать *конотоксинами*.

---

<sup>44</sup> NMDA – ионотропный рецептор глутамата, селективно связывающий N-метил-D-аспаратат.

Следует отметить, что состав яда может различаться в зависимости от рациона моллюска, таким образом, детальный состав яда может сильно различаться даже между особями одного вида.

Разработана специальная классификация названий конотоксинов, отражающая специфику их фармакологической активности и источник получения. Название индивидуального пептида включает в себя греческую букву для обозначения фармакологического эффекта, одну или две буквы, указывающие источник, из которых пептид был впервые выделен (например «М» *Conus magus*, или «Mg» для *Conus marmoreus*). Римская цифра указывает конфигурацию образования дисульфидных связей (S–S мотивы), а прописная буква используется для обозначения последовательности описания токсина в данной категории конфигурации дисульфидных связей. Например, ω-конотоксин MVIIA относится к группе ω-токсинов, выделен из *Conus magus* и был первым пептидом, обнаруженным с конфигурацией VII структуры дисульфидных связей.

Согласно соответствующему белку-мишени, конотоксины делятся на следующие основные<sup>45</sup> группы:

- α-конотоксины – блокируют различные типы никотиновых ацетилхолиновых рецепторов;
- δ-конотоксины – ингибируют инактивацию потенциал-зависимых натриевых каналов;
- κ-конотоксины – ингибируют калиевые каналы;
- μ-конотоксины – ингибируют потенциал-зависимые натриевые каналы;
- ω-конотоксины – блокируют потенциал-зависимые кальциевые каналы.

Конотоксины, как правило, состоят из ~ 10–40 аминокислотных остатков и большинство их содержит две или три дисульфидные связи. Использование тандемной масс-спектрологии способствовало открытию новых последовательностей и пост-трансляционных модификаций. Примеры первичной структуры и 3D реконструкции конопептидов приведены на рис. 5.5 и 5.6. Так, контулактин G является примером конопептида, не содержащего дисульфидных связей, а C-концевая последовательность контулактин G имеет высокую степень подобия с нейротензином. Конотоксины с двумя дисульфидными связями представлены α-конотоксином PnIA и χ-конотоксином MrIA, которые, несмотря на четыре остатка цистеина, имеют различную конфигурацию дисульфидных связей.

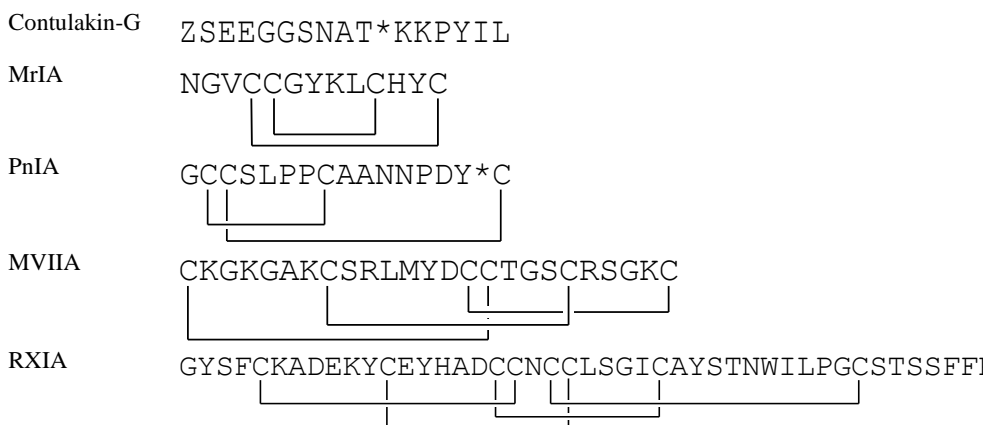


Рис. 5.5. Первичная структура некоторых конопептидов

<sup>45</sup> Имеются и другие, не рассматриваемые здесь структурно-функциональные группы конотоксинов.

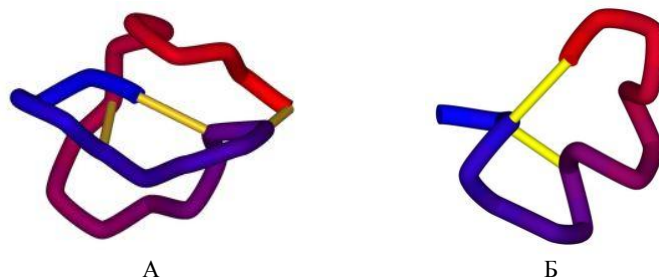
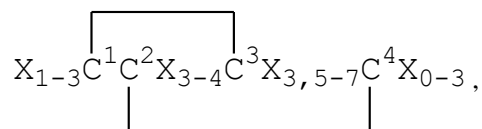


Рис. 5.6. Схематические диаграммы трехмерной структуры конотоксинов: А – структура  $\omega$ -конотоксина MVIIA; Б – структура  $\alpha$ -конотоксина PnIV. Структура окрашена от N-конца (синий) к С-концу (красный), отдельно показаны дисульфидные связи

**Природные  $\alpha$ -конотоксины.** Среди конотоксинов наиболее обширной сегодня является группа  $\alpha$ -конотоксинов, конкурентных антагонистов различных подтипов nАХР. Представитель именно этой группы конопептидов был впервые выделен из яда *C. geographus* и охарактеризован как постсинаптический блокатор в нервно-мышечном соединении лягушки почти три десятилетия назад. Высокая эффективность и специфичность взаимодействия с nАХР привели к интенсивным поискам этих соединений в ядах многочисленных видов *Conus*, и к настоящему времени уже идентифицированы более четырех десятков  $\alpha$ -конотоксинов.

$\alpha$ -Конотоксины – небольшие пептиды, содержащие 12–22 аминокислотных остатка. Жесткость структуры этих пептидов обеспечивается двумя дисульфидными связями, соединяющими 1–3 и 2–4 остатки цистеина:



где X – любые аминокислотные остатки, в подстрочном индексе указано их возможное число,  $C^{1,2,3,4}$  – остатки цистеина, С-концевой остаток большинства  $\alpha$ -конотоксинов амидирован.

Структурной особенностью  $\alpha$ -конотоксинов является наличие в небольшой молекуле двух дисульфидных связей с характерным расположением остатков цистеина вдоль аминокислотной цепи (СС–С–С) и их замыканием ( $C^1-C^3$  и  $C^2-C^4$ ), хотя известны и исключения. Количество аминокислотных остатков, находящихся между вторым и третьим, а также третьим и четвертым цистеинами, определяет размер так называемых петель I и II  $\alpha$ -конотоксинов и позволяет провести их дополнительное подразделение на подгруппы (например, 3/5 или 4/7  $\alpha$ -конотоксины). Пространственная структура  $\alpha$ -конотоксинов (зависящая от характера замыкания дисульфидов и количества остатков в петлях I и II) во многом определяет их сродство и селективность к подтипам nАХР. Так, все «нейрональные»  $\alpha$ -конотоксины разных подгрупп (4/3, 4/4, 4/6, 4/7) характеризуются наличием выраженного  $\alpha$ -спирального участка вокруг 3-го остатка цистеина (рис. 5.7), отсутствующего у 3/5 пептидов, что, возможно, объясняет выраженную специфичность последних только к мышечным nАХР.

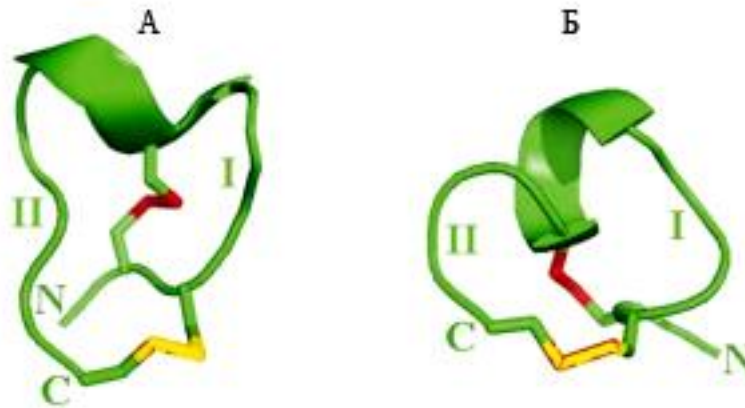


Рис. 5.7. Сравнение пространственной структуры на основе данных ЯМР для представителей разных групп  $\alpha$ -конотоксинов: А –  $\alpha$ -конотоксин GI (подгруппа 3/5), Б –  $\alpha$ -конотоксин ImI (подгруппа 4/3). Дисульфидные связи  $C^1-C^3$  и  $C^2-C^4$  выделены красным и желтым цветом соответственно. Указаны также N- и C-концы и расположение петель I (аминокислотные остатки между вторым и третьим цистеинами) и II (аминокислотные остатки между третьим и четвертым цистеинами)  $\alpha$ -конотоксинов (Кашеверов, Цетлин, 2009)

Таким образом, природные  $\alpha$ -конотоксины – уникальные инструменты для структурно-функциональной характеристики не только различных типов nAХР из разных источников, но даже их отдельных лиганд-связывающих участков.

На первых этапах исследованиях никотиновых холинорецепторов основным «инструментом» были нейротоксины из яда змей (кобры, бунгаруса)<sup>46</sup>, с помощью которых были проведены обнаружение, выделение и первичная характеристика некоторых подтипов nAХР. Около тридцати лет назад в арсенале средств исследователей появились новые природные зонды изучения всего семейства холинорецепторов – токсичные пептиды из яда конусов,  $\alpha$ -конотоксины. Эти соединения обладали выраженной селективностью к разным подтипам nAХР и относительной простотой синтеза, что привело к интенсификации исследований структурно-функциональной организации холинорецепторов и получению впечатляющих результатов. Открытие ацетилхолин-связывающих белков, модулирующих синаптическую передачу, обнаруженных у *Aplysia californica*, *Bulinus truncatus* и некоторых других моллюсков, послужило определяющим шагом в изучении структурной организации участков связывания лигандов на холинорецепторах. Полученные результаты послужили основой для объяснения особенностей структурно-функциональной организации холинорецепторов и создания моделей их комплексов с лигандами различной природы (агонистами и антагонистами), в том числе и с  $\alpha$ -конотоксинами и их аналогами. Это дало возможность определить те конформационные отличия в структуре лиганд-связывающих сайтов, которые наблюдаются при связывании холинергических агонистов и антагонистов. В свою очередь, такая информация стала основой для адекватного применения методов ком-

<sup>46</sup> Подробней см. главу 17.



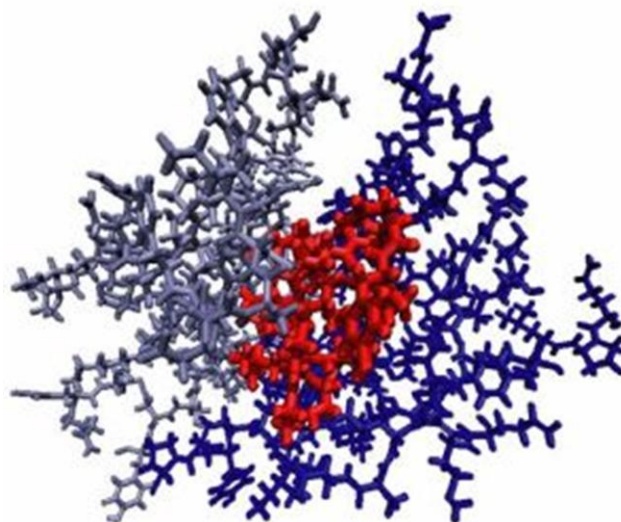


Рис. 5.8. Структура комплекса  $\alpha$ -конотоксина PnIA с сайтом связывания в надмембранной части никотинового ацетилхолинового рецептора. Токсин встраивается между двумя субъединицами рецептора, вызывая конформационные изменения в надмембранной части рецептора, которые влияют на проводимость ионного канала

пьютерного моделирования для их использования как в научных исследованиях, так и в медицинской практике. Изучение конотоксинов показало значительное разнообразие их воздействия: некоторые блокируют передачу сигнала от нервов к мышцам, другие способны вызывать судороги, сон или снимать болевой синдром. Детальный механизм их действия не всегда известен, хотя большинство способно модулировать работу ионных каналов клеточных мембран. В некоторых случаях удается не только установить мишень токсина, но и определить сайт связывания лиганда и построить структуру комплекса токсина с лигандом. В качестве примера приведем 3D реконструкции связывания nAХР с синтетическими  $\alpha$ -конотоксинами: PnIA (рис. 5.8) и SIA (рис. 5.9).

**Синтетические  $\alpha$ -конотоксины.** Параллельно с выделением и очисткой первых  $\alpha$ -конотоксинов были начаты работы по созданию их различных аналогов, и к настоящему времени имеются описания сотен синтетических аналогов  $\alpha$ -конотоксинов. Одно из основных направлений подобных работ – выявление структурных элементов  $\alpha$ -конотоксинов, которые определяют их аффинность и специфичность к тому или иному подтипу nAХР. Большое внимание уделяется изучению роли общих для всех  $\alpha$ -конотоксинов компонентов – дисульфидных связей, формирующих специфические для каждой подгруппы петли I и II, или амидированного С-конца. Получение синтетических аналогов имеет важное значение как для понимания структурных особенностей пептидов, так и для получения стабильных соединений, имеющих практическую (медицинскую) перспективу, например, это актуально для некоторых аналогов  $\alpha$ -селеноконотоксина ImI, сохранивших активность природного пептида. Одним из подходов к решению проблемы стабильности конотоксинов является создание циклических аналогов. Так, удалось получить циклические аналоги  $\alpha$ -конотоксина MII с использованием серии линкеров разной длины; при этом один из аналогов сохранил эффектив-

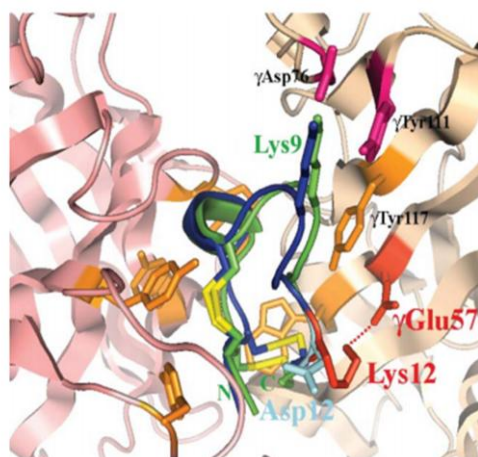


Рис. 5.9. Модель расположения  $\alpha$ -конотоксина SIA (синий цвет) или его аналога SIA[D12K] (красной цвет) в лиганд-связывающем участке nAChP *Torpedo californica*

Розовым цветом слева обозначен N-концевой внеклеточный домен  $\alpha 1$ -субъединицы рецептора (основная сторона), бежевым цветом справа –  $\gamma$ -субъединицы (вспомогательная сторона). Показаны и выделены оранжевым цветом боковые цепи ароматических аминокислотных остатков субъединиц nAChP, участвующих в связывании классических агонистов. Обозначены и выделены малиновым цветом аминокислотные остатки вспомогательной стороны, которые предположительно контактируют с  $\alpha$ -конотоксином SIA. Красным цветом выделен остаток Glu57  $\gamma$ -субъединицы, который может образовывать сильную ионную связь (пунктир) с остатком Lys12 мутантного пептида, также выделенного красным цветом (остаток Asp12 природного  $\alpha$ -конотоксина SIA окрашен голубым цветом). У пептидов также дополнительно выделены N- и C-концы и дисульфидные связи (желтым цветом) (Кошеверов, Цетлин, 2009)

ность и селективность природного пептида. Еще одно направление связано с созданием конотоксинов с нарушенными дисульфидами или измененным положением в аминокислотной последовательности остатка(ов) цистеина, что приводит к изменению размера петель I и II  $\alpha$ -конотоксинов. Среди последних следует отметить серию аналогов  $\alpha$ -конотоксина PnIA с последовательным укорочением размера петли II и химерные молекулы, состоящие из петель разных подгрупп конотоксинов.

**Медицинское применение конотоксинов.** Высокая специфичность блокирования нервной проводимости конотоксинами позволила использовать их в клинических исследованиях механизмов передачи возбуждения в нервной системе, в основном для производства обезболивающих препаратов. Уже сейчас конотоксины используются для разработки средств лечения некоторых неврологических заболеваний, таких, например, как эпилепсия. После работ основателя изучения конотоксинов профессора Бальдомеро Оливера (Университет штата Юта, США) наибольшую известность получила способность  $\omega$ -конотоксинов ингибировать потенциал-зависимые кальциевые каналы N-типа, отвечающие за чувствительность к боли. Это открытие позволило использовать  $\omega$ -конотоксины в качестве основы для производства неопиоидных лекарственных препаратов анальгезирующего действия, не вызывающих привыкания и отличающихся длительностью

действия, а также для производства перспективных препаратов для лечения неврологических заболеваний человека.

Как уже отмечалось, после установления строения ряда токсинов из различных видов конусов были синтезированы несколько тысяч их аналогов. Однако фармакологические испытания показали, что пока наибольший интерес в качестве потенциального лекарственного средства представляет все же один из природных токсинов, а не их синтетические производные. Этот токсин получил название  $\omega$ -конотоксина MVIIA. Он был впервые получен из тихоокеанского моллюска *Conus magus* и является линейным пептидом, состоящим из 25 аминокислотных остатков (рис. 5.10). Шесть остатков цистеина в этом соединении образуют три дисульфидные связи. Дисульфидные связи придают  $\omega$ -конотоксину хорошо сформированную и однозначную пространственную структуру и способность специфично блокировать работу потенциал-зависимых кальциевых каналов N-типа. В результате токсин ингибирует передачу болевого сигнала, действуя при этом очень эффективно ( $K_d = 9$  нМ).

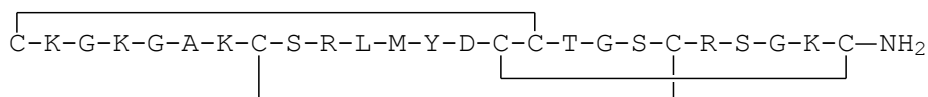


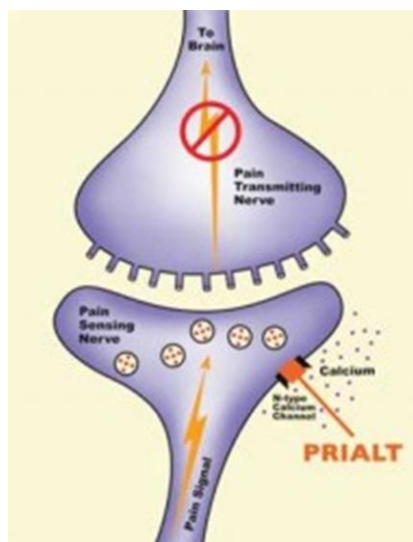
Рис. 5.10.  $\omega$ -Конотоксин MVIIA из яда *Conus magus*

Первый обезболивающий препарат на основе  $\omega$ -конотоксинов был создан после двадцатилетних исследований и получил название «Зиконотид» («Приалт») (рис. 5.11, 5.12). В конце 2004 года «Приалт» был разрешен к производству и клиническому применению в США, а несколькими месяцами позже – в Европе. Название «Зиконотид» чаще используется для его активной субстанции – полученного с помощью пептидного синтеза  $\omega$ -конотоксина.

Клинические исследования синтетического  $\omega$ -конотоксина выполнялись фармацевтической компанией Neurex (филиал Elan Pharmaceutica). Он оказался приблизительно в 1000 раз более мощным анальгетиком, чем морфин. Эти исследо-



Рис. 5.11. Препарат «Приалт» и точка приложения его действия в нервной системе (Wikipedia Commons)



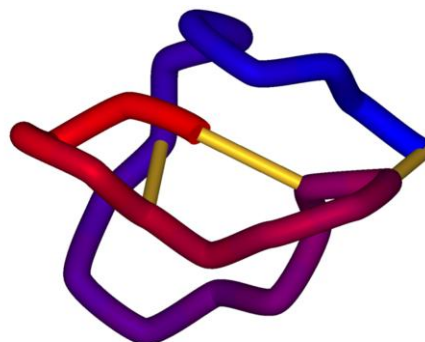


Рис. 5.12. Зиконотид. Схематическая диаграмма трехмерной структуры  $\omega$ -конотоксина MVIIA. Структура окрашена от N-конца (синий) к C-концу (красный), отдельно показаны дисульфидные связи

вания показали его высокую эффективность при тяжелых хронических болях, в том числе фантомных. «Зиконотид», в отличие от морфина, не обладает галлюциногенным эффектом и не вызывает привыкания.

Выраженность побочных эффектов и низкая эффективность при пероральном или внутривенном введении обуславливают необходимость введения зиконотида интратекально<sup>47</sup> (то есть непосредственно в спинномозговую жидкость). Все это повышает стоимость лечения и включает в себя дополнительные риски. Поэтому использование зиконотида, как правило, рекомендовано только для купирования тяжелой хронической боли у пациентов, для которых интратекальная терапия оправдана и другие лекарства, такие как системные анальгетики или морфин, не эффективны, либо нежелательны. Зиконотид также противопоказан для пациентов с психическими расстройствами, поскольку они более восприимчивы к побочным эффектам.

### 5.2.2. Пассивно-ядовитые брюхоногие моллюски

Многие брюхоногие моллюски лишены ранящего ядовитого аппарата, но содержат в своем теле сильные яды, локализация которых может варьировать. У большинства видов ядовитые вещества обнаруживаются в пищеварительном тракте, причем некоторые из них могут быть экзогенного происхождения. Ядовитые пищеварительные железы имеются у моллюсков, относящихся к сем. Buccinidae, Turbinidae, Aplysiidae, и у некоторых голожаберных моллюсков. У других, например Murex, Thais, Buccinum, токсические вещества вырабатываются гипобранхиальными железами. У заднежаберных моллюсков в связи с редукцией защитного панциря (раковины) наблюдается выделение специальными кожными железами секрета, токсичного для хищников. Таким образом, брюхоногие демонстрируют разнообразные механизмы адаптации с использованием средств химической защиты. Из гипобранхиальных желез морских брюхоногих были выделены

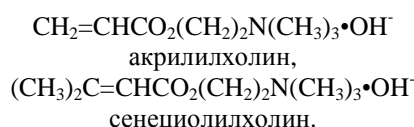
<sup>47</sup> Введение лекарственного вещества непосредственно в ликвор (субарахноидальное пространство) применяют для спинномозговой анестезии, а также в тех случаях, когда необходимо создать высокую концентрацию вещества непосредственно в центральной нервной системе.

различные производные холина: *мурексин*, *сенециолилхолин*, *акрилилхолин*. Гипобранхиальные железы Murex давно известны как источник пурпура. Однако в этих железах содержатся также вещества, токсичные для тепло- и холоднокровных животных. Холстед сообщает, что в Триесте, на побережье Адриатического моря, было зарегистрировано отравление 43 человек, съевших *Murex brandaris*. Отравление характеризовалось тяжелым гастроэнтеритом, наблюдались судороги. Другие виды Murex, традиционно употреблявшиеся в пищу в Европе и Азии, были не токсичны. Из гипобранхиальных желез мурекса выделен токсин, названный мурексином:



Инъекция мурексина мышам вызывает у них мускульный паралич и остановку дыхания. Впоследствии мурексин был синтезирован, вещество было названо уроканилхолином. В настоящее время мурексин выделен из гипобранхиальных желез *M. trunculus*, *M. fulvescetus*, *Tritona liacrinacea* и др.

Были выделены и другие эфиры холина: сенециолилхолин из гипобранхиальных желез *Thais floridana* (сем. Muricidae) и акрилилхолин из *Buccinum undatum* (сем. Buccinidae):



Содержание этих веществ в гипобранхиальных железах может достигать 1–5 мг/г массы железа. По своему физиологическому действию мурексин и его аналоги подобны ацетилхолину. Они вызывают падение АД, брадикардию, стимулируют дыхание и моторику кишечника, усиливают слюноотделение и т.д. Токсичность мурексина зависит от способа его введения. Так,  $DL_{50}$  (мг/кг) для мышей при внутривенном введении составляет 8.1–8.7, при подкожном – 50, а при приеме внутрь – 1.



Рис. 5.13. *Babylonia japonica* (Wikipedia Commons)

Дадим более подробную токсикологическую характеристику представителей некоторых семейств пассивно-ядовитых брюхоногих моллюсков.

**Сем. Buccinidae.** Моллюск *Babylonia japonica* (рис. 5.13) довольно широко распространен на побережье Японии и употребляется в пищу. Иногда бабилония становится ядовитой, две массовые вспышки отравления была зарегистрированы в Японии в 1957 и

1965 гг. Симптомы отравления включали зрительные расстройства, мидриаз, метеоризм, сухость во рту, запоры, рвоту.

Японские исследователи выделили токсическое начало из гомогената пищеварительного тракта моллюска, собранного в заливе Суруга, и в 1972 г. получили токсин в кристаллическом виде. Токсин, названный *суругатоксин*, имеет  $M_r$  684.40 и молекулярную формулу  $C_{25}H_{26}BrN_5O_{13}$ . Молекула состоит из фрагментов броминдола, птеридина и миоинозита (рис. 5.14):

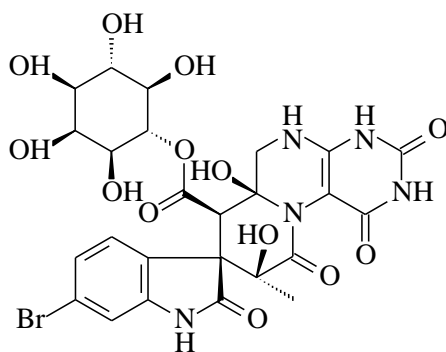


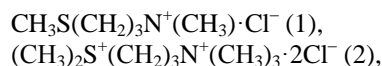
Рис. 5.14. Суругатоксин

Токсичность моллюсков залива Суруга имела сезонные колебания: максимальные значения наблюдались в период с июля по сентябрь, когда температура воды достигала 25°C. После 1978 г. токсичные моллюски практически исчезли, что сделало почти невозможным дальнейшее изучение суругатоксина и его дериватов.

Изучение его свойств показало, что это сильный ганглиоблокатор. Внутривенное введение токсина (50 нмоль/кг) наркотизированным кошкам вызывало длительную (1–2 ч) гипотензию, не предупреждающуюся атропином. Он эффективно блокировал прессорные и депрессорные сосудистые реакции, вызванные введением 1,1-диметил-4-фенилпиперазина или стимуляцией чревного и блуждающего нервов. Внутривенное введение суругатоксина в дозе 12.5 нмоль/кг в верхний шейный ганглий кошки тормозило сокращение мигательной перепонки глаза, вызванное электрической стимуляцией преганглионарных волокон. Эти данные указывают, что токсин избирательно блокирует ганглионарные холинорецепторы. Суругатоксин локализуется только в пищеварительных органах моллюска и практически отсутствует в мышцах и других внутренних органах. Некоторые исследователи считают, что он накапливается в моллюсках в результате инфицирования их грамположительными бактериями, выделенными из осадков морского дна в районе, где обитают ядовитые моллюски. Из этих бактерий также удалось получить токсин, близкий по своим свойствам к суругатоксину, но пока химически не идентифицированный.

Имеются сообщения, что в пищеварительных железах моллюсков *V. japonica*, обитающих в заливе Вакаса, обнаружен тетродотоксин, ранее в тканях брюхоногих не встречавшийся. Интересно, что в мидиях, собранных в этом заливе, ТТХ отсутствовал, что позволяет исключить возможность аккумуляции ТТХ в *V. japonica* по пищевым цепям.

**Семейство Turbinidae.** Крупные моллюски этого семейства добываются в основном из-за перламутра высокого качества. Некоторые виды (*T. argyrostoma*, *T. marmorata*) могут вызывать пищевые отравления, которые по клинической картине сходны с отравлением сигуатерой (см. гл. 15) или сакситоксином (см. гл. 1). Кроме того, из пищеварительных желез *Turbo* sp. были выделены серосодержащие амины



а также хлорид кандидина



Соединения (1) и (2) в дозе 6 мкг/г при внутрибрюшном введении мышам вызывают смерть в течение 20 мин и по своим фармакодинамическим характеристикам близки к ТТХ. Кандидин менее токсичен ( $\text{DL}_{50} = 8$  мкг/г), по фармакологическим свойствам близок к тетрамину.

**Семейство Aplysiidae.** Морские зайцы, или аплизии известны как ядовитые моллюски очень давно. Однако документированных данных об отравлениях человека нет. Моллюски испускают неприятный запах, при контакте с кожными поверхностями они не вызывают токсических эффектов, однако манипулирование с экстрактами (очистка и т.д.) приводит к отекам и гиперемии слизистых носа и полости рта, а также вызывает образование медленно заживающих язв на коже.

Для защиты морской заяц действует практически так же как каракатица, использует красновато-пурпурные чернила, которые выпускает из мантийной полости (рис. 5.15). В чернилах моллюска, помимо красящего пигмента, есть еще белое слизистое вещество опалин, эффективно блокирующее обоняние хищника. Еще Флюри (1915) наблюдал, что секрет гипобранхиальных желез аплизий парализует беспозвоночных (кишечнополостных, аннелид, моллюсков, ракообразных), а также рыб. Однако местное воспалительное действие этого секрета было



Рис. 5.15. *Aplysia californica*, выбрасывающая чернильную жидкость (Wikipedia Commons)

слабым. Более токсичное соединение получено из ацетоновых вытяжек пищеварительных желез аплизий; оно вызывает у мышей при внутрибрюшинном введении атаксию, судороги, остановку дыхания и смерть. Это токсическое вещество было названо аплизин. Позднее японские исследователи выделили из ацетоновых экстрактов пищеварительных желез индивидуальные токсины, являющиеся бромсодержащими сесквитерпенами, – *аплизин*, *аплизинол* и *дебромаплизин*. Эти же вещества были обнаружены у красных водорослей *Laurencia*, которыми питаются аплизии, что указывает на экзогенную природу аплизина и его аналогов. При изучении аплизий, обитающих у побережья Гавайских островов, Шойер и его сотрудники обнаружили два новых токсина, получивших название аплизиатоксин (рис. 5.16) и дебромаплизиатоксин:

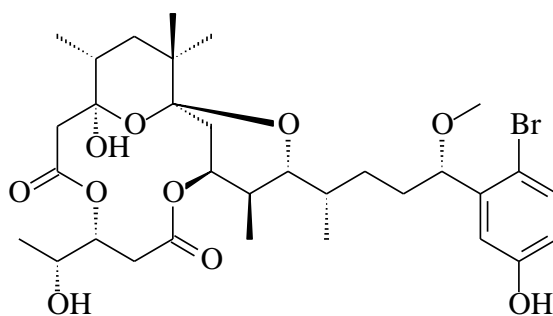


Рис. 5.16. Аплизиатоксин

Оба соединения – кристаллические вещества, ограниченно растворимые в полярных растворителях. Из 50 кг свежих аплизий было получено 12 г чистого токсина ( $C_{26}H_{35}BrO_{10}$ ),  $M_r$  587.45. Смесь аплизиатоксина и дебромаплизиатоксина имела  $DL_{50}$  0.3 мг/кг (мыши, внутрибрюшинно). В сентябре 1994 г. на Гавайях была вспышка пищевых отравлений, ассоциировавшихся с красной водорослью *Gracilaria coronopifolia*. Из экстрактов водорослей были выделены и идентифицированы аплизиатоксин и дебромаплизиатоксин. Это первый случай пищевого отравления, вызванного этими соединениями.

Имеются сведения, что аплизиатоксин из гавайских аплизий *Stylocheilus longicauda* обладает свойствами опухолевого промотора и активирует протеинкиназу. Кроме того, из *S. longicauda* был выделен компонент, отличающийся по своей структуре от аплизиатоксинов: третичный амид, состоящий из метоксиолефиновой  $C_{14}$ -кислоты и метил(2-хлор-3-циклогексил-2-пропенил)амин.

**Отряд Nudibranchia.** Некоторые голожаберные моллюски содержат в себе токсины. Водные экстракты, полученные из пищеварительных желез *Cadina flavomaculata*, *Doriopsilla albopunctata*, *Anisodoris nobilis*, вызывают смерть у мышей при внутрибрюшинном введении в течение 4–72 ч и у крабов *Pachygrapsis* и *Hemigrapsis* в течение 2.5 ч. Химическими и биологическими методами в экстрактах обнаружен гистамин. Дальнейшая очистка экстракта из *A. nobilis* позволила получить активный компонент с молекулярной массой ~ 8000. Токсин вызывает летаргию и брадикардию у мышей. При введении токсина наркотизированным кошкам развивается длительная (более 60 мин) брадикардия и гипотензия. Токсин не является белком, что доказывается его термостабильностью и устойчивостью к протеолитическим ферментам.





Рис. 5.17. Годовалая ахатина и месячный детёныш (Wikipedia Commons)

**Семейство Achatinidae.** Одна из наиболее крупных наземных улиток ахатина (*Achatina fulica*) (рис. 5.17) издавна применяется населением Нигерии как традиционное средство народной медицины. Экстракты из ноги этого моллюска применяют при угрожающих абортах, дисменорее; при конъюнктивитах закапывают в глаз жидкость, выделенную из моллюска. Кроме того, экстракты ахатины оказывают седативное действие и снижают АД.

Экспериментальное изучение экстракта ахатины показало, что в нем содержится термостабильное вещество, вызывающее падение АД, истощение тканевых депо катехоламинов, пролонгирующее наркотический сон у мышей. Ахатина может представлять интерес как природный источник фармакологически активных веществ.

**Моллюски, выделяющие ядовитую слизь.** Слизь, выделяемая некоторыми заднежаберными моллюсками (Opisthobranchia), оказывается довольно эффективным защитным средством. Она может обладать неприятным вкусом или едкими свойствами, в последнем случае в ее состав нередко входит серная кислота, а pH слизи ~ 1. *Охупое panamensis*, обитающий в мангровых болотах Мексики, способен выделять слизь в течение нескольких часов. У небольших рыб, помещенных в морскую воду, содержащую эту слизь, наблюдаются нарушение координации движений, судорожные сокращения тела и смерть. Омары быстро умирают в присутствии заднежаберного моллюска *Phyllidia varicosa*, также интенсивно выделяющего слизь. Креветки и мелкие рыбы, помещенные в воду, содержащую 2%-ный раствор слизи, умирали в интервале времени от нескольких минут до нескольких часов. Слизь имеет резкий неприятный запах. Активное начало слизи – сесквитерпен, обладающий изонитрильной группой, редко встречающейся в природных соединениях.

### 5.3. ЯД ГОЛОВОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ (Cephalopoda)

Головоногие, или цефалоподы (лат. Cephalopoda, от др.-греч. κεφαλή «голова» и др.-греч. ποῦς «нога») – класс моллюсков, характеризующийся двусторонней симметрией и 8-ю, 10-ю или большим количеством щупалец вокруг головы, развившихся из «ноги» моллюсков. Головоногие стали доминирующей группой моллюсков во время ордовикского периода и были представлены примитивными наутилоидами. В наше время известны 2 современных подкласса: Coleoidea, который включает в себя осьминогов, кальмаров, каракатиц, и Nautiloidea, представленный наутилусами (*Nautilus*) и *Allonautilus*. У представителей подкласса Coleoidea, или «двужаберные», раковина редуцирована, либо полностью отсутствует, тогда как у представителей Nautiloidea внешняя раковина остается. Головоногие имеют наиболее совершенную из беспозвоночных кровеносную систему и наиболее развитую нервную систему. Описаны приблизительно 800 современных видов (ископаемых видов насчитывают около 11 тыс.), в России – 70 видов. Головоногие – одна из наиболее высокоорганизованных групп беспозвоночных животных, хищнический образ жизни которых наложил отпечаток на их строение (рис. 5.18).



Рис. 5.18. Обыкновенный осьминог *Octopus vulgaris* (Wikipedia Commons)

**Ядовитый аппарат.** Мускулистая глотка головоногих вооружена мощным роговым клювом, способным не только прокусить кожу рыбы, но без труда проткнуть панцирь крабов или раковину моллюска. При этом некоторые осьминоги и по крайней мере один вид каракатиц вводят в тело жертвы яд, содержащийся в задних слюнных железах (рис. 5.19). Яд быстро обездвиживает жертву, что весьма важно для головоногих, обладающих узким пищеводом и поэтому вынужденных питаться предварительно мелко истертой пищей. Для этой цели у них служит радула.

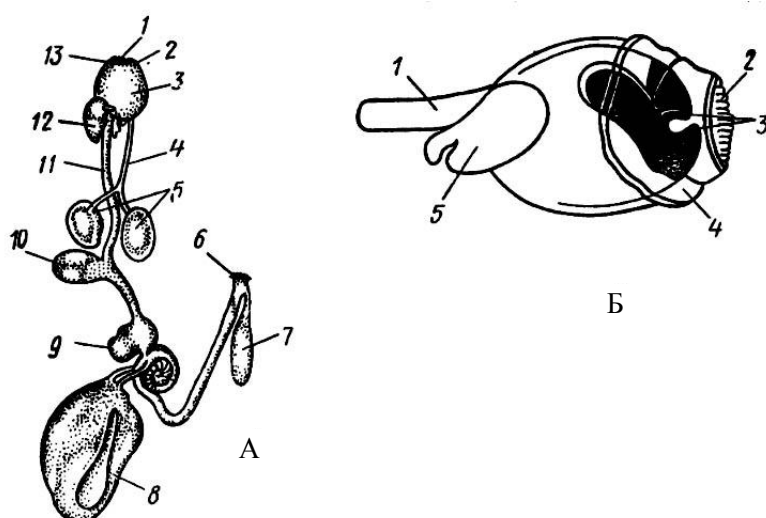


Рис. 5.19. Схема строения пищеварительной системы осьминога *Eledone* (Холстед, 1965): А – анатомия пищеварительного тракта: 1 – ротовое отверстие; 2 – вентральная челюсть; 3 – буккальная масса; 4 – проток слюнных желез; 5 – задние слюнные железы (ядовитые); 6 – анус; 7 – чернильный мешок; 8 – печень; 9 – желудок; 10 – зуб; 11 – пищевод; 12 – передние слюнные железы; 13 – дорзальная челюсть; Б – схема буккальной массы: 1 – пищевод; 2 – ротовое отверстие; 3 – челюсти; 4 – кольцевая мышца; 5 – передняя слюнная железа

**Клиника отравления.** Укус осьминогов вызывает очень сильную боль и нередко может оказаться для человека смертельным. В Австралии опасен осьминог *Haralochlaena maculosa*, который, несмотря на небольшие размеры (около 10 см), обладает ядом, способным убить человека. Наиболее грозным симптомом является нарушение функций дыхания, на восстановление которого и должны быть направлены основные усилия патогенетической терапии отравления ядом осьминогов.

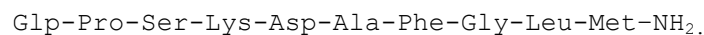
### 5.3.1. Химический состав и механизм действия яда

Химическая природа ядов исследована только для некоторых видов головоногих моллюсков. В яде обнаружены биогенные амины (тирамин, дофамин, норадреналин, гистамин), токсические белки и небелковые токсины.

***Octopus sp. u Sepia sp.* Цефалотоксины** – одни из первых белковых токсинов, выделенных из задних слюнных желез каракатицы *Sepia officinalis* и осьминогов *Octopus vulgaris*, *O. macropus*. Они токсичны в основном для ракообразных и обладают сильным паралитическим действием на крабов. Существуют видовые отличия в химической структуре цефалотоксинов. Так, из задних слюнных желез осьминога *Octopus vulgaris* ионообменной хроматографией на Sephadex G-200 были выделены два компонента ( $\alpha$ - и  $\beta$ -цефалотоксины) с  $M_r$  91200 и 33900 соответственно. Эти цефалотоксины являются гликопротеинами, содержащими приблизительно 50% углеводов. Из слюнных желез каракатицы *Sepia esculenta* выделен токсический гликопротеин SE-цефалотоксин, его  $LD_{50}$  для краба составляет 2 мкг/кг. SE-цефалотоксин состоит из 1052 аминокислотных остатков, содержит 10 дисульфидных связей.

***Eledone cirrhosa***. Токсический белок, близкий по фармакологическим характеристикам к цефалотоксину, выделен из задних слюнных желез осьминога *Eledone cirrhosa*. Он имеет молекулярную массу  $\sim 70000$ . Как и цефалотоксин, токсин *E. cirrhosa* вызывает вялый паралич у ракообразных. На нервно-мышечном препарате омара Nephrops токсин в концентрации 1 мг белка/мл вызывает блок нервно-мышечного проведения на непрямую стимуляцию, снижение амплитуды МПКП и ПКП, что указывает на постсинаптический характер его действия. Проведение возбуждения по нерву в этих экспериментальных условиях токсином не нарушается.

Другим токсином белковой природы, выделенным из задних слюнных желез осьминогов *Eledone moschata* и *E. aldrovandi*, является ундекапептид **эледозин** (рис. 5.20, 5.21):



C-концевая последовательность эледозина имеет сходство с *физалемин*ом – нейротоксином из кожных желез амфибии *Physalaemus fuscomaculatus* и *веществом P* – медиатором болевой импульсации в задних корешках спинного мозга млекопитающих.

Правильность первичной структуры эледозина подтверждена его синтезом. Эледозин вызывает сокращение гладкой мускулатуры изолированных органов млекопитающих и амфибий. Эледозин – сильный вазодилататор и гипотензивный агент, внутривенное введение токсина кошкам вызывает выраженное снижение АД. У собак эледозин в дозе 25–100 мкг/кг усиливает моторику желудочно-кишечного тракта и выделение пищеварительных соков. Менее чувствительны в этом отношении грызуны – крысы и кролики. В микродозах (5 мкг) эледозин, введенный в боковой желудочек мозга крысы, вызывает резкие изменения в поведении животных и характере электрической активности мозга. У животных наблюдается угнетение исследовательской реакции и груминга с последующим развитием кататонии и тремора. В ЭЭГ имеет место развитие медленноволновой полиморфной активности, перемежающейся веретенообразными колебаниями.

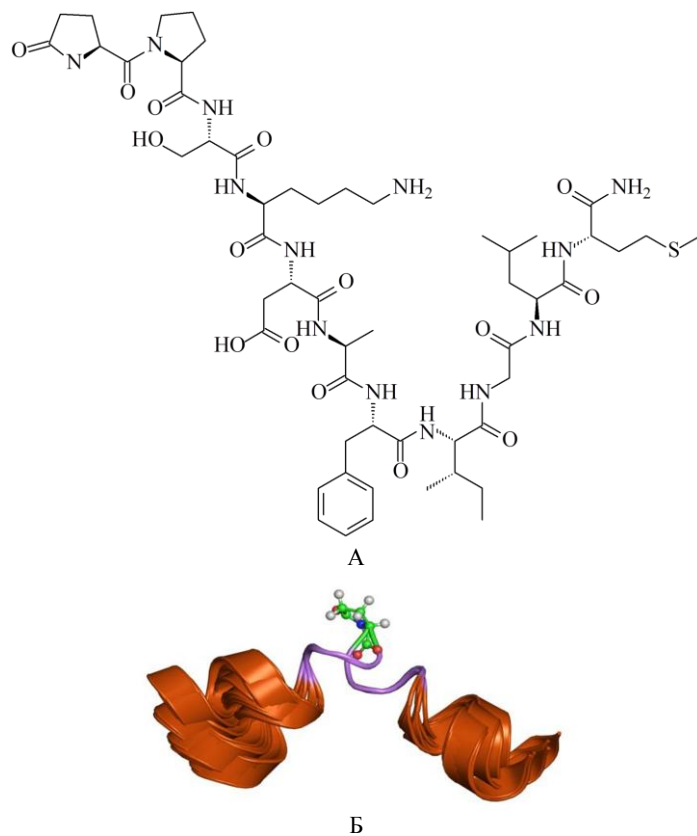


Рис. 5.20. Первичная (А) и пространственная (Б) структуры эледозина

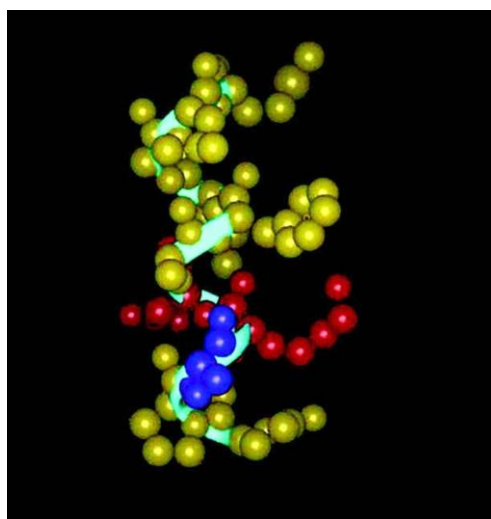


Рис. 5.21. Графическое представление липид-связанной конформации эледозина. Пептидный скелет показан синим. Ионные остатки окрашены в красный цвет, полярные остатки – в фиолетовый, гидрофобные остатки желтого цвета. Четко виден спиральный сегмент (Wikipedia Commons)



Рис. 5.22. Синекольчатый осьминог *Hapalochlaena maculosa* (Wikipedia Commons)

Кроме того, экстракт слюнных желез осьминога *Eledone cirrhosa* в очень низких концентрациях обладает гемолитической активностью на эритроцитах млекопитающих. Гемолиз тормозится химотрипсином, трипсин был менее эффективен. Токсичность экстракта  $DL_{50}$  для саранчи *Schistocerca gregaria* составила 378.4 мкг/г. По-видимому это первое свидетельство наличия в слюне гемолитической и инсектицидной активности. С помощью ВЭЖХ с обращенной фазой эти фракции могут быть разделены.

**Синекольчатые осьминоги** (лат. *Hapalochlaena*) – род осьминогов, включающий в себя три (возможно четыре) вида, обитающих в прибрежных водах Тихого Океана, от Японии до Австралии (в основном вокруг южного побережья Нового Южного Уэльса и Южной Австралии).

Синекольчатых осьминогов легко распознать по характерным синим и чёрным кольцам и жёлтой коже (рис. 5.22). Когда осьминог раздражён или испуган, на коже проступают коричневые участки, а синие кольца приобретают более яркую окраску и переливаются. Обычно на теле осьминога насчитывают 50–60 колец. Питаются они крабами, раками-отшельниками и креветками. Будучи потревоженными или обороняясь, нападают на противника, включая человека. Секрет передних слюнных желез используется не только для переваривания пищи, но способен парализовать крабов. В задних слюнных железах содержится макулотоксин, а также серотонин, гиалуронидаза, тирамин, гистамин, триптамин, октопамин, таурин, ацетилхолин и дофамин. Основной нейротоксический компонент яда синекольчатых осьминогов – *макулотоксин*, который по многим параметрам иденти-

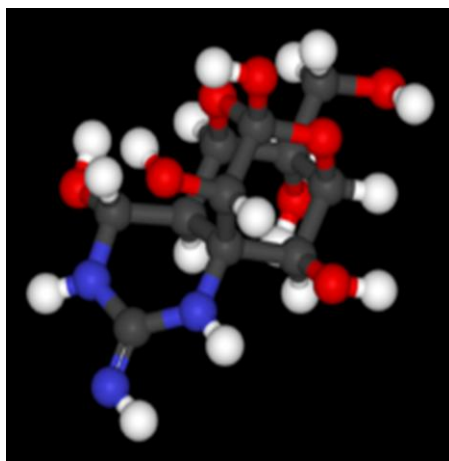
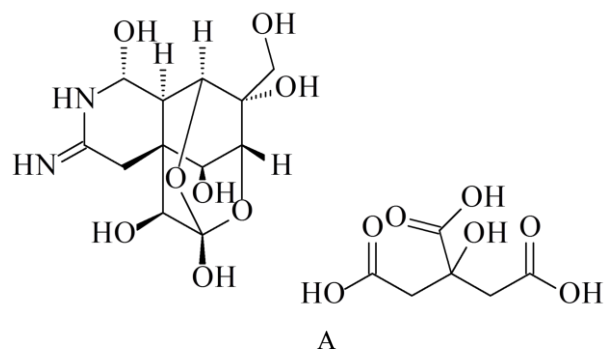


Рис. 5.23. Макулотоксин: А – молекулярная структура; Б – 3D изображение (Wikipedia Commons)

чен тетродотоксину (рис. 5.23). Известно, что тетродотоксин<sup>48</sup> блокирует натриевые каналы, вызывая паралич двигательных отделов нервной системы, остановку дыхания и, как следствие, – остановку сердца из-за нехватки кислорода.

Как и ТТХ, макулотоксин специфично взаимодействует с ТТХ-чувствительными каналами в мышцах, а также в периферической и центральной нервной системе в наномолярных (5–15 нМ) концентрациях. К ТТХ-резистентным нейронам сердечной мышцы и ТТХ, и макулотоксин имеют меньшее сродство. Молекулярная масса макулотоксина 511.4, молекулярная формула  $C_{11}H_{17}N_3O_8 \cdot C_6H_8O_7$ . По некоторым физико-химическим свойствам макулотоксин очень близок с ТТХ. Это сходство подтверждается и его физиологическим действием. Внутривенное введение макулотоксина животным вызывает беспокойство, атаксию, затруднение дыхания и смерть, которой предшествует судорожный припадок – следствие асфиксии. Электрофизиологическими методами показано, что макулотоксин в концентрации  $10^{-5}$  г/мл избирательно блокирует входящий натриевый ток в гигантском аксоне кальмара, не влияя на стационарный калиевый ток, и не

<sup>48</sup> Подробнее см. главу 15.

ингибирует воротный ток натриевых каналов. Макулотоксин наиболее активен в катионной форме, так как его блокирующее действие усиливается при повышении pH от 8 до 9.

Вместе с тем существуют и определенные различия в характере действия макулотоксина и ТТХ на возбудимые мембраны. Так, увеличение концентрации натрия в растворе ингибирует эффект действия макулотоксина, но не тормозит в таких же концентрациях действие ТТХ. Эти и некоторые другие различия позволяют ряду исследователей отрицать идентичность макулотоксина и ТТХ. Полагают, что яд синекольчатого осьминога вырабатывается симбиотическими бактериями, обитающими в слюнных железах осьминога.

Эти осьминоги обладают достаточно агрессивным характером и признаются одними из самых ядовитых животных в мире. Несмотря на небольшой размер (12–20 см), запаса макулотоксина у взрослого осьминога весом 25 г достаточно для поражения (вплоть до летального исхода) 10 взрослых людей.

Симптомы отравления обычно появляются через 15–30 минут после воздействия токсина, но их наступление может наблюдаться и спустя четыре часа. Первая стадия отравления характеризуется онемением конечностей, парестезией (покалыванием губ, языка, лица), головной болью, головокружением, потливостью, слюнотечением, рвотой, тошнотой, диареей, болями в животе, моторной дисфункцией, слабостью, затруднением речи.

На второй стадии отравления наблюдается развитие паралича во всем теле, паралич дыхательных мышц, затруднение дыхания, нарушение сердечного ритма, гипотония, кома, судороги, остановка дыхания, смерть, которая может наступить в период от 20 минут до 24 часов после укуса. Симптомы второй стадии обычно наблюдаются в первые 4–8 часов. Поскольку не существует противоядия против тетродотоксина или макулотоксина, особую роль имеет своевременная неспецифическая терапия. Важное значение имеет поддержание функции внешнего дыхания (искусственное дыхание) и артериального давления (альфа-адренергические агонисты и другие средства борьбы с гипотензией). Для пострадавших, выживших в течение 24 часов – прогноз благоприятный.

Кроме макулотоксина в задних слюнных железах *H. maculosa* имеется минорный компонент хапалотоксин, несколько отличающийся по физико-химическим свойствам от макулотоксина. Он также вызывает паралич дыхательной мускулатуры у мышей, но его токсическая доза выше – 150 мкг/кг (против 50 мкг/кг для макулотоксина).

Головоногие моллюски (осьминоги, каракатицы и кальмары) способны накапливать токсины, продуцируемые другими морскими организмами, например водорослями, кораллами и др. Таким образом, они сочетают в себе в токсинологическом плане особенности первично- и вторично-ядовитых животных. В число таких токсинов входят домоевая кислота и ее изомеры, сакситоксин и его производные, палитоксин<sup>49</sup>. Токсины, вызывающие паралитическое отравление моллюсками (paralytic shellfish toxins – PSTs), накапливаются в следующих органах и тканях:

пищеварительные железы >> почки > желудок > задние слюнные железы > жабры.

У головоногих отмечены высокие концентрации палитоксина – одного из самых опасных морских токсинов – около 900 мкг/кг.

---

<sup>49</sup> См. главы 1 и 3.



\* \* \*

Моллюски – интересная в токсикологическом плане группа беспозвоночных животных, привлекающая внимание людей с античности (пурпур) до наших дней ( $\omega$ -конотоксины). Среди биологически активных веществ, продуцируемых моллюсками, встречаются сильные токсины, например макулотоксин. С другой стороны, вторично-ядовитые моллюски, инфицированные динофлагеллятами, нередко являются продуктами питания, в связи с чем их изучение приобретает важное медицинское и экономическое значение. Не вызывает сомнений, что дальнейшее изучение биологически активных веществ моллюсков расширит наши знания о их роли в аллелохимических взаимодействиях.

## РЕМИПЕДИИ (Remipedia)

Предвиденное должно обнаружить.

*Лонгфелло*



Э. Геккель, 1904

## 6.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Ядовитые виды широко представлены в основных группах членистоногих и встречаются среди насекомых (Insecta), паукообразных (Arachnida) и многоножек (Myriapoda). И тем более удивительно, что ядовитые представители до самого последнего времени отсутствовали у ракообразных (Crustacea). Напомним, что Crustacea – крупная группа членистоногих, в настоящее время рассматриваемая в ранге подтипа. К ракообразным относятся такие широко известные животные, как крабы, омары, широкопалый речной рак, креветки и криль. В настоящее время известно более 73000 видов ракообразных (включая более 5 тыс. ископаемых видов), объединяемых в 1003 семейства, более 9500 родов, 42 отряда и 6 классов, среди которых Ремипедии (Remipedia)<sup>50</sup> – класс слепых ракообразных, найденных в морских анхиолиновых пещерах<sup>51</sup> в Австралии и Карибском море, а также на острове Лансароте (Канарские острова).

Впервые ремипедии были описаны в 1955 году как вымершие (ископаемый вид *Tesnusocaris goldichi* Brooks, каменноугольный период, палеозойская эра) (рис. 6.1), но после 1979 года было найдено несколько живых видов. В 1981 году ремипедии были выделены в отдельный класс.

В настоящий момент класс Remipedia включает один современный отряд Nestiopoda с 7 семействами. В 2013 году было установлено, что яд ремипедий содержит энзимы, а также нейротоксин, подобный яду пауков.



Рис. 6.1. Отпечаток *Tesnusocaris goldichi* (Wikipedia Commons)

Ремипедии внешне напоминают кольчатых червей, так как их длинное (до 45 мм) тело состоит из большого числа сегментов, снабженных одинаковыми гребными ножками (рис. 6.2, 6.3). Тело ремипедий делится на голову и туловище, состоящее из множества (до 42) сходных сегментов. На голове ремипедии находятся три пары придатков предротовых – предантенны и две пары антенн (антенны I и антенны II), мандибулы, две пары максилл и максиллипеды (ногочелюсти). Предантенны (фронтальные филаменты) – небольшие нерасчлененные выросты; возможно, придатки редуцировавшегося предантенного сегмента. Антенны I (антеннулы) состоят из основания и двух жгутовидных ветвей, несут многочисленные обонятельные щетинки (эстетаски).

<sup>50</sup> От лат. remigium – весла, pedis – ноги.

<sup>51</sup> В 1981 году Джил Ягер, биолог и аквалангист, сумела проникнуть в своеобразные анхиолиновые пещеры на Багамских островах. Эти пещеры в верхних горизонтах заполнены пресной водой, а в нижних – морской. В нижних горизонтах на глубине около 30 м в полной темноте и при очень низком содержании кислорода обитает своеобразная пещерная фауна, в составе которой обнаружены неизвестные ранее ракообразные.

Вторые антенны двуветвистые, укороченные, покрыты длинными щетинками и создают токи воды, возможно приносящие запахи к антеннулам. Мандибулы нерасчлененные, без жгутика (рис. 6.4).



Рис. 6.2. Внешний вид первого обнаруженного вида ремипедий *Speleonectes ondinae* (Scharm, Yager, 1986)



Рис. 6.3. Ремипедия *Speleonectes kakuki* с удаленными конечностями сегмента 10 для ДНК-анализа. Конечности сегмента 19 утеряны (Daenekas et al., 2009)

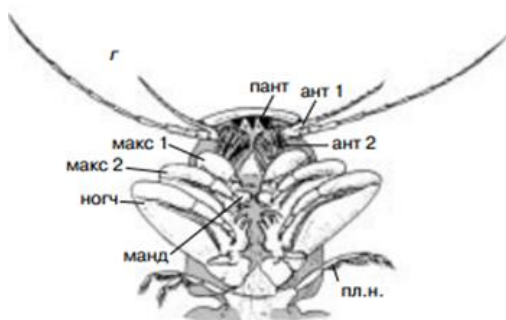


Рис. 6.4. Строение головного конца ремипедий с брюшной стороны. Обозначения: ант1 – первая пара антенн, ант2 – вторая пара антенн, манд – мандибула, макс1 – первая пара максилл, макс2 – вторая пара максилл, ногч – ногочелюсти, пант – предантенны, пл.н. – первая пара плавательных ножек (Малахов, 2001)

Максиллы и ногочелюсти одноветвистые, исходно, вероятно, семичлениковые, хотя часть члеников срастается. Часто несут хорошо развитые выросты – эндиты. На конце максилл I находится коготь, на котором открывается отверстие крупной железы (рис. 6.5). Поскольку максиллами I ремипедии могут кусать жертв, предполагается, что секрет железы содержит яды или пищеварительные ферменты, которые вводятся в тело жертвы. Высказывалась гипотеза, что токсином может служить гемоцианин, который под влиянием других компонентов секрета железы, с которыми он смешивается в особом резервуаре, превращается в токсичную фенолоксидазу.

Глаза (в том числе науплиальный глаз) отсутствуют. Плавательные туловищные ножки крепятся латерально и направлены в сторону от тела. Конечности двуветвистые, членистые; экзоподит и эндоподит сходного строения, покрыты длинными щетинками. Тельсон отсутствует, к анальному сегменту крепятся нерасчлененные уropоды. Плавают ремипедии спиной вниз, как правило довольно

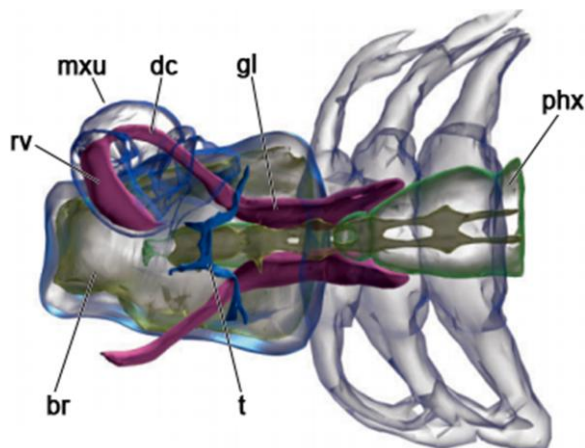


Рис. 6.5. Трехмерная реконструкция ремипедии *Speleonectes tulumensis* (Юкатан, Мексика). Вентральная сторона. Система доставки яда окрашена фиолетовым. Обозначения: br – мозг, rv – резервуар с ядом, mxu – максилла, dc – проток, gl – железа, phx – глотка, t – тенториум (von Reumont et al., 2013)

медленно. Большую часть времени туловищные конечности создают фильтрационные токи воды, питание преимущественно фильтрационное. Однако могут также быть хищниками и падальщиками (прямыми наблюдениями это подтверждено для нескольких видов). Все виды ремипедий были найдены исключительно в морских пещерах и тоннелях. Эти пещеры часто имеют выход к морю, или через подземные трубы связаны с океаном. Все нектиподы являются слепыми и беловато-прозрачного цвета. Потеря зрения и пигментация – типичные приспособления к жизни в подземных условиях.

## 6.2. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ЯДА

Яд ремипедий представлен тремя основными группами биологически активных веществ: протеиназами, хитиназами и агатоксин-подобным нейротоксином, вместе составляющими более 90% всего ядовитого секрета (рис. 6.6).

Протеиназы представлены пептидазой S1 (PS1), которая относится к семейству сериновых протеаз, катализирующих реакции расщепления пептидных связей белков (CO–NH) с образованием пептидов или свободных аминокислот и участвующих в различных биологических процессах от пищеварения до иммунных реакций. Класс сериновых пептидаз принято делить на 2 семейства: химотрипсина и субтилизина.

Это подразделение основано, прежде всего, на различиях аминокислотных последовательностей в области активного центра. Пептидазы химотрипсинового типа, составляющие семейство S1 (сходные с химотрипсином по пространственной структуре, строению и механизму действия каталитического центра), характерны для животных и очень редко встречаются у растений, простейших, грибов и бактерий. Они встречаются у головоногих, перепончатокрылых, рептилий и млекопитающих.

Вторая группа – хитиназы – ферменты, катализирующие деградацию хитина, действующие наиболее часто как эндоферменты, отщепляя хитоолигосахариды

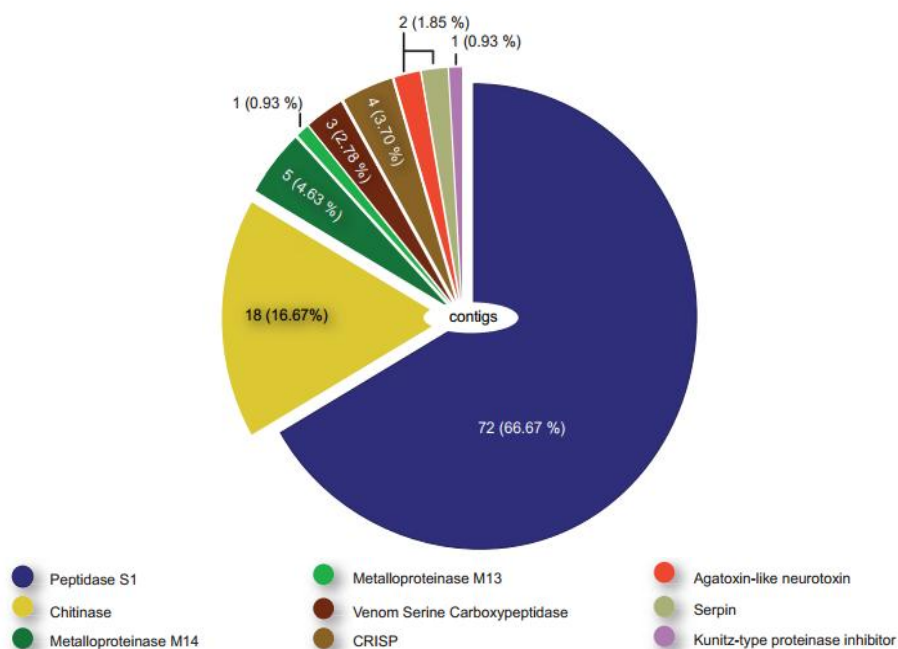


Рис. 6.6. Транскриптомный<sup>52</sup> профиль экспрессируемых генов токсинов в ядовитой железе ремипедии. Распределение разнообразия контигов<sup>53</sup> для каждого типа токсинов (von Reumont et al., 2013)

длинной в 2–6 N-ацетилглюкозаминовых остатков. Хитиназы относятся к группе О-гликозидных гидролаз, разрушающих гликозидную связь между двумя или более углеводными остатками или между углеводным и неуглеводным компонентами.

Все организмы, содержащие хитин, продуцируют хитиназы, которые, вероятно, необходимы им для морфогенеза клеточной стенки или экзоскелета. Хитиназы встречаются у головоногих, сикарид, терапозид, пауков, паразитоидных перепончатокрылых, в нематоцистах кишечнорастных, в слюне кровососущих насекомых.

Эти ферменты играют несомненно важную роль в яде ремипедий, подготавливая ткани жертвы к перевариванию, однако вряд ли вызывают быстрое обездвиживание добычи. Паралитическую функцию выполняет другой компонент яда,

<sup>52</sup> Транскриптом – совокупность всех транскриптов, синтезируемых одной клеткой или группой клеток, включая мРНК и некодирующие РНК. Понятие «транскриптом» может обозначать полный набор транскриптов в данном организме или специфический набор транскриптов (молекул РНК), представленный в клетках определенного типа. В отличие от генома, который, как правило, одинаков для всех клеток одной линии, транскриптом может сильно меняться в зависимости от условий окружающей среды. Ввиду того, что понятие транскриптом включает в себя все транскрипты данной клетки, он также отражает профиль экспрессии генов в данный момент времени.

<sup>53</sup> Контиг (contig от англ. contiguous) – набор перекрывающихся фрагментов ДНК, которые в совокупности представляют собой консенсусную область ДНК.

имеющий сходство с  $\beta/\delta$ -агатаксинами из яда паука *Agelena orientalis*. Эти вещества обладают уникальным потенциал-зависимым действием на  $\text{Na}^+$ -каналы насекомых с одновременным влиянием на процессы активации и инактивации каналов.

Наконец, оставшиеся токсины – это металлопротеазы, сериновая карбокси-пептидаза, ингибиторы сериновых протеаз (группы серпинов семейства рекомбинантных полипептидов Кунитца), богатый цистеином белок, родственный аллергену 5 (антигену 5) – основному аллергену яда перепончатокрылых. Смесь этих токсинов может способствовать повреждению тканей и модуляции активности ионных каналов.

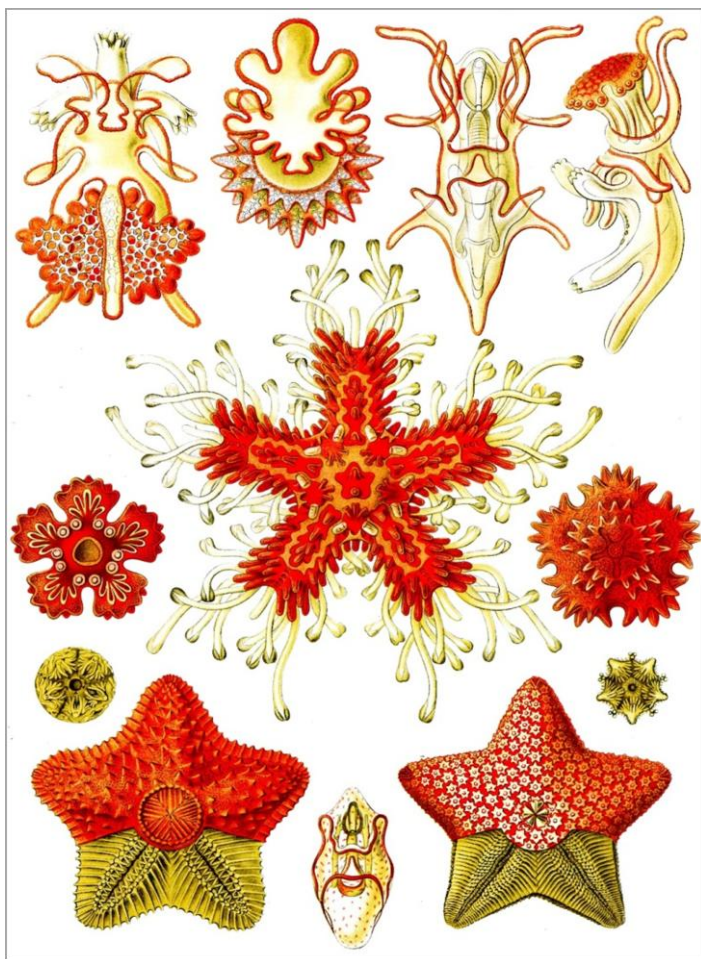
\* \* \*

Далеко не все вопросы анатомической организации членистоногих разрешены в настоящее время. Один из таких вопросов – число сегментов в составе головы членистоногих. До сих пор ведутся оживленные споры по вопросу о том, сколько же сегментов вошло в состав головы членистоногих. Вплоть до начала 80-х годов XX века не были известны какие-либо членистоногие, у которых были бы найдены конечности, соответствующие протоцеребруму – одному из отделов головного мозга членистоногих. Лишь в эмбриональном развитии многоножек были описаны рудиментарные бугорки – предантенны. Поэтому представления о том, что в состав головы членистоногих входит предантенный сегмент, оставались гипотетическими. Находка ремипедий – единственной группы членистоногих, имеющих во взрослом состоянии предантенны, подтверждает теоретические построения сравнительных анатомов о вхождении в состав головы членистоногих предантенного сегмента.

## ИГЛОКОЖИЕ (Echinodermata)

По своей природе многие морские животные, совсем как растения, например, голотурия, морское легкое, морская звезда, и надо добавить, нигде нет ничего такого, чего не рождалось бы и в море.

*Плиний Старший*



Э. Геккель, 1904



**И**глокожие (Echinodermata) – тип исключительно морских донных животных, большей частью свободноживущих, реже сидячих, встречающихся на любых глубинах Мирового океана. Насчитываются около 7000 современных видов (в России – 400). Наряду с хордовыми, иглокожие относятся к ветви вторичноротых животных (Deuterostomia). Современными представителями типа являются морские звёзды, морские ежи, офиуры (змеехвостки), голотурии (морские огурцы) и морские лилии. В состав этого типа входят также приблизительно 13000 вымерших видов, которые процветали в морях, начиная с раннего кембрия.

Для взрослых иглокожих характерна радиальная, обычно пятилучевая симметрия тела, в то время как их личинки – билатерально-симметричные. Таким образом, иглокожие обладают вторично-приобретённой радиальной симметрией тела<sup>54</sup>. Все иглокожие проходят пятилучевую стадию развития, даже если в итоге вновь приобретают двустороннюю симметрию (морские огурцы, неправильные морские ежи). Многие морские лилии и некоторые морские звёзды обладают большим количеством рук, обычно кратным пяти. У некоторых офиур (*Gorgonocephalus arcticus*) руки ветвятся, образуя сложную древовидную структуру.

У взрослого иглокожего различают оральную сторону, на которой находится рот, и противоположную аборальную сторону, на которой обычно располагается анальное отверстие. Оральная сторона активно передвигающихся морских звёзд, офиур и морских ежей обращена к субстрату, по которому животное ползёт. Тело морских огурцов вытянуто в орально-аборальном направлении: на одном его конце располагается рот, а на другом – анус. Морские лилии ведут сидячий образ жизни, прикрепляясь к субстрату аборальной стороной.

Лучи (руки) иглокожего животного называются радиусами. На оральной стороне каждого радиуса обычно расположены амбулакральные ножки<sup>55</sup>, с помощью которых животное передвигается. Напротив радиусов находятся интеррадиусы. Внешнюю радиальную симметрию животного нарушает мадрепоровая пластинка, располагающаяся на одном из интеррадиусов.

---

<sup>54</sup> Это связано с тем, что в одной из самых важных групп регуляторных генов – кластере Нох – у иглокожих обнаружен разрыв с перестановкой. Характерным признаком типа иглокожих является особая судьба генов Нох1, Нох2 и Нох3. У иглокожих отрезок Нох-кластера, содержащий гены Нох1–Нох3, почему-то переместился из начала кластера в его конец. Он оказался позади генов Нох11/13, которые у полухордовых являются самыми задними. Более того, этот отрезок еще и перевернут: гены в нем расположены в порядке Нох3–Нох2–Нох1, а не Нох1–Нох2–Нох3, как было бы в исходном состоянии. Таким образом, произошло сразу два события: транслокация (перемещение фрагмента хромосомы) и инверсия (его переворачивание). Передние Нох-гены обладают той особенностью, что могут принимать участие в развитии головы (у позвоночных, например, они экспрессируются в продолговатом мозге). У животного с лучевой симметрией ни головы, ни головного мозга нет; нервная система иглокожих совершенствуется совсем по другим принципам.

<sup>55</sup> Амбулакральная система уникальна для всего царства животных. Это сообщающаяся с окружающей средой через каменистый канал и мадрепоровую пластинку сеть каналов, заполненная жидкостью, по составу близкой к морской воде. От радиальных амбулакральных каналов отходит множество амбулакральных ножек, у основания которых находятся ампулы – мышечные пузырьки, при сокращении которых ножка удлиняется. На конце ножки находится присоска. Амбулакральная система участвует в дыхании, передвижении и добывании пищи. Так, с помощью совместной работы множества амбулакральных ножек морская звезда может раскрыть раковину двусторчатого моллюска.



А



Б



В



Г

Рис. 7.1. Представители ядовитых иглокожих: А – морской еж *Strongylocentrotus purpuratus*; Б – морская звезда *Asterias amurensis*; В – голотурия *Cucumaria japonica*; Г – голотурия *Apostichopus japonicus*

Среди иглокожих Echinodermata по своим токсинологическим характеристикам основное внимание привлекают представители классов Echinoidea (морские ежи), Asteroidea (морские звезды) и Holothuroidea (голотурии) (рис. 7.1).

### 7.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРСКИХ ЕЖЕЙ (Echinoidea)

Морские ежи (Echinoidea) – класс иглокожих. Описаны около 940 современных видов (в России – 20). В ископаемом состоянии известны с ордовика. Тело морских ежей обычно почти сферическое, размером от 2–3 до 30 см; покрыто рядами известковых пластинок. Пластинки, как правило, соединены неподвижно и образуют плотный панцирь (скорлупу), не позволяющий ежу изменять форму. По форме тела (и некоторым иным признакам) морские ежи подразделяются на правильных и неправильных. У правильных ежей форма тела почти круглая, и построены они по строго радиальной пятилучевой симметрии. У неправильных ежей форма тела уплощённая, и у них различимы передний и задний концы тела.

С панцирем морских ежей подвижно соединены (при помощи суставной сумки с мышечными волокнами) иглы разнообразной длины. Длина колеблется от 1–2 мм (плоские ежи, Echinarachniidae) до 25–30 см (диадемовые ежи, Diadematidae).

Иглы зачастую служат морским ежам для передвижения, питания и защиты. У некоторых видов они ядовиты, так как соединены с особыми ядовитыми железами. Ядовитые виды (*Asthenosoma*, *Diadema*) распространены, в основном, в тропических и субтропических районах Индийского, Тихого и Атлантического океанов. Кроме игл, на поверхности панциря морских ежей сидят педицеллярии, которые у некоторых видов также снабжены ядовитыми железами (*Toxopneustes*, *Sphaerechinus*). Амбулакральная система обычна для иглокожих. У некоторых видов амбулакральные ножки наряду с иглами и педицелляриями принимают активное участие в процессе очищения панциря и питания. Рот у морских ежей расположен в центре нижней (оральной) стороны тела; анальное и половые отверстия – обычно в центре верхней (аборальной) стороны. У правильных морских ежей рот снабжен жевательным аппаратом (аристотелевым фонарем)<sup>56</sup>, служащим для соскрёбывания водорослей с камней. У неправильных морских ежей, питающихся детритом, жевательного аппарата нет. Широко распространены в океанах и морях с нормальной солёностью на глубинах до 7 км; отсутствуют в малосолёных Каспийском, Чёрном и частично Балтийском морях. Встречаются на коралловых рифах и в прибрежных водах, часто селясь в расщелинах и углублениях скал. Правильные морские ежи предпочитают скалистые поверхности, неправильные – мягкий и песчаный грунт. Практически всеядны. Рацион включает водоросли, губок, мшанок, асцидий и разнообразную падаль, а также моллюсков, мелких морских звёзд и даже других морских ежей. Живущие на мягком грунте виды заглатывают песок и ил, переваривая попадающие с ними мелкие организмы. Некоторые морские организмы используют морских ежей для защиты, прячась среди их игл: голотурии, офиуры, многощетинковые черви. Морские ежи служат пищей для омаров, морских звёзд, рыб, птиц, морских котиков. Главным естественным врагом морского ежа является калан. Количество съедаемых каланами ежей столь велико, что кишечник, брюшина и даже кости этих морских млекопитающих порой окрашиваются пигментами морских ежей в фиолетовый цвет.

Половозрелости и промыслового размера ежи достигают на третьем году жизни. Согласно подсчетам годовых колец на пластинах панцирей, возраст морских ежей в среднем составляет 10–15 лет, максимум – до 35 лет.

Многие морские ежи служат объектом промысла. Они являются традиционным блюдом жителей побережий Средиземного моря, Северной и Южной Америки, Новой Зеландии и Японии. Высоко ценятся их молоки и особенно икра, в которой содержится до 34.9% жиров и 19.2–20.3% белков. Скорлупа является хорошим удобрением для малопродуктивных земель, так как содержит много кальция и фосфора. Помимо этого, современными исследованиями установлено, что пигмент, выделенный из плоского морского ежа (эхинохром<sup>57</sup>), обладает сильной антиоксидантной активностью.

---

<sup>56</sup> Аристотелев фонарь состоит из 5 сложных челюстей, каждая из которых оканчивается острым зубом. Зубы аристотелева фонаря участвуют не только в переработке пищи, но и в передвижении (вонзаясь в грунт), а также, предположительно, в рытье нор.

<sup>57</sup> На основе эхинохрома, обладающего антиоксидантными, противомикробными и противовоспалительными свойствами, в Тихоокеанском институте биоорганической химии РАН (ТИБОХ, Владивосток) созданы разрешенные к производству и применению в России два новых лекарственных препарата: «гистохром для офтальмологии» и «гистохром для кардиологии».

### 7.1.1. Ядовитый аппарат

Ядовитыми органами морских ежей являются иглы и педицеллярии. Иглы морских ежей (рис. 7.2) покрыты железистым эпителием, вырабатывающим ядовитый секрет. При контакте с жертвой хрупкий кончик иглы обламывается, и ядовитый секрет изливается наружу. С помощью мышц у основания игла может наклоняться в стороны, принимая наиболее выгодное положение. Педицеллярии – гом ологи игл, но отличаются от них сложным строением (рис. 7.3).

Основная масса педицеллярий служит для очистки тела, и лишь некоторые являются ядовитыми. Каждая педицеллярии состоит из стебелька и головки. Головка, в свою очередь, состоит из створок различной формы, в которых расположены ядовитые железы. В зависимости от формы головки различают несколько типов педицеллярий, в том числе тридентные (трехзубые), трифильные (трилистные), глобиферные (шароносные). Именно глобиферные педицеллярии бывают ядови-

Рис. 7.2. Схема строения ядовитой иглы морского ежа (Холстед, 1965):

- 1 – кончик иглы; 2 – игла;
- 3 – эпителий; 4 – перетяжка;
- 5 – нервное кольцо;
- 6 – мышца,двигающая иглу;
- 7 – суставная головка;
- 8 – основание;
- 9 – поверхность панциря;
- 10 – ареола

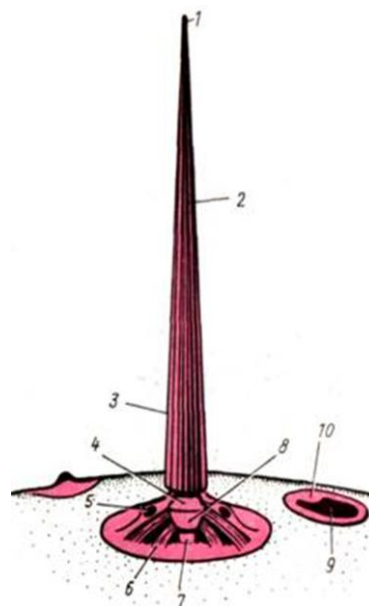
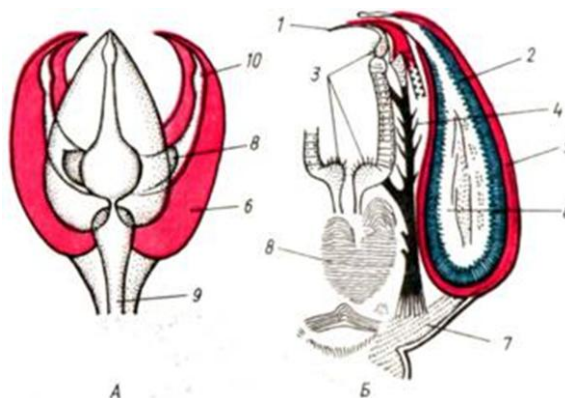


Рис. 7.3. Ядовитая глобиферная педицеллярия морского ежа (А) и схема ее строения (Б) (Холстед, 1965):

- 1 – кончик створки;
- 2 – железистый эпителий;
- 3 – сенсорные волоски;
- 4 – нерв; 5 – кольцевая мышца;
- 6 – полость ядовитой железы;
- 7 – связка;
- 8 – приводящая мышца;
- 9 – известковый стебелек;
- 10 – створка



тыми. Дистальный конец створки сужен, и в нем проходит канал с протоком ядовитой железы, открывающимся на вершине острого зубца, которым заканчивается створка. При раздражении сенсорных волосков педицеллярия, обычно широко открытая, захлопывается, нанося жертве не только механическую травму, но и впрыскивая в нее свой яд.

### 7.1.2. Яд морских ежей

В южных широтах морские ежи являются объектом промысла, поэтому поражения ими довольно часты.

**Клиника отравления.** Первые симптомы отравления всего от нескольких педицеллярий морского ежа *Toxopneustes pileolus*, при неосторожном обращении, включают очень сильную боль, удерживающуюся около одного часа. Более грозные симптомы отравления связаны с параличом произвольной мускулатуры: паралич языка, век, лицевой мускулатуры. Наблюдается расстройство речи и сильная слабость, особенно в ногах. Паралич мышц лица удерживается в течение 6 ч. Характерны также несчастные случаи с ныряльщиками (ловцами губок, жемчуга; аквалангистами и т.п.), которые, получив неожиданный болезненный укол морского ежа, теряли сознание и тонули.

**Химический состав и механизм действия.** Эксперименты, проведенные еще в 1935 г., показали, что достаточно нанести укол несколькими педицелляриями в выбритое брюшко мыши, чтобы у животного резко нарушилось дыхание и произошло падение температуры тела. Позже, в 70-е годы, изучение химического состава яда педицеллярий морского ежа *T. pileolus*<sup>58</sup> (побережье Японии) показало, что он является смесью токсических белков с молекулярной массой от 30 до 80 кДа и различной фармакологической активностью. Эти токсины были названы *урхитоксинами* 2–5. Урхитоксин-2 вызывает снижение амплитуды сокращений изолированного сердца лягушки и предсердия кролика. Кроме того, наблюдались нарушения сердечного ритма типа экстрасистолий, которые не предупреждались атропином и, следовательно, имели нехолинергическую природу. Угнетающее действие на сердце урхитоксина-3 слабее, чем урхитоксина-2, а токсины 4 и 5, напротив, оказывают на изолированное сердце стимулирующее действие. Урхитоксин-2 вызывает кратковременный спазм сосудов изолированного уха кролика (рис. 7.4), а также повышает проницаемость периферических сосудов к трипановому синему. Этот эффект блокируется антигистаминным препаратом димедролом. Целый экстракт из педицеллярий *T. pileolus* вызывает высвобождение гистамина из изолированных тучных клеток крысы. Урхитоксины приводят к сокращению гладкомышечных препаратов кишки морской свинки и матки крысы. Их действие на гладкую мускулатуру сопоставимо с эффектом брадикинина и составляет для урхитоксина-5 – 35%, урхитоксина-3 – 70% от его активности. В дальнейшем японским исследователям удалось из урхитоксинов выделить компоненты, разобщающие окисление и фосфорилирование в митохондриях печени крысы. Таким образом, урхитоксины представляют собой смесь белков с различной биологической активностью, в том числе и кининоподобной.

---

<sup>58</sup> *Toxopneustes* sp. практически весь усеян педицелляриями.

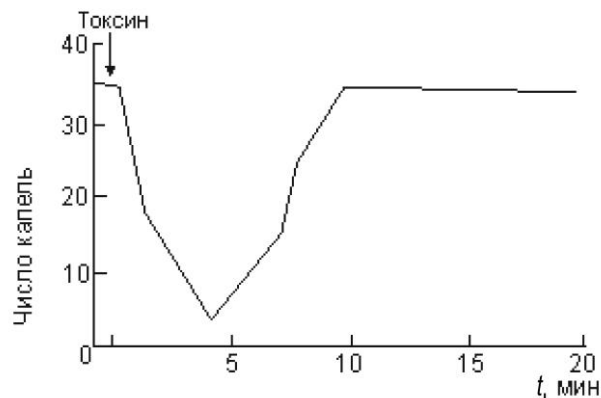


Рис. 7.4. Влияние урхитоксина  $F_2$  ( $10^{-3}$  г/мл) из морского ежа *Toxopneustes pileolus* на тонус сосудов изолированного уха кролика (Кимура и др., 1977)

Во второй половине XX века в серии исследований был изучен экстракт педициллярий другого морского ежа – *Tripneustes gratilla*, характеризующегося широким распространением. Так, токсин белковой природы был выделен из педициллярий морского ежа *T. gratilla*, обитающего в прибрежных водах Гавайских островов. Токсин весьма активен, его  $DL_{50}$  для мышей составила всего 90 мкг/кг (рис. 7.5); он эффективно высвобождает гистамин из кишечника, сердца, легких.

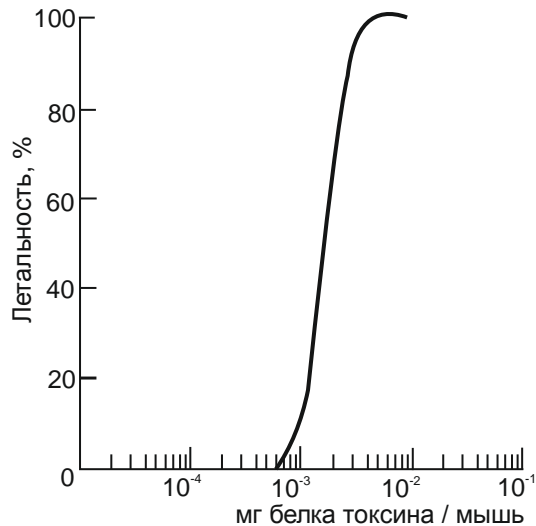


Рис. 7.5. Летальное действие на мышей токсина морского ежа *T. gratilla* (Файген и др., 1968) при внутривенном введении

Дальнейшие исследования показали, что токсин обладает и энзиматическими свойствами, избирательно действуя на фракцию  $\alpha_2$ -макроглобулинов сыворотки крови человека. В результате деградации этих белков образуются кининоподобные пептиды, вызывающие сокращение гладкой мускулатуры. Субстратная

специфичность токсина довольно высока, так как он не действует на бычий сывороточный альбумин или фракцию  $\gamma$ -глобулинов сыворотки крови. С помощью токсоида, приготовленного обработкой токсина формалином, была проведена иммунизация кроликов. Полученная в результате иммунизации антисыворотка эффективно нейтрализовала токсин *T. gratilla* и давала перекрестные реакции с токсическими белками другого морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus*.

Однако из морских ежей *T. gratilla*, обитающих в Красном море (залив Акаба), был выделен менее токсичный белок с  $M_r$  25 кДа, имеющий  $DL_{50}$  0.85 мг белка/кг, но при внутрибрюшинном введении мышам. При замораживании и оттаивании наблюдалась частичная потеря активности этого белка, а при нагревании до 50<sup>0</sup>С в течение 5 мин токсичность полностью утрачивалась. Предварительное введение мышам антигистаминных препаратов в дозах 0.5–5.0 мг/кг за 10 и 30 мин до инъекции токсина не влияло на время наступления смерти или токсичность. По-видимому, гистаминолибераторное действие токсина не является первичной причиной смерти.

Различия в токсичности почти на три порядка (90 мкг/кг и 85 мг/кг соответственно) между экстрактом педициллярий *T. gratilla*, обитающих на Гавайских островах и в заливе Акаба, вряд ли можно отнести за счет способа введения: внутривенного и внутрибрюшинного. Скорее всего эти различия связаны с активностью выделенных токсинов, глубиной их очистки и, возможно, географическим фактором. Примером тому может служить также так называемый «летальный белок» из педициллярий *T. gratilla* (залив Ботани, Австралия) с  $M_r$  около 70 кДа, являющийся типичным глобулярным протеином. Внутрибрюшинное введение мышам 0.1 мл экстракта педициллярий, содержащего этот «летальный белок», вызывало быстрое наступление затруднения дыхания и смерть в течение нескольких минут.

Необходимо отметить, что ядовитый секрет игл морских ежей несколько отличается от токсинов педициллярий. Было установлено, что экстракт, полученный из секреторного эпителия игл ежей *Echinothrix calamaris* и *E. diadema*, при внутривенном введении кошкам вызывает у них повышение АД, а в более высоких дозах – и нарушение в деятельности сердца. Кроме того, экстракт приводит к сокращению изолированной кишки морской свинки. Удалось идентифицировать биологически активные вещества игл. Выяснилось, что повышение АД связано с норадреналином, тогда как фактор, ответственный за сокращение гладкой мускулатуры, является белком. Возможно, что он же вызывает и боль, возникающую при уколе ядовитой иглой морского ежа. Таким образом, белковые токсины морских ежей служат причиной сильной боли, обладают паралитическим, спазмогенным и кардиотоксическим действием, а также высвобождают биологически активные вещества из физиологических депо, например гистамин и брадикинин.

Таким образом, из педициллярий *Toxopneustes* sp., обитающих в разных регионах, в конце XX века были получены различные по своим характеристикам токсические белки. В начале XXI в. внимание исследователей привлекли лектины<sup>59</sup> морских ежей в связи с перспективами их применения в онкологии.

Так, из глобиферных педициллярий морских ежей *Toxopneustes pileolus* и *Tripneustes gratilla*, обитающих вблизи о. Сикоку (Япония), получено семейство лектинов. Из *Toxopneustes pileolus* были выделены лектины SUL-I, SUL-II<sup>60</sup>, а из морского ежа *Tripneustes gratilla* – лектин TGL-I. Лектины SUL-I и SUL-II являются

---

<sup>59</sup> Лектины (от лат. legere – собирать) – белки и гликопротеины, обладающие способностью высокоспецифично связывать остатки углеводов на поверхности клеток, в частности, вызывая их агглютинацию.

<sup>60</sup> Sea Urchin Lectin

D-галактоза-связывающими лектинами с  $M_r$  32 и 23 кДа соответственно. Лектин TGL-I представляет собой  $Ca^{2+}$ -независимый гепарин-связывающий лектин с  $M_r$  23 кДа. Лектин SUL-I вызывает митогенную стимуляцию спленоцитов мыши, тогда как лектин TGL-I был не активен. Эффекты лектина SUL-I тормозились D-галактозой. Лектин SUL-I усиливал вызванное норадреналином сокращение изолированной верхней брыжеечной артерии крысы с интактным эндотелием. Удаление эндотелия из артерии устраняло расслабляющее действие ацетилхолина на сокращение, вызванное норадреналином. Но на этих же артериях отсутствовал усиливающий эффект лектина SUL-I, что дает основание предположить, что SUL-I действует на эндотелий брыжеечной артерии, высвобождая простаноиды<sup>61</sup>.

В последнее время из больших глобиферных педициллярий *Toxopneustes pileolus* (о. Сикоку, Япония) был выделен новый лектин, представляющий собой гомогексамер с  $M_r$  170 кДа, состоящий из 6 субъединиц с  $M_r$  28 кДа, обозначенный SUL-III. Его N-концевая частичная аминокислотная последовательность, соответствующая интактной субъединице с  $M_r$  28 кДа, имеет вид



L-рамноза эффективно ингибирует агглютинацию эритроцитов кролика, вызванную лектином SUL-III. Таким образом, лектин SUL-III является новым биоактивным L-рамноза-связывающим лектином из морского ежа.

В поисках противоопухолевых препаратов из *T. gratilla* (о. Хайнань, Китай) выделен эпидоксистирил (рис. 7.6)

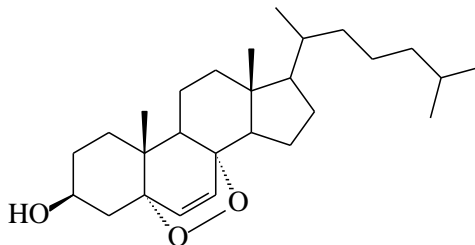


Рис. 7.6. Эпидоксистирил из морского ежа *Toxopneustes gratilla* (Liu et al., 2011)

Соединение обладает умеренной цитотоксичностью ( $IC_{50}$ ) на клетках линий SGC-7901, HepG2 и HeLa в концентрациях 99, 65 и 94 мкг/мл соответственно. В то же время этот эпидоксистирил не проявлял цитотоксичности по отношению к нормальным гепатоцитам человека в концентрации 215 мкг/мл. Таким образом, можно считать, что эпидоксистирил из морского ежа *Toxopneustes gratilla* безопасен *in vitro* для клеток в терапевтических дозах.

<sup>61</sup> Простаноиды – подкласс эйкозаноидов, включает простагландины (медиаторы воспаления и анафилаксии), тромбоксаны (медиаторы вазоконстрикции) и простациклины (высокоактивные метаболиты арахидоновой кислоты).



## 7.2. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРСКИХ ЗВЕЗД (*Asteroidea*)

Морские звёзды (*Asteroidea* от греч. ἀστήρ – звезда) – класс беспозвоночных типа иглокожих. Примерно 1600 современных видов (в России – 150). В ископаемом состоянии известны с ордовика. Размер колеблется от 2 см до 1 м, хотя большинство – 12–25 см. Многие виды ярко окрашены. Донные животные, ползающие при помощи амбулакральных ножек, обычно снабженных присосками. Повсеместно обитают в океанах и морях (кроме опреснённых районов) до глубины 8.5 км. Это малоподвижные животные, имеющие от 5 до 50 лучей, или рук. При укорочении лучей форма тела приближается к пятиугольной. Лучи заключают в себе пищеварительные выросты желудка и отростки половых органов; внутри лучей находится продольный ряд позвонков. Кожа снабжена правильными расположенными скелетными пластинками, которые вооружены шипами, иглами, иногда педицелляриями. Амбулакральные ножки сидят в открытых бороздках, тянущихся по нижней стороне лучей до рта. Рот в центре брюшной стороны, заднепроходное отверстие на спинной стороне; мадрепоровая пластинка на спинной стороне. Над ртом внутри диска расположены два желудочных мешка; от верхнего (пилорического) отходит десять пищеварительных (печёночных) выростов, по два в каждую руку. Нижний желудок способен выворачиваться, обволакивая и частично переваривая пищу. У морских звёзд сильно развита способность к регенерации – восстановлению оторванных лучей. Продолжительность жизни морской звезды – до 30 лет. Большинство морских звёзд – хищники, питающиеся главным образом моллюсками, морскими уточками, многощетинковыми червями и другими беспозвоночными. Некоторые питаются планктоном и детритом; есть виды, способные ловить добычу при помощи педицеллярий. Некоторые морские звёзды (например *Asterias rubens*) причиняют ущерб, уничтожая промысловых моллюсков (устриц, мидий и др.); другие (терновый венец, *Acanthaster planci*) поедают рифообразующие кораллы.

Свыше 100 видов морских звезд обитают на нашем Дальнем Востоке в Японском, Охотском и Беринговом морях, причем здесь они являются ведущими видами в биоценозах. Морские звезды отличаются от других животных большим разнообразием окисленных стероидных соединений, к которым относятся и астеросапонины<sup>62</sup>. В основном интерес к окисленным стероидным соединениям морских звезд объясняется их физиологической активностью. Экстракты морских звезд и индивидуальные вещества, выделенные из них, проявляют антивирусные, антимикробные, анальгетические, противовоспалительные, гипотензивные и другие биологические свойства. Окисленные стероиды играют определенную экологическую роль, являясь алломонами – веществами, приносящими пользу морским звездам за счет отпугивания многих морских животных: двустворчатых и брюхоногих моллюсков, морских ежей, лилий, актиний. Кроме того, эти соединения

---

<sup>62</sup> Сапонины – безазотистые гликозиды растительного происхождения с поверхностно-активными свойствами. Растворы сапонинов при взбалтывании образуют густую стойкую пену. Название происходит от латинского *sapo* (род. падеж *saponis*) – мыло. Широко распространены в природе. Сапонины способны к комплексообразованию с холестерином с формированием поры в двойных слоях мембраны клетки, например в мембране эритроцита, что приводит к гемолизу при внутривенной инъекции. Усиливают проникновение белков и других макромолекул через клеточные мембраны.

часто имеют своеобразное химическое строение, значительно отличаясь от стероидных метаболитов наземных растений и животных.

### 7.2.1. Яд морских звезд

Еще в XIX веке имелись наблюдения, свидетельствующие, что экстракты из морских звезд были ядовиты для кроликов при парентеральном введении. Довольно часто отмечались случаи гибели кошек и собак, которые съедали высохших на берегу морских звезд. Систематические исследования биологически активных веществ морских звезд, начатые в середине XX века и продолжающиеся по наши дни, позволили установить химическую природу и выяснить механизмы действия многих уникальных соединений.

В настоящее время установлено, что морские звезды содержат разнообразные по своему химическому строению полярные стероиды, значительно отличающиеся от стероидных метаболитов других морских животных и наземных растений. К полярным стероидным соединениям морских звезд принято относить астеросапонины – олигогликозиды с 5–6 моносахаридными остатками и 3-*O*-сульфатированными  $\Delta^9(11)$ - $3\beta,6\alpha$ -дигидроксистероидными агликонами, полигидроксистероиды, чаще всего имеющие от 4 до 9 гидроксильных групп, и многочисленные гликозиды полигидроксистероидов (монозиды, биозиды, иногда триозиды). Полигидроксистероиды и структурно родственные им гликозиды могут встречаться в виде моносульфатов. Такие полярные стероиды не встречаются в других классах иглокожих, поэтому их предложено рассматривать как таксономические маркеры класса *Asteroidea*. Полагают, что присутствие полярных стероидов в организме морских звезд можно объяснить особенностями их биологии. Известно, что большинство морских звезд является активными хищниками, для которых наряду с полостным перевариванием в желудке характерно внутриклеточное переваривание, которое происходит в пилорических выростах. Показано, что полигидроксистероиды и их гликозиды локализуются, в основном, в пищеварительных органах, преимущественно в гепатопанкреасе, выполняя, очевидно, роль эмульгирующих агентов, подобно желчным спиртам и кислотам у высших животных. В то же время астеросапонины локализованы, в основном, в стенках тела и гонадах животных, выполняя, вероятно, защитные функции и принимая участие в регуляции гаметогенеза. Большой вклад в изучение астеросапонинов внесен сотрудниками Тихоокеанского института биоорганической химии РАН<sup>63</sup>.

**Химический состав и механизм действия.** Первые токсические сапонины из *Asterias amurensis*, обладающие гемолитическим и ихтиотоксическим действием, были названы *астеросапонином А* и *астеросапонином В*. При кислотном гидролизе они дают стероидные агликоны – астерогенины I и II, серную кислоту, а также сахара, набор которых специфичен для каждого из астеросапонинов. Так, астеросапонин А связан гликозидной связью с D-хинозой и D-фукозой (2:2),

---

<sup>63</sup> Сотрудниками ТИБОХ изучен стероидный состав ряда видов морских звезд. Выделены 82 полярных стероидных метаболита, из них 38 веществ оказались новыми, ранее не описанными в научной литературе. В разделах 7.2.1 и 7.2.2 использованы материалы, опубликованные в юбилейном сборнике «Исследования природных соединений в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова», Владивосток: Дальнаука, 2013.

тогда как сахара астеросапонина В представлены D-хинозой, D-фукозой, D-ксилозой и D-галактозой в соотношении 2 : 1 : 1 : 1 (рис. 7.7).

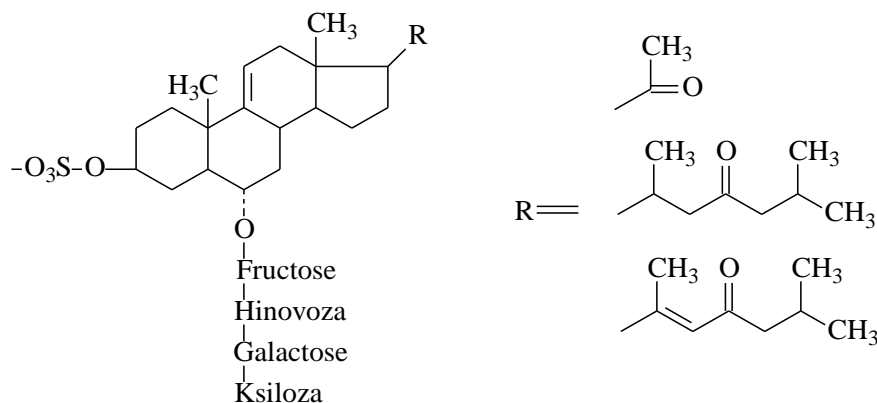


Рис. 7.7. Астеросапонин из морской звезды *Asterias amurensis*

Астеросапонины А и В блокируют нервно-мышечную передачу. Добавление их в концентрации  $(1.5-3) \cdot 10^{-4}$  моль/л в раствор, омывающий изолированный нервно-мышечный препарат диафрагмы крысы, вызывает начальное быстрое сокращение мышцы с последующим ее расслаблением, на фоне которого развивается прогрессирующее угнетение передачи возбуждения на непрямую стимуляцию. Этот эффект необратим, так как повторное и длительное отмывание препарата не восстанавливает его функциональной активности.

Стероидный сапонин, обладающий поверхностно-активными свойствами, выделен и из морской звезды *Marthasterias glacialis*. В концентрации  $1.33 \cdot 10^{-6}$  моль/л токсин вызывает гибель камбалы *Pleuronectes platessa* в течение 24 ч. По своей активности он не уступает синтетическим сурфактантам цетилтриметиламмонийхлориду и цетилпиридинийхлориду. Смерть рыб наступает в результате цитотоксического действия токсина на жаберный эпителий и, как следствие этого, нарушения обмена  $O_2$ ,  $CO_2$  и натрия. Токсин гемолизует эритроциты камбалы и барана, причем гемолитическое действие его ингибируется холестерином, тогда как лецитин в этих экспериментах не эффективен. Эти данные указывают, что гемолитическое действие токсина связано с его взаимодействием с холестерином клеточных мембран.

Астеросапонин из атлантической морской звезды *Asterias forbesi* обладает анальгезирующим, противовоспалительным и гипотензивным действием. В дозе 75 мг/кг при внутрибрюшинном введении астеросапонин уменьшал отечное действие, вызванное последующим введением каррагинина. Уже в дозе 15 мг/кг астеросапонин проявлял анальгезирующее действие, а в дозе 25 мг/кг анальгезия достигала 99%. Гипотензивное действие астеросапонина было установлено в экспериментах на крысах, кошках и собаках. В дозе 0.5 мг/кг астеросапонин вызывал преходящее понижение АД у кошек. Крысы были менее чувствительны, и гипотензивный эффект у них наблюдался при дозе 4 мг/кг. Собаки занимали промежуточное положение по чувствительности к гипотензивному действию астеросапонина, у них эффект наступал при применении дозы 2 мг/кг. Гипотензивный эффект астеросапонина может быть связан активацией блуждающего нерва, а также обусловлен высвобождением гистамина и прямым эффектом на сосудистое русло.

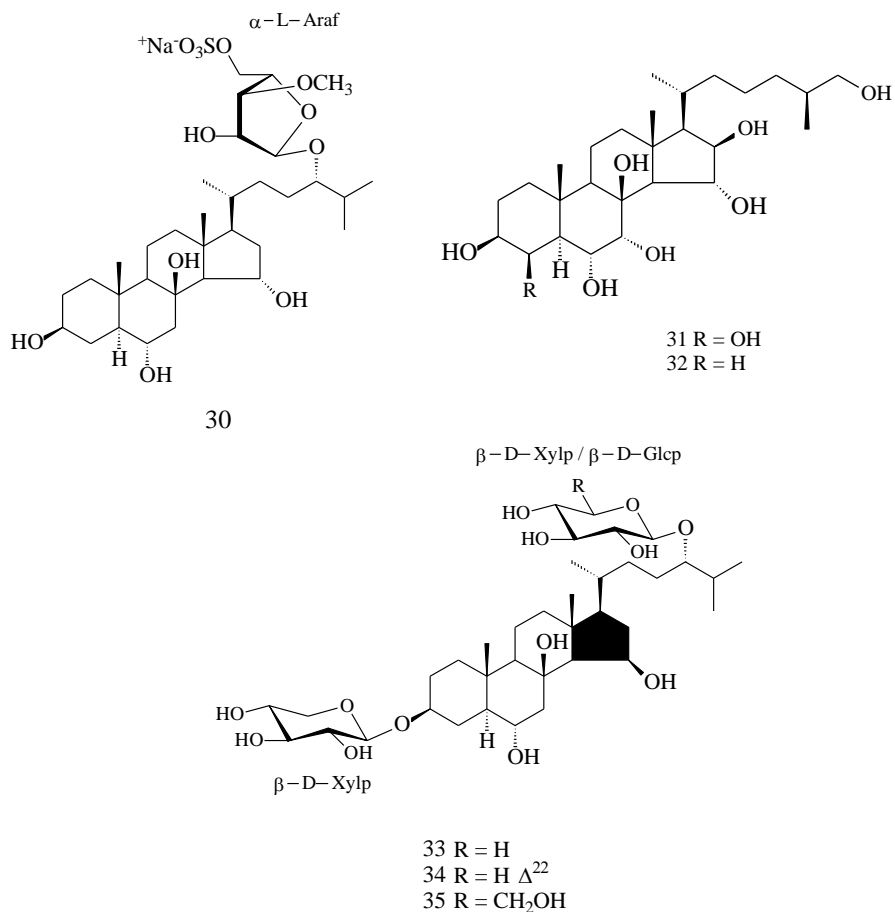


Рис. 7.8. Полярные стероиды из дальневосточных морских звезд: астросапонины (соединения 30–32) из *Patiria pectinifera* и дистоластерозиды (соединения 33–35) из *Distolasterias nipon* (Кича и др., 2013)

В настоящее время у полярных стероидов морских звезд обнаружены разнообразные биологические свойства, включая эмбриотоксическую, антигрибковую, противовирусную, противоопухолетворную и другие виды активности. Установлено, что некоторые стероидные гликозиды морских звезд препятствуют перерождению нормальных клеток в опухолевые (канцерпревентивный эффект) и тормозят образование колоний опухолевых клеток (противоопухолетворный эффект). Кроме того, многие из этих соединений, подобно нейротрофинам<sup>64</sup>, могут проявлять нейротрофические и нейропротекторные свойства. В качестве примера приведем изученные в ТИБОХ нейротрофические и нейропротекторные свойства полярных стероидных соединений из морских звезд в культуре мышечной нейробластомы C-1300 и в органотипической культуре срезов гиппокампа крыс. Для этих исследований были выбраны основные полярные стероиды наиболее массовых дальневосточных видов морских звезд:

<sup>64</sup> Нейротрофины – общее название секретируемых белков, поддерживающих жизнеспособность нейронов, стимулирующих их развитие и активность. Эти белки, в свою очередь, входят в обширное семейство факторов роста.

астеросапонины из *Patiria pectinifera* и дистоластерозиды из *Distolasterias nipon*. Все соединения вызывали рост нейритов в клетках нейробластомы (рис. 7.8).

При этом астеросапонины из *Patiria pectinifera* оказывали доза-зависимый эффект в пределах концентраций 10–100 нМ, а дистоластерозиды – в пределах концентраций 1–50 нМ. Следует подчеркнуть, что все вещества проявили выраженный синергизм с нейритогенными эффектами фактора роста нервов (NGF, 1 нг/мл) или мозгового нейротрофического фактора (BDNF, 0.1 нг/мл) в следовых количествах. Интересно, что при использовании культуры мышинной нейробластомы С-1300 и органо-типической культуры срезов гиппокампа крыс впервые было показано, что дистоластерозиды обладают нейропротекторными свойствами и способны поддерживать выживание клеток в условиях отсутствия кислорода и глюкозы.

Наконец, укажем на перспективные противоопухолевые свойства соединений, выделенных из морской звезды *Asteropsis carinifera* – регуларозида А и торнастерозида А – и изученных на клетках рака кишечника человека НСТ-116, рака молочной железы Т-47D и меланомы человека RPMI-7951. Оба соединения проявили способность в нетоксичной концентрации (15 мкМ) эффективно подавлять рост колоний опухолевых клеток. Регуларозид А ингибировал формирование колоний клеток Т-47D на 57% и клеток RPMI-7951 на 26%, а торнастерозид А подавлял формирование колоний клеток Т-47D на 53% и клеток RPMI-7951 на 71%.

### 7.3. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГОЛОТУРИЙ (*Holothuroidea*)

Голотурии, или морские кубышки, или морские огурцы (*Holothuroidea*) – класс беспозвоночных животных типа иглокожих. Современная фауна представлена 1150 видами, разделёнными на 6 отрядов, которые отличаются друг от друга формой щупалец и известкового кольца, а также наличием некоторых внутренних органов. В России встречаются около 100 видов. Старейшие окаменелости голотурий относятся к силурийскому периоду. От прочих иглокожих голотурии отличаются продолговатой, червеобразной, реже шаровидной формой, отсутствием выступающих шипов и редукцией кожного скелета до мелких известковых «косточек», залегающих в стенке тела. Пятилучевая симметрия тела у голотурий замаскирована билатеральным расположением многих органов. Тело у голотурии на ощупь кожистое, обычно шершавое и морщинистое. Стенка тела толстая и упругая, с хорошо развитыми мышечными пучками. Продольные мышцы (5 лент) крепятся к известковому кольцу вокруг пищевода. На одном конце тела расположен рот, на другом – анальное отверстие. Рот окружён венчиком из 10–30 щупалец, служащих для захвата пищи, и ведёт в спирально закрученный кишечник. Для дыхания служат амбулакральная система и так называемые водные лёгкие – разветвлённые мешки, открывающиеся в клоаку перед анусом. Наружной мадрепоровой пластинки нет. В отличие от остальных иглокожих, голотурии на дне лежат «на боку», при этом сторона, несущая три ряда амбулакральных ножек (тривиум), является брюшной, а сторона с двумя рядами амбулакральных ножек (бивиум) – спинной (рис. 7.9). У глубоководных голотурий амбулакральные ножки могут быть сильно удлинены и использоваться как ходули. Некоторые виды движутся за счёт перистальтических сокращений мускулатуры стенки тела, отталкиваясь от грунта выступающими известковыми косточками. Большинство голотурий имеет чёрную, коричневую или зеленоватую окраску. Длина тела варьирует от 3 см до 1–2 метров, хотя один вид (*Synapta maculata*) достигает 5 м.

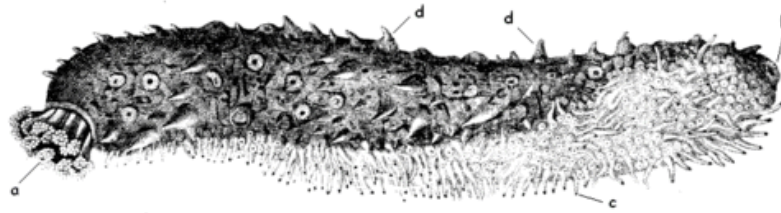


Рис. 7.9. Морской огурец: а – щупальца, b – клоака, с – амбулакральные ножки на вентральной поверхности, d – спинные сосочки

Голотурии – малоподвижные или ползающие животные, обнаруживаемые в почти любой части океана – от прибрежной полосы до глубоководных впадин; наиболее многочисленны в условиях тропических коралловых рифов. Большинство видов донные, но имеются и пелагические. Питаются голотурии планктоном и органическими остатками, извлекаемыми из донного ила и песка, который пропускается через пищеварительный канал. Другие виды фильтруют пищу щупальцами, покрытыми клейкой слизью, из придонных вод. При сильном раздражении выбрасывают через анальное отверстие заднюю часть кишки вместе с водными лёгкими, отпугивая или отвлекая нападающих; утраченные органы быстро восстанавливаются. У некоторых видов при этом выбрасываются и содержащие токсины кювьеровы трубочки (кювьеровы органы). На голотурий охотятся морские звёзды, брюхоногие моллюски, рыбы и ракообразные. Продолжительность жизни – 5–10 лет.

Некоторые виды голотурий, особенно из родов *Stychoopus* и *Cucumaria*, употребляются в пищу под названием «трепангов». Наиболее развит их промысел у берегов Японии, Китая, Малайского архипелага и в южной части Тихого океана. Промысел голотурий ведётся и на Дальнем Востоке России. Трепанг – это вываренные и высушенные голотурии, у которых предварительно тщательно удаляются внутренности; является деликатесом в японской, корейской, китайской кухне. Традиционно применяется в восточной медицине.

В случае некачественного приготовления наблюдаются пищевые отравления от желудочно-кишечных расстройств до острых гастритов. В тяжелых случаях отмечается гемолиз, поражение периферической нервной системы. Лечение носит симптоматический характер.

### 7.3.1. Ядовитый аппарат

Кювьеровы органы<sup>65</sup>, или кювьеровы трубочки – внутренний орган у некоторых голотурий (представителей щитовиднощупальцевых, *Aspidochirota*), имеющий вид длинных полых нитей. Назначение кювьеровых органов еще не до конца выяснено. У некоторых видов кювьеровы органы могут выбрасываться наружу и служат целям самозащиты. Кювьеровы трубочки – уникальный орган, который не встречается у других беспозвоночных. Кювьеровы органы прикрепляются к осно-

<sup>65</sup> Название этот орган получил по имени знаменитого французского натуралиста Жоржа Кювье (1769–1832), подробно описавшего внутреннее строение иглокожих.



Рис. 7.10. Голотурия, выбрасывающая кювьеровы органы (длинные белые нити)

ванию водных лёгких и обычно имеют вид трубочек, стенки которых образованы сложенными в виде сжатой пружины волокнами. Снаружи эта спираль покрыта защитным чехлом из тонкой мембраны. При раздражении голотурии вода из водных лёгких нагнетается в кювьеровы трубочки и они, пробивая стенку клоаки, выбрасываются наружу. Нити кювьеровых органов, соприкасаясь с водой, мгновенно набухают, удлиняясь и становясь исключительно клейкими. Эта черта может рассматриваться как проявление автотомии, или эвисцерации – животное жертвует частью тела, чтобы спастись от хищника, а утраченные органы достаточно быстро регенерируются. Выброшенные органы принимают вид длинных нитей, обычно белого цвета (рис. 7.10), которые обволакивают врага, лишая его подвижности (особенно это эффективно против крабов или хищных брюхоногих моллюсков).

Кроме того, они могут оказывать отравляющее воздействие на врага, поскольку содержат довольно сильные токсины. Этот яд опасен даже для человека и в высоких концентрациях способен вызвать токсические поражения глаз, что иногда встречается у ныряльщиков, совершающих погружения без очков или масок в местах с высокой численностью голотурий. Ядовитыми свойствами голотурий пользовались в прошлом коренные жители некоторых островов Тихого океана для добычи рыбы. Так, туземцы Маршалловых островов бросали внутренности голотурий в мелкие водоёмы, после чего оглушённая ядом рыба всплывала на поверхность.

### 7.3.2. Яд голотурий

Экспериментальное изучение токсичности голотурий началось еще в XIX веке, когда были описаны воспалительные реакции кожи при поражении липкими нитями, выбрасываемыми при раздражении некоторыми видами голотурий (кювьеровы органы). В первой половине XX века из голотурий *Holothuria vagabunda* и *Actinopyga Agassiz* были выделены кристаллические токсины, названные *голотуринами*. Как правило, экстракты из кювьеровых органов голотурий содержат больше голотуринов, чем из стенок тела. Голотурины оказались смесью сапонинов<sup>66</sup>, первый из которых – голотурин А – представляет собой агликон, соединенный с одной молекулой серной кислоты и остатками сахаров (D-глюкозы, D-ксилозы, D-хиновозы и 3-O-метил-D-глюкозы). Позднее из стенок тела голотурий *H. vagabunda*, *H. lubrica* были выделены голотурин А, а также новый компонент голотурин В. При кислотном гидролизе голотурин В давал смесь агликонов, серную кислоту и остатки D-хиновозы и D-ксилозы.

По современным представлениям голотурии в качестве вторичных метаболитов содержат тритерпеновые гликозиды, состоящие из агликоновой части и углеводной цепи. Большинство гликозидов имеет в качестве агликонов голостановые производные. «Голостан» – это модельное, ни разу не выделенное из других природных источников тритерпеновое ланостановое соединение, содержащее 18(20)-лактон и лежащее в основе скелетной системы агликоновой части и номенклатуры большинства тритерпеновых гликозидов (рис. 7.11). Гликозиды голостанового ряда содержат агликоны, отличающиеся друг от друга по положению двойной связи в тетрациклическом ядре, по наличию или отсутствию кислородных заместителей в ядре и по структуре боковой цепи.

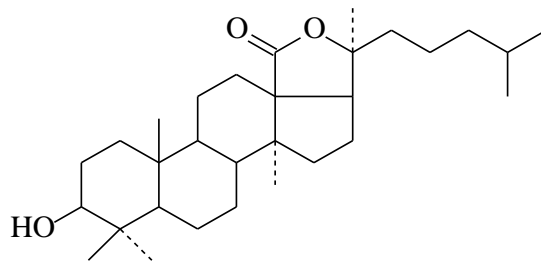


Рис. 7.11. Структура голостана – модельного соединения ланостанового ряда с 18(20)-лактоном (Сильченко и др., 2013)

Углеводные цепи гликозидов, как правило, включают в себя от двух до шести моносахаридных остатков и могут также иметь от одной до трех сульфатных групп. Первый моносахаридный остаток – это всегда ксилоза, присоединенная в третьем положении агликона. На рис. 7.12 в качестве примера приведены структуры некоторых агликонов гликозидов голотурий.

<sup>66</sup> Заметим, что голотурины были первыми сапонинами, выделенными из животных.



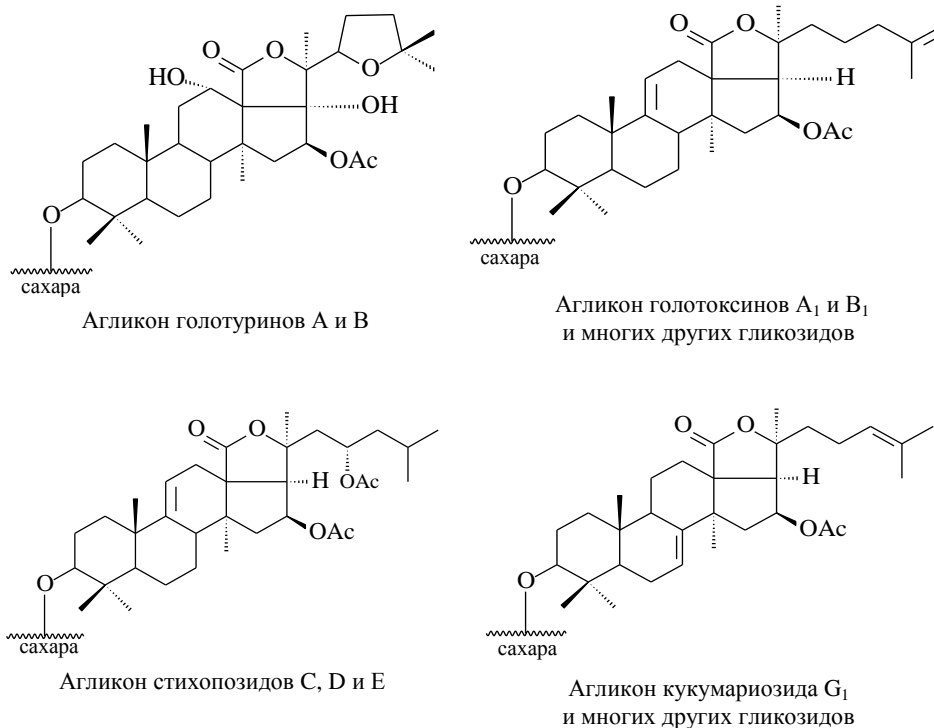


Рис. 7.12. Голостановые агликоны гликозидов голотурий: голотурины А и В, голотоксины А<sub>1</sub> и В<sub>1</sub>, стихопозиды С, D и E, кукумариозид G<sub>1</sub> (Сильченко и др., 2013)

Класс Holothurioidea включает 7 отрядов, однако большинство гликозидов выделено из голотурий, принадлежащих к отрядам *Aspidochirotida* и *Dendrochirotida*. Представители отряда *Aspidochirotida* легко доступны на мелководьях тропических морей и обычно содержат значительные количества тритерпеновых гликозидов, что облегчает выделение индивидуальных соединений. По мере накопления данных о структурах гликозидов и их таксономическом распределении стала совершенно очевидна их таксономическая специфичность. Для тритерпеновых гликозидов голотурий характерна варибельность по некоторым структурным деталям в сочетании со стабильностью общего плана строения, что делает удобным их использование в качестве таксономических маркеров. Некоторые таксономические проблемы в этом классе животных были решены с помощью данных о строении тритерпеновых гликозидов.

Гликозиды голотурий обладают высокой биологической активностью (табл. 7.1), в том числе противоопухолевым действием, антимикробной активностью, повышают фагоцитарную активность лейкоцитов, тормозят развитие оплодотворенных яиц морского ежа и синтез нуклеиновых кислот в них, характеризуются нейротропным действием и т.д.

Таблица 7.1

**Некоторые биологические свойства голотурина  
(Алендер, Рассел, 1966)**

Организмы	Голотурин, $\times 10^{-6}$ г/мл	Биологическое действие
Простейшие: <i>Euglena gracilis</i> , <i>Amoeba proteus</i>	66 100	Торможение роста. Гибель
Кишечнополостные: <i>Hydra</i> sp.	10	" _ "
Плоские черви: <i>Lugesia tigrina</i>	0.1–100	Торможение процесса регенерации, гибель
Круглые черви: <i>Nematode</i>	100	Гибель
Моллюски: <i>Planorbis</i> sp.	1–10	" _ "
Кольчатые черви: <i>Tubifex tubifex</i>	10	" _ "
Членистоногие: <i>Drosophila melanogaster</i>	1000	Замедление окукливания
Иглокожие: <i>Arbacia punctulata</i> (яйца)	0.001–1000	Нарушение развития
Костные рыбы: <i>Carapus bermudensis</i>	1–1000 1–10	Гибель " _ "
Амфибии: <i>Rana pipiens</i>	10 (мг)	Гибель (мг/животное), гемолиз, увеличение гемопоэза
Млекопитающие, мыши	9 (мг) 10 (мг)	DL <sub>50</sub> (в/в, мг/кг) * DL <sub>50</sub> (в/б, мг/кг)

\* в/в – внутривенно; в/б – внутрибрюшинно.

Токсичность (DL<sub>50</sub>) голотурина А для мышей составляет 7.5 мг/кг. У животных наблюдаются судороги, затем паралич и смерть. В концентрации 150 мкг/мл голотурин А в течение 1 мин полностью блокирует распространение ПД в перехвате Ранвье одиночного волокна нерва лягушки. Голотурин В ( $2.5 \times 10^{-5}$  моль/л) вызывает медленно развивающееся, но стойкое повышение тонуса поперечно-полосатых мышц, на фоне которого необратимо блокирует передачу через нервно-мышечный синапс. Наличие сульфатной группы придает голотурину А анионные свойства, которые могут играть важную роль в его физиологическом действии, поскольку при ее отщеплении нейротропная активность голотурина А падает.

Установленное впервые еще в 50-е годы прошлого века цитостатическое действие голотуринов на клетки саркомы-180 привлекло большое внимание исследователей. Так, кукумариозид С, выделенный из голотурии *Cucumaria fraudatrix*, эффективно ингибирует биосинтез нуклеиновых кислот и белка в оплодотворенных яйцах морского ежа (рис. 7.13). Тритерпеновые гликозиды обладают фунгицидным действием по отношению к грибкам *Saccharomyces*. В высоких концентрациях (3 мкг/мл) кукумариозид С не только тормозит развитие эмбрионов, но и вызывает их частичное разрушение, вплоть до лизиса бластомеров.

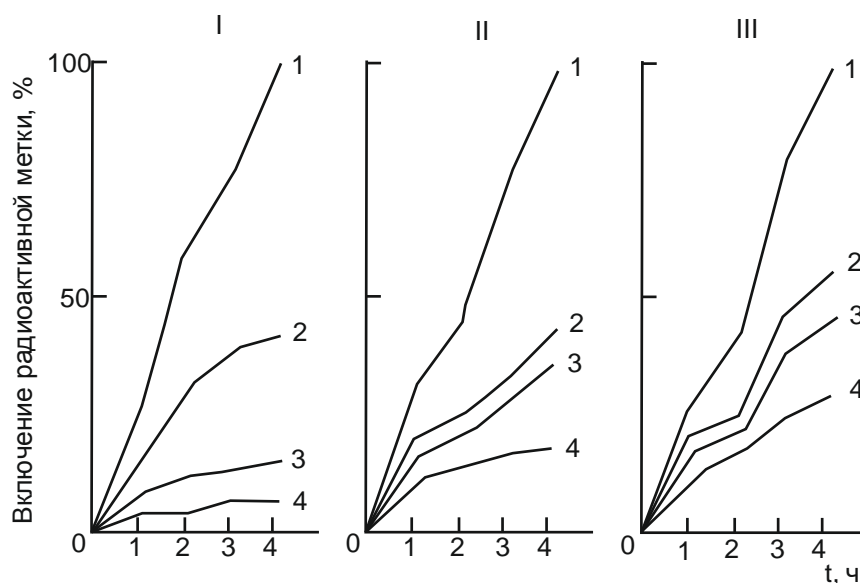


Рис. 7.13. Влияние кукумариозида С из голотурии *Cucumaria fraudatrix* на интенсивность синтеза ДНК, РНК и белка, оцениваемого по включению, соответственно,  $^{14}\text{C}$ -тимидина (I),  $^{14}\text{C}$ -уридина (II) и  $^{14}\text{C}$ -аланина (III) в делящиеся яйца морского ежа, через 14 ч после оплодотворения: 1 – контроль; 2 – концентрация кукумариозида С 1 мкг/мл; 3 – 2 мкг/мл; 4 – 3 мкг/мл (Анисимов и др., 1974)

Биологическая активность тритерпеновых гликозидов во многом обусловлена их мембранолитическим действием, в основе которого лежит общий для многих гликозидов голотурий  $\Delta^5$ -стерин-зависимый механизм действия. Некоторые структурные элементы гликозидов значительно уменьшают, тогда как другие, наоборот, увеличивают биологическую активность тритерпеновых гликозидов. Так, установлено, что замещение гидроксила при С-25 в кукумариозидах  $\text{H}_4$  и  $\text{A}_4$  из голотурии *Eupentacta fraudatrix* этоксильной группой вызывает заметное увеличение цитотоксической активности, тестируемой на лимфоцитах селезенки мыши, клетках асцитной формы карциномы Эрлиха, а также гемолитическое действие на эритроциты мыши. С другой стороны, биологическая активность кукумариозидов  $\text{A}_1$ ,  $\text{H}_6$  и  $\text{I}_1$  с одним и тем же агликоном зависела от структуры углеводной цепи. Кукумариозид  $\text{A}_1$ , имеющий линейную тетрасахаридную цепь, обладает наибольшей цитотоксической и гемолитической активностью по сравнению с гликозидами с разветвлённой углеводной цепью.

Помимо эффектов, связанных с  $\Delta^5$ -стерин-зависимым мембранолитическим действием, тритерпеновые гликозиды голотурий обладают рядом интересных свойств, которые проявляются в субцитотоксических дозах, включая иммуномодулирующую и противоопухолевую активности. Эти вещества являются эффективными иммуностимуляторами, а некоторые гликозиды обладают противоопухолевым действием *in vivo*, они могут также ингибировать клеточную пролиферацию и вызывать индукцию апоптоза в субцитотоксических дозах. Эти вещества могут ингибировать множественную лекарственную устойчивость в нецитотоксических дозах. Изучение активности гликозидов, не зависящей от их взаимодействия

с мембранными  $\Delta^5$ -стеринами, является новой и быстроразвивающейся областью исследований.

Несомненно, тритерпеновые гликозиды голотурий – уникальный класс морских природных соединений. Полагают, что разнообразие этих веществ является следствием мозаичного типа их биосинтеза, причем как агликонная, так и углеводная компоненты гликозидов образуются не в результате строго детерминированных последовательностей химических превращений. Наоборот, отдельные химические события могут протекать в разных последовательностях, а также одновременно и в агликонной, и в углеводной частях молекул.

\* \* \*

Данные о химическом составе биотоксинов иглокожих могут оказаться полезными для решения вопроса о их филогении, до сих пор вызывающего споры и дискуссии. Так, наличие стероидных сапонинов в морских звездах и голотуриях может указывать на их большее родство, чем с другими классами иглокожих. Например, у офиур и морских лилий сапонинов не обнаружено. У офиуры *Ophiocomanigra* найдены кислые мукополисахариды, содержащие много остатков серной кислоты, аминсахара, серные и фосфорные эфиры, которые, возможно, соединены с белком. Слизь, выделяемая офиурами, имеет  $pH = 1$  за счет высокого содержания сульфат-аниона и может служить защитным средством. О родстве морских звезд и голотурий может говорить и сходный набор синтезируемых ими нафтохиноновых пигментов.

В целом, биологически активные вещества иглокожих обладают широким спектром действия, что определяет возможность их использования для создания новых лекарственных средств, включая противоопухолевые и иммуностимулирующие препараты.

---

## ЧАСТЬ II

# ЯДОВИТЫЕ НАЗЕМНЫЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ

- Глава 8. Скорпионы (Scorpiones)
- Глава 9. Мигаломорфные пауки (Mygalomorphae)
- Глава 10. Аранеоморфные пауки (Araneomorphae)  
Паразитиформные клещи (Parasitiformes)
- Глава 11. Активно-ядовитые жалоносные насекомые
- Глава 12. Пассивно-ядовитые насекомые.  
Насекомые с ядовитым ротовым аппаратом
- Глава 13. Многоножки (Myriapoda)

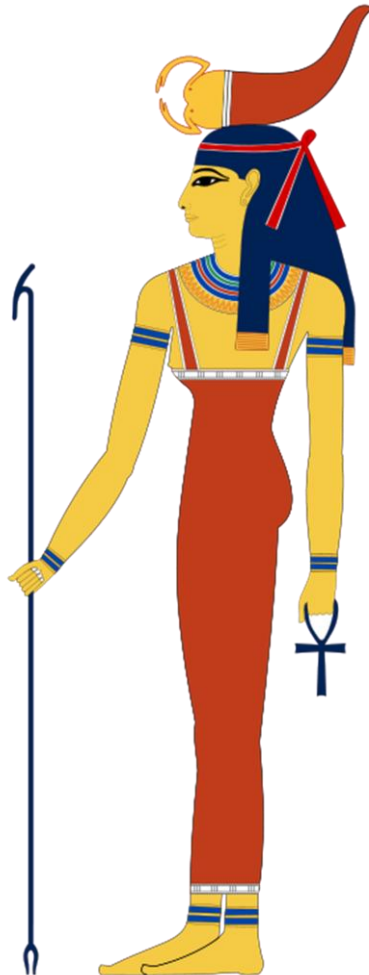


Wikipedia Commons

## СКОРПИОНЫ (Scorpiones)

...Отец мой наказывал вас бичами, а я буду наказывать вас скорпионами.

*Третья книга Царств, гл. 12, ст. 11*



Скорпионы (Scorpiones) – отряд членистоногих из класса паукообразных (Arachnida). Класс Паукообразные относится к подтипу хелицерных (Chelicerata), тип Членистоногие (Arthropoda), и, в свою очередь, распадается на целый ряд отрядов, среди которых токсинологическое значение имеют скорпионы (Scorpiones), пауки (Aranei) и паразитиформные клещи (Parasitiformes). В настоящее время описаны более 114 тыс. видов паукообразных (включая 1.8 тыс. ископаемых видов), большинство которых составляют пауки (более 44 тыс. видов) и клещи (более 55 тыс. видов). Латинское название паукообразных происходит от греческого ἀράχνη «паук» (существует также миф об Арахне, которую богиня Афина превратила в паука). Наука о паукообразных называется арахнологией.

### 8.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТРЯДА СКОРПИОНОВ (Scorpiones)

В настоящее время известны 1753 вида скорпионов, относящихся к 13 семействам (Kovarik, 2009). Пространство, обживаемое скорпионами, опоясывает земной шар полосой по обе стороны экватора между 48° с. ш. и 54° ю. ш.; но и в прошлые эпохи, вплоть до конца третичного периода, когда климат был более теплым и влажные леса простирались до высоких широт, скорпионы встречались на большей части суши. В Японии скорпионов нет. На островах Тихого океана, как правило, обитают в основном завезенные виды, хотя на некоторых крупных из них (Новая Каледония, Фиджи) живут эндемические виды. Южная граница обитания скорпионов совпадает с южными пределами материков, но в Австралии она захватывает также о. Тасманию.

Географическое распространение скорпионов представляет большой интерес для зоогеографии. Будучи древнейшими наземными членистоногими, возраст которых насчитывает примерно 400 миллионов лет, скорпионы отражают в своем распространении геологические и климатические перемены и смену растительных и животных сообществ, многократно происходившие в истории Земли. Ограниченные способности расселения скорпионов придают особую ценность этим данным: в большинстве случаев те или иные формы присутствуют там, где сумели сохраниться с давних времен. В этом отношении большую ценность представляют исследования отечественного ученого А.А. Бялыницкого-Бирули, который в работе о скорпионах Кавказа (1917) провел глубокий анализ материалов о распространении и эволюции скорпионов.

По морфологическим признакам скорпионов принято делить на две большие группы: буютоидов, представленных семейством Buthidae (804 вида) (рис. 8.1), и хактоидов (остальные семейства). Считают, что эти группы разделились в отдаленные времена, вероятно уже в силурийский период, и с тех пор каждая эволюционировала своим путем, по-своему отражая явления, влиявшие на распределение фаун (разобщение материков, изменения климата и др.). Распространение примитивных представителей этих групп подтверждает данные геологии о том, что мировая суша долгое время (с начала палеозойской вплоть до первой половины кайнозойской эры) была разделена морями на два комплекса материков – северный и южный. Так, древнее подсемейство буютоидов – Isometrinae – распространено преимущественно в Африке и Южной Америке, а для Южной Америки и одновременно Австралии характерно своеобразное семейство Bothriuridae.

Древние хактоидные скорпионы семейств Chactidae и Vejovidae приурочены к субтропическому поясу северного полушария в Старом и Новом Свете и совершенно отсутствуют в Африке и Австралии.

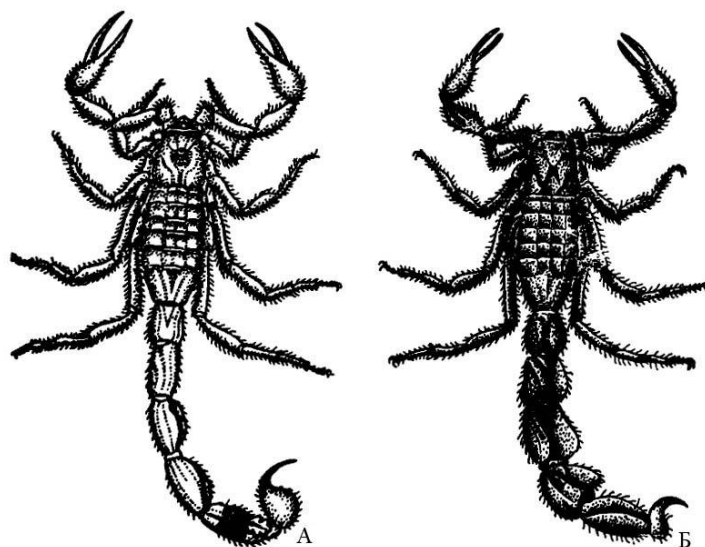


Рис. 8.1. Представители скорпионов: А – *Buthus eupeus* (Бялыницкий-Бируля, 1918); Б – *Androctonus crassicauda* (Vashon, 1948)

Особенно богата скорпионами фауна Индии, где насчитывается свыше 80 видов. Роды *Tityus*, *Centruroides* (Buthidae) обитают в Южной и Северной Америке, причем видовое разнообразие значительно больше в Южной Америке. Так, род *Tityus* представлен здесь 46 видами, а *Centruroides* – 10 видами, соответствующие цифры для Северной Америки 1 и 11. Роды *Buthus*, *Androctonus*, *Leiurus* распространены на юге Европы, Азии и в Африке, причем большая часть видов встречается в Палеарктической области. В Эфиопскую область далеко на юг проникает лишь ограниченное число видов, еще слабее они представлены в Ориентальной области. Род *Euscorprius* (Chactidae), представители которого наряду с видами рода *Buthus* живут на территории СНГ, на юге Западной и Восточной Европы (проникающая местами в Среднюю Европу), на островах Средиземного моря и в береговой полосе Малой Азии и Западного Кавказа, а также в Северной Африке.

В фауне Палеарктики имеются около 100 видов, из них на территории СНГ встречаются около 15. В Закавказье, Нижнем Поволжье и по всей Средней Азии обычен пестрый скорпион (*Buthus eupeus*), образующий ряд подвидов. Он бурожелтый с темными пятнами и продольными полосами на спине, до 6.5 см длиной. В Крыму, особенно на Южном берегу, не редок крымский скорпион (*Euscorprius tauricus*), свойственный только Крыму. Он светло-жёлтый, клешни узкие, буроватые, длина 35–40 мм. В Западном Закавказье обычен мингрельский скорпион (*E. mingrelicus*), красновато-коричневый, более светлый снизу, до 40 мм длиной. На Черноморском побережье Кавказа живет еще итальянский скорпион (*E. italicus*), красно-бурый или почти черный, до 55 мм длиной. Размеры скорпионов варьируют от 9 мм (*Typhlochactas mitchelli*) до 20 см (*Hadogenes troglodytes*).



### 8.1.1. Ядовитый аппарат скорпионов

Скорпионы – хищники. Они активны ночью, днем прячутся под камни, отставшую кору, в норы других животных или зарываются в землю. Добычей скорпионам служат пауки, сенокосцы, многоножки, различные насекомые и их личинки. Известны случаи поедания мелких ящериц и мышат. При этом жертва схватывается клешнями педипальп и подводится к хелицерам. Если животное относительно крупное и оказывает сопротивление, скорпион применяет для ее обездвиживания яд. При этом он производит один или несколько укусов иглой, находящейся на вершине тельсона. Тельсон сильно вздут у основания и загибается на спинную сторону (рис. 8.2), заканчиваясь острой искривленной иглой.



Рис. 8.2. Игла тельсона (Wikipedia Commons)

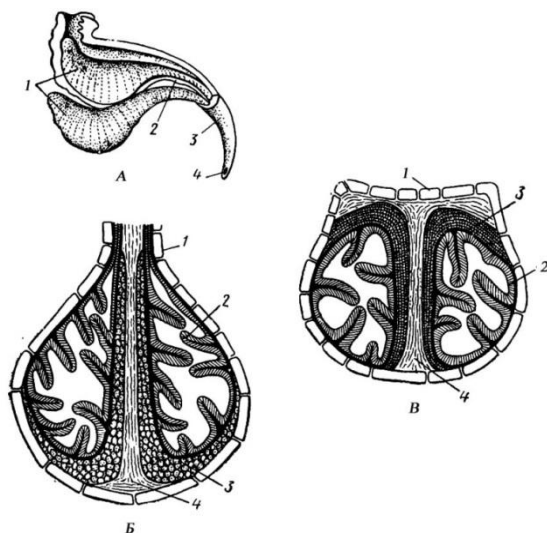


Рис. 8.3. Ядовитый аппарат скорпионов (Phisalix, 1922):

- А – вскрытый тельсон,
- 1 – ядовитые железы,
- 2 – проток ядовитой железы,
- 3 – жало, 4 – отверстие протока,
- Б – продольный срез ядовитого аппарата скорпиона *Androctonus melanophysa*;
- В – поперечный срез,
- 1 – хитиновая оболочка с порами,
- 2 – ядовитая железа,
- 3 – мышца-компрессор,
- 4 – соединительнотканый шов

В тельсоне находится пара ядовитых желез, протоки которых открываются вблизи вершины иглы двумя маленькими отверстиями. Каждая железа имеет овальную форму и сзади постепенно суживается в длинный выводной канал, который проходит внутри жала (рис. 8.3). Стенки ядовитых желез у эволюционно развитых родов *Buthidae* и *Chactidae* складчатые, и каждая железа окружена изнутри и сверху толстым слоем поперечных мышечных волокон. При сокращении

этих мышц секрет желез с силой выбрасывается наружу. Кутикула скорпионов флюоресцирует в УФ-свете, и это свойство можно использовать для сбора скорпионов в ночное время.

Существуют различные методы получения ядовитого секрета скорпионов для исследовательских целей: экстракция растертых ядовитых желез, механическая стимуляция тельсона, естественные ужаления в гидрофобные пленки. Однако, как свидетельствуют литературные данные и многолетний опыт авторов, наиболее эффективным является метод электрической стимуляции тельсона.

### 8.1.2. Клиника отравления ядом скорпионов

Ужаления скорпионов вызывают чрезвычайно сильные болевые ощущения, а иногда приводят к смертельному исходу, особенно у детей. Выделяют местные и общие проявления интоксикации ядом скорпионов. К местным относятся: боль, гиперпатия, отек, гиперемия и возникновение пузырей с серозным содержимым в месте ужаления. Общетоксические нарушения выражаются в головной боли, головокружении, слабости, адинамии, нарушении сознания, расстройстве терморегуляции, судорогах, мышечном треморе, учащении и затруднении дыхания, тахикардии, повышении АД, потливости, профузном слезо- и слюноотечении, обильном выделении слизи из носа, бронхиальной гиперсекреции, пилomotorной реакции. Нередки миокардиты и панкреатиты. У детей наблюдается отек легких.

Как можно видеть из симптоматики, специфика отравления ядом скорпионов заключается в одновременном возбуждении симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы. Патогенетическая терапия отравлений направлена на нормализацию функций вегетативной нервной системы. В нашей стране для этого по предложению З.С. Баркагана успешно применяется комплексное лечение адрено- и холиноблокирующими препаратами. Кроме того, рекомендуются анальгетики, хлорид кальция, тепло на зону ужаления. Наложение жгута на пораженную конечность или прижигание места ужаления скорее могут принести вред, чем пользу, поэтому в тяжелых случаях необходимо обратиться к врачу. Особенно это относится к детям до пятилетнего возраста.

За год скорпионы жалят до 1.2 миллиона человек, из которых умирает свыше 3000 (около 0.25 %). Из известных видов скорпионов, по разным оценкам, от 25 до 50 видов опасны для человека и относятся к родам: *Buthus*, *Parabuthus*, *Mesobuthus*, *Buthotus*, *Tityus*, *Leiurus*, *Androctonus* и *Centruroides* (табл. 8.1).

Таблица 8.1

Распространение опасных для человека родов скорпионов

Род	Ареал
<i>Buthus</i>	Средиземноморье, от Испании до Ближнего Востока
<i>Parabuthus</i>	Западная и Южная Африка
<i>Mesobuthus</i>	Азия
<i>Buthotus</i> ( <i>Hottentotta</i> )	Южная Африка, Юго-Восточная Азия
<i>Tityus</i>	Центральная Америка, Южная Америка, Вест-Индия
<i>Leiurus</i>	Северная Африка, Ближний Восток
<i>Androctonus</i>	Средиземноморье, Ближний Восток
<i>Centruroides</i>	Южная часть США, Мексика, Центральная Америка и Вест-Индия



Рис. 8.4. Скорпион *Leirus quinquestriatus* (Wikipedia Commons)

В странах Средиземноморья, тропической Африки и Ближнего Востока крайне опасны скорпионы трёх видов: *Androctonus australis*, *Leirus quinquestriatus* (рис. 8.4) и *Androctonus crassicauda*. В Мексике наибольшую опасность представляет скорпион *Centruroides suffusus*, а в Южной Америке – скорпионы рода *Tityus*, например, *Tityus serrulatus*.

### 8.1.3. Химический состав и механизмы действия цельного яда скорпионов

Цельный нативный яд представляет собой бесцветную, слегка опалесцирующую жидкость со слабокислой реакцией. Белковые компоненты яда довольно термостабильны и выдерживают нагревание до 80°C без существенной потери активности. В яде присутствуют углеводы, представленные моно- и полисахаридами, у некоторых скорпионов обнаружены биогенные амины, например серотонин (*L. quinquestriatus*), гистамин (*Palamneus gravimanus*). Особый интерес представляет белковая фракция яда, содержащая токсические полипептиды и ферменты (табл. 8.2), в числе которых имеются типичные для животных ядов фосфолипаза, гиалуронидаза и металлопротеазы.

Во второй половине прошлого века начались систематические исследования химического состава яда скорпионов, которые, благодаря применению эффективных методов фракционирования и очистки сложных смесей высокомолекулярных соединений, позволили выделить из яда различных видов скорпионов несколько десятков индивидуальных полипептидных токсинов и установить их первичную структуру. Одну из групп токсических пептидов составляют полипептиды, лишённые дисульфидных связей, состоящие из 5–10-аминокислотных остатков и обладающие анимикробной, гемолитической и брадикинин-потенцирующей активностью.

Более изученными являются полипептиды второй группы, стабилизированные дисульфидными связями.

По видоспецифической токсичности исторически они были разделены на три подгруппы. К первой подгруппе относятся токсины, проявляющие максимум активности на млекопитающих (*mammal toxins*), которые называют *млекотоксинами*. Во вторую подгруппу входят токсины, избирательно действующие на насекомых, – *инсектотоксины* (*insect toxins*). Третью подгруппу представляют токсины, максимально активные для ракообразных (*crustacean toxins*), назовем их *крустацеан-*

Таблица 8.2

## Некоторые ферменты яда скорпионов

Тривиальное название	Шифр	Систематическое название
<b>Гидролазы</b>		
Фосфолипаза А <sub>2</sub>	3.1.1.14	Фосфатид-ацилгидролаза
Фосфолипаза В	3.1.1.5	Лизолецитин-ацилгидролаза
Ацетилхолинэстераза	3.1.1.7	Ацетилхолин-ацилгидролаза
Кислая фосфатаза	3.1.3.2	Фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты
5'-Нуклеотидаза	3.1.3.5	5'-Рибонуклеотид-фосфогидролаза
Фосфодиэстераза	3.1.4.1	Фосфогидролаза ортофосфорных эфиров
Гиалуронидаза	3.2.1	Гиалуронат-гликаногидролаза
<b>Трансферазы</b>		
Рибонуклеаза	2.7.7.16	Полирибонуклеотид-2-олигонуклеотид трансфераза (циклизующая)

*токсины*. Следует отметить, что эта классификация не исчерпывающая, поскольку целый ряд токсинов проявляет относительную селективность.

Экспериментальное изучение влияния яда скорпионов на важнейшие функциональные системы организма позволило во многом конкретизировать основные механизмы его токсического действия. Наиболее полно разработаны вопросы, касающиеся, в основном, влияния ядов на функции сердечно-сосудистой системы, исследованы механизмы высвобождения медиаторов под действием ядов, а также природа взаимодействия нейротоксинов яда скорпионов с аксональными мембранами. Характерная черта интоксикации животных ядом скорпионов – быстрота возникновения и развития основных симптомов. Первые признаки отравления проявляются уже через несколько минут после введения яда и достигают максимального развития к концу первого часа. У выживших животных признаки интоксикации резко ослабевают или исчезают через 2–18 ч. Иногда наблюдается периодическое угасание и нарастание симптомов отравления, причем повторяются они нередко через несколько дней после казалось бы полного выздоровления животного.

Наиболее токсичные виды скорпионов принадлежат к родам *Leiurus*, *Buthus*, *Androctonus* (Африка, Азия), *Centruroides* (юг США, Мексика), *Tityus* (Бразилия) (табл. 8.3).

Таблица 8.3

Токсичность и паралитическая активность яда некоторых видов скорпионов для белых мышей и личинок *Sarcophaga* (Zlotkin et al., 1971)

Виды скорпионов	Токсичность DL <sub>50</sub> , мкг/мышь	Паралитическая активность, мкг/личинка
<i>Leiurus quinquestriatus</i>	5.1	0.22
<i>Androctonus aeneas aeneas</i>	6.2	0.05
<i>A. mauretanicus mauretanicus</i>	6.3	0.47
<i>A. australis</i>	7.0	0.29

<i>Centruroides santa maria</i>	7.7	3.82
<i>Androctonus crassicauda</i>	8.0	0.68
<i>Tityus serrulatus</i>	8.6	2.17
<i>Buthiscus bicalcaratus</i>	12.0	0.07
<i>Centruroides limpidus tecotmanus</i>	13.7	0.22
<i>Androctonus amoreuxi</i>	15.0	0.36
<i>Buthacus leptochelis</i>	15.3	0.09
<i>Buthus occitanus tunetanus</i>	17.9	0.05
<i>Buthacus arenicola</i>	19.8	0.07
<i>Buthus occitanus paris</i>	83.0	0.03

Существенную вариабельность в токсичности ядов скорпионов трудно объяснить однозначно, поскольку токсичность одного вида скорпионов может изменяться в довольно значительных пределах под влиянием различных факторов: времени сбора яда, размера и пола особей, экологических факторов, физиологического состояния животного, а также способа получения яда, его первичной обработки и условий хранения.

Основным компонентом, определяющим токсичность яда, являются токсические полипептиды, активность которых в несколько раз превосходит токсичность целого яда. Видоспецифичность действия нейротоксинов яда скорпионов иллюстрирует табл. 8.4, в которой активность целого яда принята за единицу. Анализ таблицы показывает, что наибольшей видовой специфичностью обладает инсектотоксин, не действующий на нервно-мышечные соединения других групп животных. Млечотоксины и крустацеантоксины обладают относительной специфичностью. Возможно, что явление избирательной токсичности может представлять собой химическую адаптацию к изменению в источниках питания скорпионов в связи с выходом на сушу.

Таблица 8.4

**Специфичность действия токсинов из яда скорпиона на животных различных систематических групп**

Токсины	Насекомые	Ракообразные	Паукообразные	Млекопитающие
Целый яд*	1	1	1	1
Крустацеантоксин	18	127	67	0.7
Инсектотоксин	115	Не эффективен	Не эффективен	Не эффективен
Млечотоксин I	7	27	11	1
Млечотоксин II	2	4	5	22

\* Активность целого яда принята за единицу.

Дадим краткую токсинологическую характеристику яду скорпионов, принадлежащих к основным семействам отряда.

**Семейство Buthidae.** Космополитическое семейство, состоящее из 804 видов, из которых токсинологическое значение имеют роды *Buthus*, *Androctonus*, *Leiurus*, *Centruroides*, *Tityus*. Яд буюидов вызывает ряд патологических реакций, ведущим звеном которых является массивный выброс нейромедиаторов из постганглионарных окончаний ВНС. В результате развиваются фазовые сдвиги со стороны АД, сердечного ритма, дыхания, наблюдаются изменения содержания в крови биологически активных веществ и гормонов. Резкое увеличение высвобождения нейромедиаторов приводит к нарушению функционального состояния иннервируемых органов. Действие ядов буюидов на сердце млекопитающих имеет

двухфазный характер: начальная брадикардия сменяется тахикардией и усилением амплитуды сердечных сокращений. Первая фаза имеет холинергическую природу и купируется атропином, вторая – связана с гиперсекрецией катехоламинов. На внутриклеточном уровне действие яда *B. eupreus* на сердечную мышцу реализуется через систему циклических нуклеотидов. Во время брадикардии нарастает уровень цГМФ, тогда как фаза тахикардии связана с увеличением содержания цАМФ. Изменения АД экспериментальных животных под действием этих ядов также носят двухфазный характер: начальная кратковременная гипотензия сменяется длительной и стойкой реакцией повышения АД. Начальное падение АД носит холинергическую природу и полностью блокируется атропином. Вторичная гипертензия имеет более сложный механизм и, кроме прямой активации симпатического отдела ВНС, зависит от увеличения продукции ренина и альдостерона. Особенностью яда *B. tamulus* является развитие стойкой гипотензивной реакции, что может быть связано с присутствием в его составе гистаминлибераторного фактора с  $M_r \sim 9500$ . Под действием яда скорпионов существенно нарушается углеводный обмен, характеризующийся выраженной гипергликемией на фоне активации гликогенолиза в печени и мышцах. Увеличение содержания глюкозы в крови протекает, как правило, по механизму катехоламиновой гипергликемии, но в случае яда *B. quinquestriatus* может быть связано с присутствующим в его составе серотонином. Гипергликемия, вызванная ядом скорпионов, отражается на функции поджелудочной железы, в которой усиливается секреция инсулина и тормозится выработка глюкагона. Яд оказывает и прямое действие на экзокринные функции поджелудочной железы, вызывая резкое усиление секреции амилазы и трипсина. Этот эффект блокируется атропином, что указывает на его холинергическую природу и позволяет понять патогенез острых панкреатитов, наблюдаемых у ужаленных скорпионами людей.

Нейротропные свойства яда скорпионов проявляются не только в изменении вегетативной регуляции гомеостаза, но и в прямом воздействии на ЦНС. Инъекция, ядов *B. eupreus* и *Tityus serrulatus* (титиустоксина) в желудочки мозга экспериментальных животных вызывает у них развитие судорожных состояний. При введении токсических доз смерть может наступить в результате острого отека легких, вызванного гиперсекрецией катехоламинов. В сублетальных дозах яд *B. eupreus* вызывает у крыс появление в ЭЭГ комплексов типа «пик – волна», характерных для малого эпилептического припадка. Эти данные проливают свет на патогенез судорожных состояний у людей при поражении ядом скорпиона, особенно в детском возрасте, когда защитные функции ГЭБ еще не совершенны.

**Семейство Scorpionidae.** Это семейство (243 вида) вместе с семействами Chactidae (164 вида), Bothriuridae (136 видов), Diplocentridae (243 вида) и Vejovidae (166 видов) составляет группу хактоидных скорпионов. В отличие от булоидов, яд хактоидов изучен менее подробно. Однако имеющиеся сведения указывают на значительные различия с гомологичными токсинами булоидов. Сем. Scorpionidae распространено от Африки до Индонезии и Австралии, а также в центральной и северной частях Южной Америки. Ниже будут рассмотрены яды некоторых представителей родов *Scorpio*, *Pandinus*, *Heterometrus*.

Из яда *S. maurus palmatus* впервые среди скорпионов-хактоидов выделены и изучены токсические компоненты. В яде присутствуют два инсектотоксина, млекотоксин, прямой литический фактор (ПЛФ) и фосфолипаза  $A_2$ . По отдельности инсектотоксины обладают только 2–3% активности целого яда, но их совместное применение воспроизводит 20% активности целого яда для насекомых. Совместное применение

инсектотоксинов на 80% блокирует калиевый и натриевый ток в изолированном аксоне таракана, с чем, по-видимому, и связано паралитическое действие яда. Наличие цитотоксина (ПЛФ) в яде *S. maurus palmatus* – отличительный признак хактоидов. ПЛФ обладает гемолитическим действием, и его эффект усиливает фосфолипаза А<sub>2</sub>, что сближает его с цитотоксинами из ядов пчел и змей.

Яды индийских скорпионов *Heterometrus fulvipes* и *H. gravimanus* обладают нейротропной активностью, вызывают гипергликемию, связанную с увеличением продукции адреналина. Токсическое начало яда *H. fulvipes* – гликопротеин с  $M_r \sim 15000$ . В яде *H. gravimanus* обнаружены ацетилхолин (8–15 мкг/мл) и гистамин (30 мкг/мл), присутствие которых объясняет гипотензивное действие яда.

В отличие от *Heterometrus*, яд *Pandinus exitialis* вызывает повышение АД, обусловленное высвобождением катехоламинов. В яде также присутствует серотонин, что необходимо учитывать при выборе средств патогенетической терапии.

**Семейство Vejovidae.** Распространено от юго-запада Канады до Южной Америки, а также на юге Европы, в Индии и Индонезии. Гипотензивное действие яда *Palamneus gravimanus*, обитающего в Индии и на о. Цейлон, связано с гистамином, присутствующим в яде. Кроме того, в яде обнаружена гиалуронидаза и щелочная фосфатаза. Токсичность яда обусловлена белковым компонентом с  $M_r \sim 7000$ . В низких концентрациях яд *P. gravimanus* обладает прокоагулянтной активностью, связанной с активацией фактора X. Высокие концентрации вызывают антикоагулирующий эффект. В яде другого представителя этого семейства *Vejovi s spinigerus* обнаружен фактор с антихолинэстеразной активностью.

**Семейство Diplocentridae.** Распространено в Египте, Израиле, Эфиопии, Индии, а также на юго-западе США и севере Южной Америки. Яд *Nebo hierochonticus*, обитающего в Израиле, токсичен для позвоночных и беспозвоночных животных. У простейших вызывает прекращение движений и выброс трихоцист. Яд обладает гемолитическим действием, не связанным с протеолитической активностью. У людей, ужаленных *N. hierochonticus*, наблюдается жгучая боль, эритема, отек, в тяжелых случаях – некротические изменения в месте поражения.

## 8.2. ХИМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПОЛИПЕПТИДНЫХ ТОКСИНОВ ЯДА СКОРПИОНОВ

В настоящее время известно большое количество пептидных токсинов, полученных из яда скорпионов, взаимодействующих с различными ионными каналами: натриевыми, калиевыми, хлорными, кальциевыми и представляющими интерес в лечении и диагностике соответствующих каналопатий, а также связанных с ними болезней: астмы, диабета, стенокардии, ишемической болезни, гипертонии, хронических воспалений, аутоиммунных заболеваний и рака. Первоначально токсины скорпионов применялись в электрофизиологических исследованиях как селективные зонды, модифицирующие активность ионных каналов электрогенной нервной мембраны. В настоящее время спектр использования этих токсинов значительно расширился, они применяются как универсальные средства биотехнологии и служат инструментами молекулярной терапии. Особенности структуры и механизмов действия этих токсинов целесообразно рассмотреть в соответствии с классификацией их мишеней.

### 8.2.1. Нейротоксины скорпионов и Na<sup>+</sup>-каналы

С конца 60-х годов прошлого века принято считать, что нейротоксины скорпионов, в основном буроидов, представляют собой одиночную полипептидную цепь, состоящую 60–75 аминокислотных остатков, трехмерная структура которых стабилизирована обычно четырьмя дисульфидными связями, а молекулярная масса ~ 7000 Да (рис. 8.5).

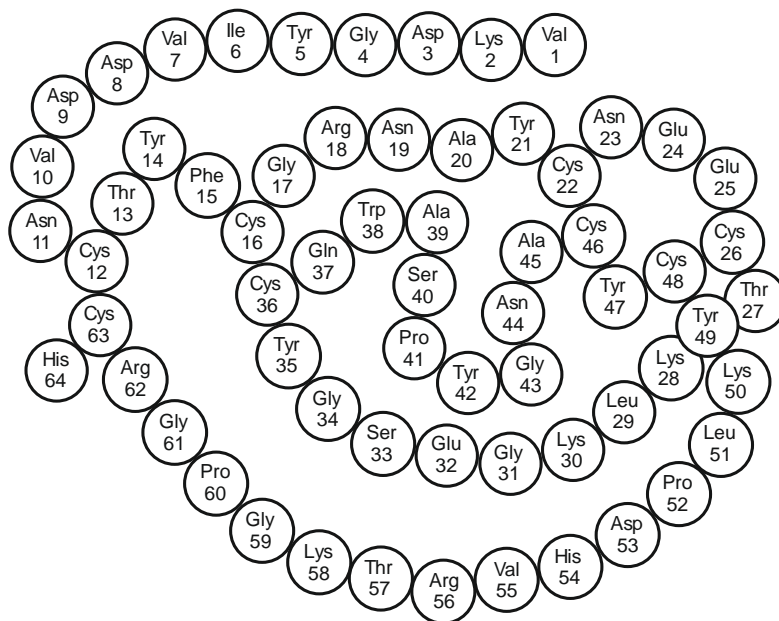


Рис. 8.5. Ковалентная структура нейротоксина II из яда скорпиона *Androctonus australis* (Koreyan et al., 1976)

В нашей стране в Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН под руководством академика Е.В. Гришина из яда скорпиона *Buthus eupeus* были выделены пятнадцать различных токсинов, в том числе гомологичные инсектоксины  $I_1, I_3, I_4, I_5$ , принадлежащие к новому структурному типу токсинов скорпионов. Существенным признаком этих токсинов с низкой молекулярной массой (приблизительно 4000 Да) является наличие двух или трех остатков метионина в их аминокислотном составе. Основным токсическим компонентом яда среднеазиатского скорпиона *Buthus eupeus* является млекотоксин  $M_{10}$  (рис. 8.6), его содержание в яде составляет около 2.2%, а токсичность для мышей –  $DL_{50}$  0.72 мг/кг. Нейротоксин  $M_{10}$  состоит из 65 аминокислотных остатков. В его составе полностью отсутствуют остатки треонина, метионина и гистидина. По своей аминокислотной последовательности токсин  $M_{10}$  сходен с нейротоксинами А-II из яда *Androctonus australis* и L-V из яда *Leiurus quinquestriatus*.

VRDGYIADDDKCA YFCGRNAYCDGGCKKGAESGKWCYAGYGNACWCYKLPDWPV I KQK VSGKCN

Рис. 8.6. Полная аминокислотная последовательность токсина  $M_{10}$  из яда скорпиона *Buthus eupeus* (Гришин и др., 1980)



По современным представлениям нейротоксины из яда скорпионов представляют собой небольшие белки, в структуре которых присутствует  $\beta$ -лист из трех тяжей и короткая  $\alpha$ -спираль, скрепленные четырьмя дисульфидными связями (рис. 8.7). Такая жесткая и эволюционно консервативная структура образует «сердцевину» молекулы, а две петли и С-конец образуют динамически подвижный «модуль специфичности» (показан пунктирным овалом), отличающийся у млеко- и инсектотоксинов.

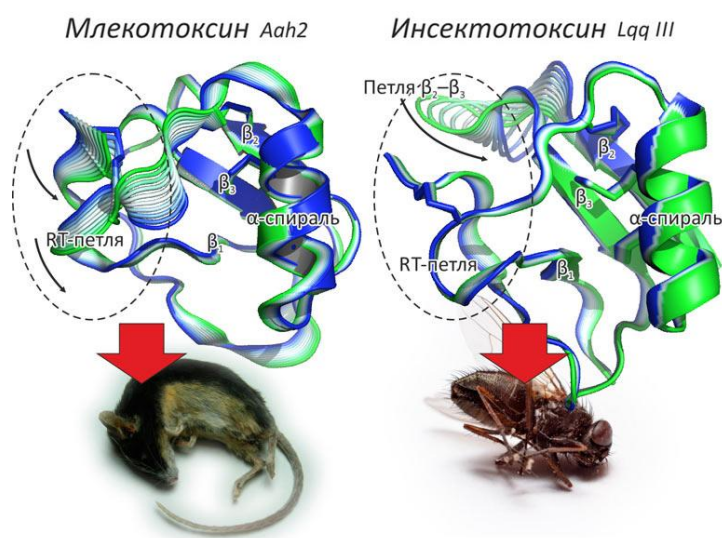


Рис. 8.7. Модульная структура нейротоксинов яда скорпионов, взаимодействующих с  $\text{Na}^+$ -каналом. Рисунок показывает результаты анализа характерных внутренних движений по данным молекулярной динамики. Цветной спектр конформаций изображает динамическую подвижность каждой из молекул (Chugunov et al., 2013; <http://Биомолекула.ру>)

В низких дозах нейротоксины скорпионов вызывают возбуждение нервно-мышечных синапсов у позвоночных и беспозвоночных. При увеличении дозы активация сменяется блоком проведения и развитием паралича, что иллюстрируется рис. 8.8.

Ключевым моментом, позволяющим понять механизмы нейротропного действия яда скорпиона, является природа его взаимодействия с возбудимыми мембранами. Уже в первых работах, проведенных во второй половине прошлого века, было показано, что нейротоксины, выделенные из яда буютоидов, модифицируют работу потенциал-чувствительных натриевых каналов (ПЧНК) электровозбудимых мембран (рис. 8.9А). Полученные из яда *Vuthus eurreus* млекотоксины в концентрации от  $10^{-9}$  М до  $10^{-7}$  М замедляли скорость инактивации быстрых натриевых каналов. В результате деполяризующего действия нейротоксинов наблюдается возникновение ритмических ПД, возрастает их длительность, увеличивается высвобождение нейромедиаторов из пресинаптических терминалей. Связывание токсинов с мембраной существенно зависит от мембранного потенциала и снижается при деполяризации мембраны (рис. 8.9Б).

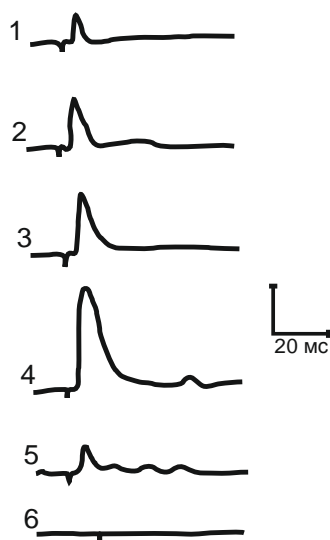


Рис. 8.8. Влияние яда скорпиона *Leiurus quinquestriatus* на ВПСП в *m. flexor tibialis* саранчи, вызванные одиночной стимуляцией нерва (Parnas et al., 1970): 1 – фон; 2 – через 1 мин после добавления 0,1 мкг/мл яда; 3 – через 2 мин после добавления 0,3 мкг/мл яда; 4 – через 1 мин после добавления 20 мкг/мл яда; 5 – добавление 50 мкг/мл яда, заметно угнетение ВПСП и появление дополнительных потенциалов; 6 – блок проведения через 10 мин. Калибровка амплитуды для записей 1–3 – 2 мВ, для 4–5 – 4, для 6 – 1 мВ

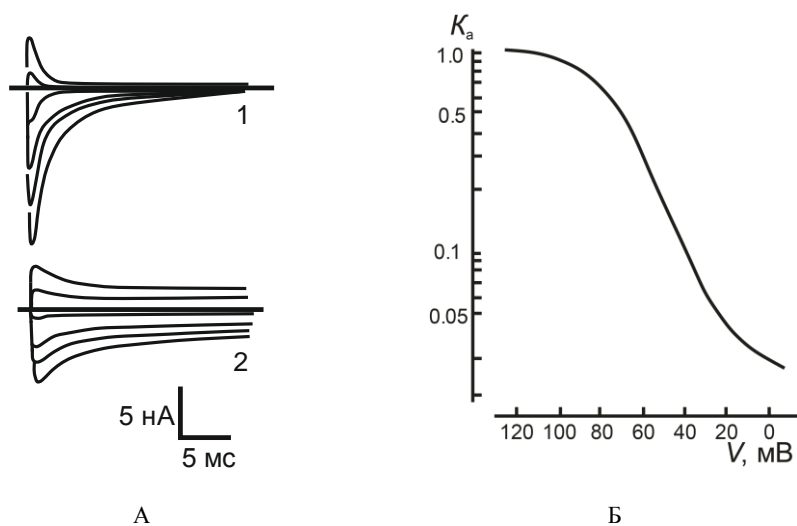


Рис. 8.9. Влияние нейротоксина из яда скорпиона *Buthus eupeus* на мембрану перехвата Ранвье нерва лягушки (Можяева и др., 1978): А – ионные токи при различных значениях деполяризующих тестовых импульсов: 1 – фон; 2 – через 10 мин после добавления нейротоксина  $3.3 \times 10^{-7}$  моль/л; Б – зависимость константы связывания комплекса токсин – канал ( $K_a$ ) от мембранного потенциала ( $V$ ). По оси ординат – логарифмический масштаб

Напомним, что нейротоксины яда скорпионов характеризуются не абсолютной видоспецифичностью: есть также бимодальные нейротоксины, действующие на ПЧНК и млекопитающих, и насекомых. Так, компьютерный анализ дал возможность предсказать такую бимодальность для токсина М9 из яда среднеазиатского скорпиона *Mesobuthus eupeus*. Последующий биоинженерный синтез и тестирование активности этого токсина на рекомбинантных ПЧНК подтвердили высказанное предположение.

Прежде чем подробнее рассмотреть механизм взаимодействия нейротоксинов скорпионов с ПЧНК, необходимо вкратце остановиться на современных представлениях о строении натриевых каналов.

**Строение и функционирование ПЧНК.**  $\text{Na}^+$ -канал состоит из трех субъединиц, присутствующих в равных пропорциях: одна представляет собой большой гликопротеин с молекулярной массой 280 кДа ( $\alpha 1$ ), а две другие – малые полипептиды с молекулярными массами 36 ( $\beta 1$ ) и 33 кДа ( $\beta 2$ ).  $\alpha 1$ -Субъединица является основной и универсальной, тогда как малые субъединицы различаются в разных типах тканей. В скелетной мышце экспрессируется  $\beta 1$ -субъединица, а в мозге и сердце – дополнительно  $\beta 2$ -субъединица. Удаление  $\beta 1$ -субъединицы приводит к потере функциональных свойств  $\text{Na}^+$ -каналов, тогда как удаление  $\beta 2$ -субъединицы не оказывает никакого влияния на работу канала.  $\beta$ -Субъединицы  $\text{Na}^+$ -каналов, по-видимому, имеют двойную функцию: модуляция воротного механизма канала и фиксация канала в определенном месте.  $\beta 1$ -Субъединица оказывает влияние на величину ионного тока через канал, регулируя процессы активации и инактивации.  $\beta 1$ - и  $\beta 2$ -Субъединицы близки по структуре к большому семейству молекул клеточной адгезии, которые опосредуют связь между клетками в нервной системе и в других тканях. Оказалось, что  $\text{Na}^+$ -каналы через  $\beta 2$ -субъединицу связываются с белками внеклеточного матрикса, что обеспечивает формирование специализированных зон с высокой плотностью  $\text{Na}^+$ -каналов в перехватах Ранвье и начальном сегменте аксона. Идентифицированы 10 различных генов, кодирующих  $\alpha$ -субъединицу потенциал-активируемого  $\text{Na}^+$ -канала.  $\alpha 1$ -Субъединица состоит из длинной полипептидной цепи, состоящей, примерно, из двух тысяч аминокислотных остатков. Эта полипептидная цепь содержит четыре сходных повтора (I–IV). В пространстве структура натриевого канала представлена пятью доменами: одним поровым доменом (ПД) и четырьмя потенциал-чувствительными доменами (ПЧД) (рис. 8.10).

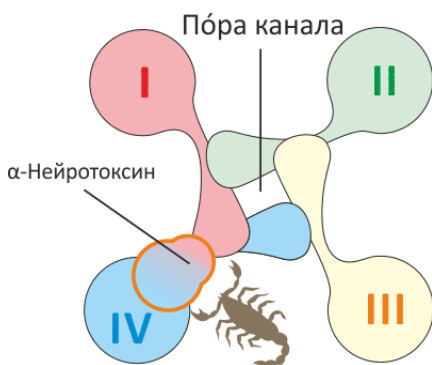


Рис. 8.10. Потенциал-чувствительный натриевый канал имеет форму диафрагмы фотоаппарата, где поровая часть одного домена канала взаимодействует с потенциал-чувствительной частью другого домена. Показано взаимодействие  $\alpha$ -нейротоксина с ПЧД-IV (Chugunov et al., 2013; <http://Биомолекула.ru>)

В образовании порового домена участвуют все повторы полипептидной цепи; таким образом, в центре ПД формируется селективная пора для ионов  $\text{Na}^+$ . В свою очередь, четыре потенциал-чувствительные домена (ПЧД) – по одному от каждого повтора – расположены вокруг центрального ПД. Их функция – реагировать на изменение мембранного потенциала и передавать команду на открытие поры. Вернемся к повторам I–IV. Каждый повтор содержит шесть трансмембранных  $\alpha$ -спиралей (сегменты S1–S6). При этом только четыре спирали (сегменты S1–S4) формируют потенциал-чувствительный домен. По две спирали (сегменты S5–S6) от каждого повтора образуют единственный поровый домен, который, таким образом, сформирован восемью спиралями. Четвертая спираль в каждом ПЧД (сегмент S4) положительно заряжена и является сенсором потенциала – трансмембранного потенциала (рис. 8.11).

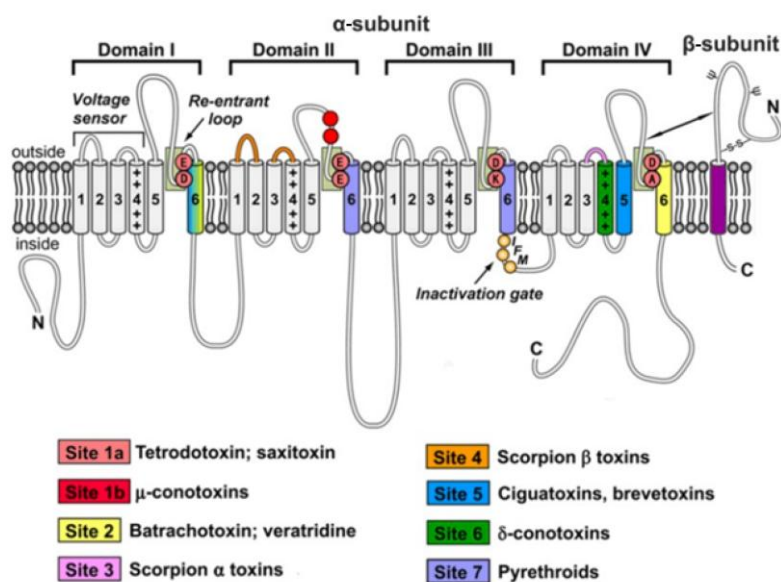


Рис. 8.11. Принципиальная схема молекулярной структуры и фармакологии  $\text{Na}^+$ -канала. Трансмембранные сегменты (S1–S6) изображены цилиндрами. Центральная пора формируется из трансмембранных сегментов S5 и S6. Сенсор потенциала формируется из трансмембранных сегментов S4. Быстро инактивирующиеся ворота образованы внутриклеточным линкером между трансмембранными доменами III и IV и обозначены IFM (оранжевые шарики). Вспомогательные  $\beta$ -субъединицы ПЧНК показаны красными цилиндрами. Различные цветные участки соответствуют видам рецепторов нейротоксинов (King et al., 2008, 2012; Catterall et al., 2007; Zhang et al., 2013)

Итак, в пространстве повторы ПЧНК располагаются вокруг общей оси, при этом центральный поровый домен канала окружен ПЧД. Участок между сегментами S5 и S6 содержит «селективный фильтр», опосредующий избирательное пропускание ионов  $\text{Na}^+$ .

**Фармакологическая классификация  $\text{Na}^+$ -каналов.** Ряд биологических токсинов модифицируют свойства  $\text{Na}^+$ -каналов. По участкам связывания и механизмам блокирующего действия все токсины можно разделить на несколько групп.

*Первая группа.* Токсины этой группы блокируют ионную проводимость  $\text{Na}^+$ -канала. К ним относятся тетродотоксин, сакситоксин и неосакситоксин,  $\mu$ -конотоксины.

*Вторая группа.* Токсины этой группы вызывают постоянную активацию  $\text{Na}^+$ -каналов. Это растительные алкалоиды вератридин, аконитин и грайянотоксин, а также батрахотоксин – секрет кожных желез колумбийских лягушек. Постоянная активация  $\text{Na}^+$ -каналов при действии этих веществ объясняется сдвигом потенциал-зависимости активации к более отрицательным значениям мембранного потенциала и блокированием быстрой инактивации. При действии этих токсинов каналы более легко открываются, увеличивается время их открытого состояния, поэтому их называют агонистами или активаторами  $\text{Na}^+$ -каналов.

*Третья группа.* В эту группу входят  $\alpha$ -токсины, выделенные из яда североафриканских скорпионов родов *Androctonus*, *Buthus* и *Leiurus*. Ряд полипептидных токсинов был выделен из морской анемоны *Anemonia sulcata*. Токсины этой группы, связываясь с внеклеточной стороной  $\text{Na}^+$ -канала, блокируют или замедляют инактивацию  $\text{Na}^+$ -проводимости, предотвращая переход канала из открытого в инактивированное состояние. Анемотоксины I, II, III, продлевая потенциал действия нерва, вызывают спонтанную и повторную активность.

*Четвертая группа.* Токсины этой группы смещают потенциал-зависимость активации  $\text{Na}^+$ -канала к более отрицательным значениям мембранного потенциала, не влияя на инактивацию. В результате этого  $\text{Na}^+$ -токи появляются уже при потенциале  $-70$  мВ, при котором в норме  $\text{Na}^+$ -каналы закрыты. Предполагается, что эффект этих полипептидных токсинов обусловлен связыванием с сенсором потенциала  $\text{Na}^+$ -канала. К ним относятся  $\beta$ -токсины яда бразильских скорпионов *Tityus serrulatus*, *T. bahiensis*, *T. stigmurus*.

*Пятая группа.* Токсины этой группы вызывают повторную нейрональную активность, изменяют потенциал-зависимость и блокируют инактивацию  $\text{Na}^+$ -каналов. К ним относятся токсины динофлагеллят бреветоксин и сигуатоксин.

*Шестая группа.* К этой группе относятся пиретроидные инсектициды. Они вызывают гипервозбуждение и паралич животных

**Взаимодействие нейротоксинов с  $\text{Na}^+$ -каналами.** По современным представлениям нейротоксины скорпионов делятся на две группы:  $\alpha$ - и  $\beta$ -токсины<sup>67</sup> в соответствии с участками их связывания в  $\text{Na}^+$ -каналах, а также с вызываемым фармакологическим эффектом (см. выше).  $\alpha$ -Токсины ингибируют фазу инактивации потенциала действия, тогда как  $\beta$ -токсины действуют на стадии активации канала. Таким образом, несмотря на то, что обе группы токсинов активируют канал, делают они это по-разному.  $\alpha$ -Токсины тормозят закрытие канала и этим пролонгируют длительность ПД,  $\beta$ -токсины, напротив, – помогают открытию канала. Соответственно и места взаимодействия с ПЧНК у этих токсинов разные: те и другие связываются с так называемыми потенциал-чувствительными доменами (ПЧД), но для  $\alpha$ -токсинов это рецепторный сайт 3, а для  $\beta$ -токсинов – сайт 4 (рис. 8.12).

Следует подчеркнуть, что присутствующие в яде скорпионов  $\alpha$ -токсины встречаются как среди инсектотоксинов, так и млекопитающих. Общим для них является домен связывания – ПЧД-IV, но находящийся в разных  $\text{Na}^+$ -каналах, то есть каналах разных организмов и/или разных морфологических структур. Так, у насекомых есть свой  $\text{Na}^+$ -канал, тогда как у млекопитающих девять видов  $\text{Na}^+$ -каналов (Nav1.1 – Nav1.9). У млекопитающих эти  $\text{Na}^+$ -каналы выполняют

---

<sup>67</sup> Эти обозначения лишь совпадают с аналогичными, применяемыми для характеристики структуры белков.

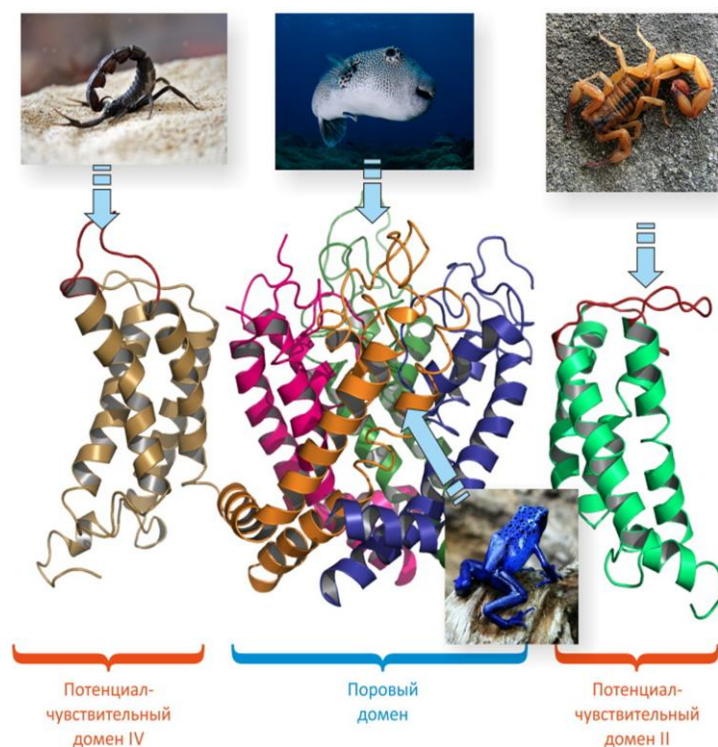


Рис. 8.12. Взаимодействие природных нейротоксинов с компонентами ПЧНК: центральным поровым доменом и двумя потенциал-чувствительными доменами II и IV. Тетродотоксин из рыбы фугу блокирует пору ПЧНК, связываясь с внеклеточной стороны. Батрахотоксин из кожи колумбийской лягушки проникает через мембрану и встраивается внутрь поры канала, вызывая его активацию.  $\alpha$ -Токсины скорпионов подавляют процесс естественной инактивации каналов.  $\beta$ -Токсины скорпионов активируют ПЧНК (<http://Биомолекула.ru>)

разные функции. Например, Nav1.2 характерен для центральной нервной системы, Nav1.4 – для скелетной мускулатуры, Nav1.5 – для сердечной мышцы.

Мишенью действия *крустацеантоксина* (Cn11), выделенного из яда мексиканского скорпиона *Centruroides noxius* Hoffmann, также является  $\text{Na}^+$ -канал. Этот токсин содержит 63 аминокислотных остатка и стабилизирован четырьмя дисульфидными мостиками. В дозе 15 мкг на взрослого рака токсин вызывает смерть карликовых раков (*Cambarellus montezumae*), но в дозе 20 мкг на особь был не токсичен для насекомых (сверчков *Acheta* spp.) и для млекопитающих (мышей) в дозе 180 мкг/20 г. В нейронах, выделенных из X органа синусовой железы рака *Procambarus clarkii*, токсин блокирует  $\text{Na}^+$ -токи, не затрагивая при этом  $\text{Ca}^{2+}$ - и  $\text{K}^+$ -токи. В присутствии 1 мкмоль/л Cn11 амплитуда  $\text{Na}^+$ -тока была уменьшена на 75% без видимых изменений в функционировании воротного механизма  $\text{Na}^+$ -канала. Эти данные позволяют предположить, что Cn11 избирательно блокирует  $\text{Na}^+$ -канал, не затрагивая воротный механизм. Рис. 8.13 дает возможность сравнить первичную структуру нового токсина с уже известными лигандами натриевого канала.

№	Токсин	Аминокислотная последовательность							Процент совпадения																																																										
		1	10	20	30	40	50	60		70																																																									
1	AaIII	VKDGIV	-DDVNC	TYFCGR	--	NAUCNE	ESTKIKGE	--	SGYQW	ASPYGN	ACYSUKL	FDHVR	--	TKGFGR	CH	36																																																			
2	CssII	-KEG	YLVSK	STGCK	YECL	KLGD	NDYCL	RECK	QYK	SSGG	YSU	-A	---	FACW	STHL	YEQAV	VWVPL	PNKTC	32																																																
3	Tsgamma	-KEG	YLM	DHE	-GCK	LSCFI	-RPSG	YCGR	EGIK	KG	--	SSG	YCAM	--	P	---	AC	YGLP	NWVK	VDRA	TNKC	46																																													
4	LqIIIT2	--	DGY	I	KRRD	-GCK	VAC	LIG	-N	EG	CDK	ECKA	-YGG	-SYG	CWTW	---	GL	ACW	CEGL	PPD	-K	TWK	SET	NT	CG	56																																									
5	LqIV	GVR	DAY	I	ADD	KNC	VYTC	GS	--	N	-SY	CN	TET	-KN	-GA	ESG	CQ	WL	GK	YGN	AC	WCI	KL	PD	KV	--	P	IRI	FG	KCR	34																																				
6	LqIII	V	R	D	A	I	A	K	N	-N	C	V	E	C	F	R	--	D	S	C	N	D	L	C	T	-K	N	-G	A	S	S	G	C	Y	A	L	P	D	N	V	P	I	--	R	V	P	G	K	C	H	37																
7	AaIIIT4	-E	NG	Y	L	L	N	K	Y	T	G	C	K	V	M	C	V	I	--	N	N	E	C	G	Y	L	C	N	-K	R	R	G	G	Y	G	Y	F	W	K	L	---	A	C	Y	C	Q	G	A	R	K	S	-E	L	M	N	Y	K	T	N	K	C	D	L	42			
8	CsEv3	-K	E	Y	L	V	K	S	D	G	C	K	Y	G	C	L	K	L	G	E	N	E	G	D	T	E	C	K	A	K	N	Q	G	G	S	Y	C	Y	A	-F	---	A	C	W	C	E	G	L	E	S	T	P	T	Y	P	L	P	N	K	S	-	35					
9	Cn10	-K	E	Y	L	V	N	K	S	T	G	C	K	Y	N	C	L	L	G	E	N	K	N	C	D	M	E	C	K	A	K	N	Q	G	G	S	Y	C	Y	K	-L	---	A	C	W	C	E	G	L	E	S	T	P	T	Y	P	I	P	G	K	T	C	R	T	39		
10	AaIIIT	K	K	G	Y	A	V	D	S	-G	K	A	R	E	C	L	L	-N	-Y	-C	Y	N	N	E	T	K	V	H	A	D	K	-G	Y	C	L	-L	-L	-S	C	Y	F	G	L	N	D	D	K	V	L	E	I	S	D	T	R	K	S	Y	C	D	T	T	I	N	28		
11	Cn11	A	R	D	G	P	V	D	E	K	-G	C	K	L	S	C	L	I	--	N	D	K	W	C	N	S	A	C	H	S	R	--	G	G	K	Y	G	Y	C	Y	T	-G	--	G	L	A	C	Y	C	E	A	V	P	D	N	V	K	V	T	Y	E	T	N	T	C	-	100

Пояснение:

1. AaIII – токсин II из яда *Androctonus australis*, прототип  $\alpha$ -токсинов скорпионов.
2. CssII – токсин II из яда *Centruroides suffusus suffusus*, прототип  $\beta$ -токсинов скорпионов.
3. Tsgamma – токсин gamma из яда *Tityus serrulatus*.
4. LqIIIT2 – инсектотоксин 2 из яда *Leiurus quinquestriatus hebraeus*.
5. LqIV – токсин IV из яда *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*.
6. LqIII – токсин III из яда этого же скорпиона.
7. AaIIIT4 – инсектотоксин 4 из яда *Androctonus australis*.
8. CsEv3 – вариант 3 из яда *Centruroides sculpturatus*.
9. Cn10 – инсектотоксин 10 из яда *Centruroides noxius*.
10. AaIIIT – инсектотоксин из яда *Androctonus australis*.
11. Cn11 – крустацеантоксин из яда *Centruroides noxius*.

Рис. 8.13. Сравнение первичной структуры крустацеантоксина Cn11 и десяти других нейротоксинов скорпионов, взаимодействующих с Na<sup>+</sup>-каналом (Ramirez-Dominguez et al., 2002)



Рис. 8.14. Скорпионовый хомячок, поедающий скорпиона (*Onychomys*) (Wikipedia Commons)

**«Аномальное» взаимодействие нейротоксинов скорпиона *Centruroides sculpturatus* с каналом Nav1.8.** Кузнечиковые хомячки, или скорпионовые хомячки (*Onychomys*) – род грызунов подсемейства хомяковых (рис. 8.14). Длина тела 9–13 см. Масса тела 40–60 г. Хвост короче половины длины тела. Обитают на территории от Южной Канады до Северной Мексики. Кузнечиковые хомячки активны весь год ночью. Эти животные едят мелких беспозвоночных и насекомых, охотятся на многоножек. Могут нападать на скорпионов и есть их, а также пожирать небольших грызунов и ящериц. Это ловкий, осторожный и в то же время дерзкий зверь, ведущий одиночный образ жизни. Только изредка, например около большого семейства скорпионов, может временно собраться несколько особей.

Объяснение повышенной резистентности хомячков к яду скорпионов по сравнению с лабораторными мышами, у которых укус скорпиона вызывает очень сильную боль, заключается в различной функциональной архитектуре натриевых каналов.

У млекопитающих болевая (ноцицептивная) информация передается в ЦНС с участием тетродотоксин-чувствительных (ТТХ-S)  $\text{Na}^+$ -каналов Nav1.7, или (ТТХ-S) Nav1.7, и тетродотоксин-устойчивых (ТТХ-R)  $\text{Na}^+$ -каналов Nav1.8, или (ТТХ-R) Nav1.8. Яды скорпионов сем. Buthidae Старого и Нового Света вызывают острую боль у млекопитающих, активируя каналы (ТТХ-S) Nav1.7, но не влияя на каналы (ТТХ-R) Nav1.8. Однако у хомячков яд, оказывая активирующее действие на (ТТХ-S) Nav1.7, в то же время вызывал блокирование (ТТХ-R) Nav1.8, то есть фактически вызывал анальгезию как местные анестетики (новокаин, лидокаин). Причем суммарный эффект анальгезии, реализуемый через ионные каналы (ТТХ-R) Nav1.8, был больше ноцицептивного эффекта от активирования каналов (ТТХ-S) Nav1.7, поэтому хомячки не чувствовали боли от ужаления скорпионами. Более того, анальгетический эффект имел последствие, и хомячки некоторое время не реагировали и на другие вещества (например формалин), вызывающие боль у контрольных животных (лабораторных мышей). Эти результаты показывают новое направление исследований в поиске и биоинженерном дизайне анальгетиков, связанное с изучением структурно-функциональной организации каналов (ТТХ-R) Nav1.8.



## 8.2.2. Нейротоксины скорпионов и $K^+$ -каналы

В настоящее время  $K^+$ -каналы рассматриваются как молекулярные мишени при лечении широкого круга заболеваний человека – от астмы, диабета, стенокардии, ишемии сердца и гипертонии до хронического воспаления, аутоиммунных заболеваний и рака. Поэтому специфические лиганды  $K^+$ -каналов, в том числе и токсины скорпионов, естественным образом включены в сферу интересов исследователей различного профиля.

Однако существуют ограничения в изучении и использовании природных нейротоксинов, связанные с их низким содержанием в цельном яде (около 1%), при этом надо учесть, что для получения 1 мг нативного яда необходимо методом электростимуляции «доить» не менее 1000 скорпионов. Поэтому большое внимание уделяется получению синтетических и рекомбинантных токсинов, хотя они не всегда «выдерживают» конкуренцию с природными. Так, токсичность природного ноксиустоксина для мышей составляла 40 пг/г, тогда как синтетического – 200 пг/г. Кроме того, «выход» искусственно полученных токсинов тоже невысок.

**Строение и функционирование  $K^+$ -каналов.**  $K^+$ -каналы можно классифицировать по механизмам их активации. Так, существуют семейства потенциал-зависимых  $K^+$ -каналов,  $Ca^{2+}$ -активируемых  $K^+$ -каналов, рецептор-управляемых  $K^+$ -каналов и  $K^+$ -каналов, обозначаемых как «другие», ибо они не могут быть включены ни в один из трех названных типов. Например, потенциал-чувствительные калиевые каналы семейства  $Kv1$  – это порообразующие транспортные белки, которые регулируют проницаемость мембраны для ионов калия в ответ на изменение мембранного потенциала. Каналы семейства  $Kv1$  широко представлены в организме человека и выполняют разнообразные функции, включая поддержание потенциала покоя в невозбудимых клетках, частоту потенциала действия в возбудимых клетках, а также участвуют в кальциевой сигнализации, регуляции объема, секреции, пролиферации и миграции клеток. Обнаружено множество заболеваний, связанных с нарушениями структуры и нормального функционирования каналов  $Kv1$ . Так, например, канал  $Kv1.1$  экспрессируется в клетках центральной нервной системы, поэтому мутации канала ассоциированы с нейрональными отклонениями. Канал  $Kv1.6$  присутствует в легочной артерии, а его пониженная экспрессия – один из симптомов легочной гипертензии. Канал  $Kv1.3$  типичен для клеток иммунной системы. Показано, что экспрессия канала  $Kv1.3$  в мембране Т-лимфоцитов возрастает у больных аутоиммунными заболеваниями, астмой, пародонтозом. Блокаторы канала  $Kv1.3$  подавляют Т-клеточную пролиферацию и препятствуют развитию симптомов перечисленных заболеваний. В целом  $K^+$ -каналы возбудимых клеток участвуют в образовании мембранного потенциала покоя, обеспечивают реполяризацию мембраны во время потенциала действия, формируют следовую гиперполяризацию, модулируют повторную активность, имеют очень большое значение в регуляции секреции медиатора из нервных окончаний, принимают участие в механизмах обучения и памяти. Кроме потенциал-активируемых  $K^+$ -каналов, имеется широкий спектр  $K^+$ -каналов, активируемых или ингибируемых экзо- и эндогенными лигандами. Потенциал-нечувствительные  $K^+$ -каналы демонстрируют фоновую проводимость и, следовательно, определяют величину МП покоя и возбудимость. Они также играют роль в регуляции объема клетки и сигнальной трансдукции. Таким образом,  $K^+$ -каналы составляют наиболее представительный и гетерогенный класс ионных каналов

относительно кинетических свойств, регуляции, фармакологии и структуры. По количеству трансмембранных (ТМ) сегментов К-каналы можно разделить на несколько групп (рис. 8.15).

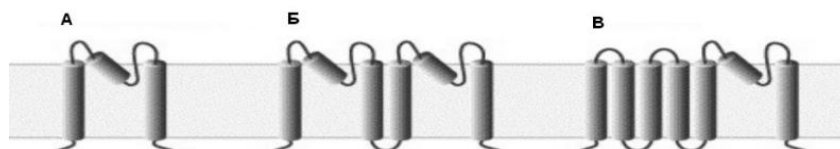


Рис. 8.15. Классификация  $K^+$ -каналов по количеству трансмембранных (ТМ) сегментов и порообразующих областей  $\alpha$ -субъединицы: А – каналы с двумя трансмембранными сегментами (2ТМ) и одной порой, Б – с четырьмя трансмембранными сегментами (4ТМ) и двумя порами, В – с шестью трансмембранными сегментами (6ТМ) и одной порой (Ситдикова и др., 2011)

В группе 6ТМ каждая субъединица имеет одну порообразующую область, а функциональный канал представляет собой тетрамер. Это семейство включает 8 подтипов потенциал-активируемых К-каналов, среди которых классический канал задержанного выпрямления, три типа  $Ca^{2+}$ -активируемых  $K^+$ -каналов и другие. Каналы 4ТМ – недавно обнаруженная группа, которая вносит вклад в пассивную проводимость (утечку) во многих нейронах. Каждая из субъединиц канала 4ТМ содержит две пороформирующие последовательности. Функциональный канал образован двумя субъединицами. И, наконец, третья группа – 2ТМ, к которой относят К-каналы входящего выпрямления, G-белок-активируемые  $K^+$ -каналы, а также АТФ-зависимые  $K^+$ -каналы. Классификация, основанная на структуре, имеет свои недочеты, обсуждение которых выходит за пределы этого пособия. Отметим, что у человека известно более 40 типов разных  $K^+$ -каналов.

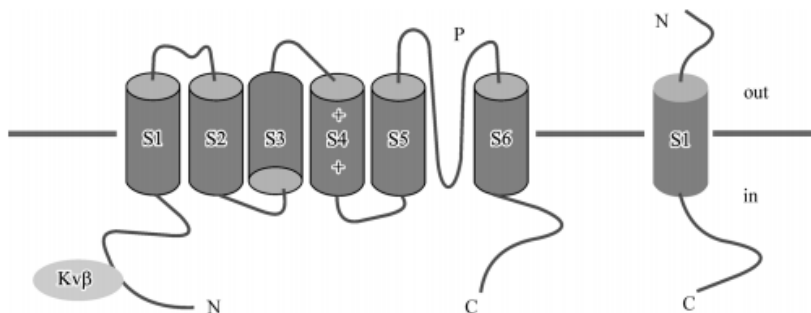


Рис. 8.16. Топология в мембране цитоплазматических ( $Kv\beta$ ) вспомогательных субъединиц  $K^+$ -канала: S1–S6 – трансмембранные  $\alpha$ -субъединицы, S4 – сенсор потенциала, P – порообразующий участок (Кодиров и др., 2010)

В образовании поры (проводящего пути) канала участвует консервативный фрагмент (P-участок), соединяющий сегменты S5 и S6. P-участок содержит высококонсервативную последовательность аминокислот (–Gly–Tyr–Gly–), образующую селективный фильтр  $K^+$ -каналов. Высококонсервативный трансмембранный сегмент S4 содержит в каждом третьем положении положительно заряженные аминокислоты (аргинин или лизин) и служит сенсором напряжения. Мутации в сегменте S4 приводят к существенным изменениям параметров активации каналов (рис. 8.16).

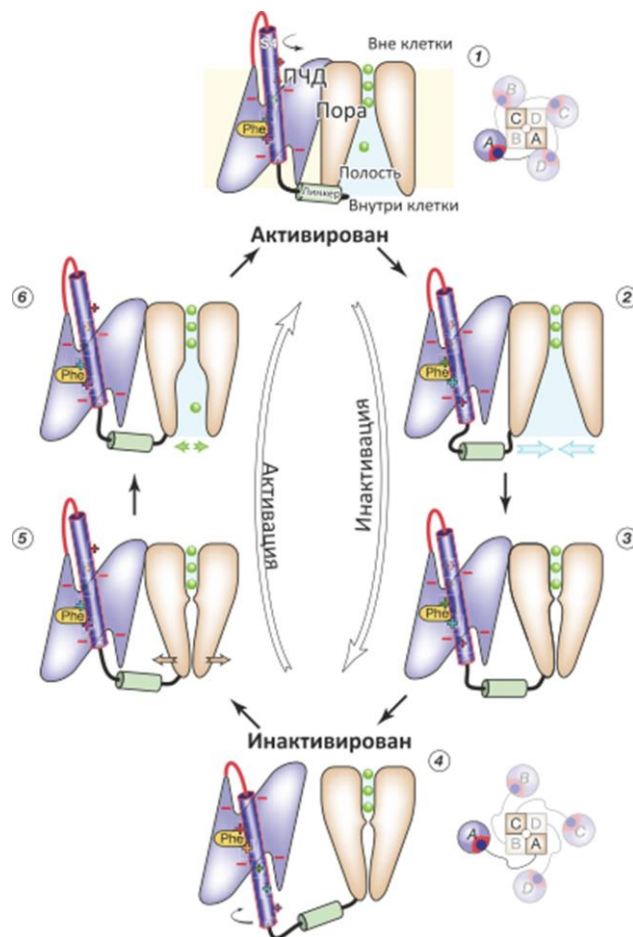


Рис. 8.17. Схема работы потенциал-чувствительного  $K^+$ -канала. Шаг 1: реполяризация (восстановление ТМ-потенциала покоя  $-70$  мВ) приводит к «вдвиганию» вольт-сенсора S4 в ПЧД, что вызывает на шаге 2 дегидратацию полости канала и «гидрофобный коллапс» (закрытие поры) – шаг 3. После окончания «вдвигания» S4 (шаг 4) линкер S4–S5 становится максимально длинным, что позволяет ПЧД «отсоединиться» от поры. При деполяризации (шаг 5) (вызванной, например, входящим  $Na^+$ -током)  $\alpha$ -спираль S4 опять выдвигается, ПЧД плотно присоединяется к поре, которая вследствие этого открывается (шаг 6) и цикл замыкается (<http://Биомолекула.ru>)

Потенциал-чувствительные (или активируемые)  $K^+$ -каналы, так же как и натриевые каналы, открываются и закрываются, реагируя на электрическое поле, открываясь при деполяризации и закрываясь в покое (когда потенциал  $\approx -70$  мВ). Все потенциал-чувствительных каналы (натриевые, калиевые и кальциевые) обладают потенциал-чувствительным доменом (ПЧД), четвертый ТМ-сегмент (S4) которого несет большой положительный заряд и служит сенсором потенциала (рис. 8.17). Такие ионные каналы образуются из четырех субъединиц, в каждой есть поровый домен (ПД) и ПЧД, «закрученные» вокруг общей оси, подобно лестницам диафрагмы (подробнее см. строение ПЧНК).

Кроме того, в классификации калиевых каналов принято делить их на большие (макси) и малые (мини). При этом считают, что все калиевые каналы построены, в принципе, однопланово: они имеют расширение на одном или обоих концах, туннель и селективный фильтр. Большие и малые каналы различаются по длине туннеля, причем макси-канал имеет короткий и широкий туннель, а мини-канал – длинный и узкий. В связи с этим они характеризуются и разной проводимостью ионов; первые отличаются высокой скоростью входа  $K^+$  и высокой максимальной проводимостью, вторые – низкой проводимостью и высокой селективностью.

**Нейротоксины – блокаторы  $K^+$ -каналов (КТх).** Рассмотрим химическое строение и фармакологическую активность некоторых нейротоксинов скорпионов – лигандов  $K^+$ -канала. Первое сообщение о выделении и очистке из экстракта цельного яда мексиканского скорпиона *Centruroides noxius* нейротоксина, взаимодействующего с калиевыми каналами электрогенной мембраны гигантского аксона кальмара, появилось в 1982 г. Полипептид, состоящий из 39 аминокислотных остатков, был назван *ноксцустоксином*. Спустя несколько лет, в 1985 г. из яда *Leiurus quinquestriatus* был выделен *харибдотоксин* и впервые использован для идентификации и фармакологической характеристики  $Ca^{2+}$ -регулируемых  $K^+$ -каналов, в настоящее время известных как каналы  $K_{Ca1.1}$ . Впоследствии из яда этого же скорпиона был выделен *агитоксин 2*, а затем *ибериотоксин* из яда *Buthus tamulus*, также отличающиеся специфическим блокирующим действием на калиевые каналы. Несмотря на то, что эти токсины имеют более 60% гомологичных аминокислотных остатков, а харибдотоксин и ибериотоксин гомологичны на 81%, они существенно различаются по способности блокировать калиевые каналы. Например, агитоксин 2 и харибдотоксин являются мощными блокаторами потенциал-управляемых каналов, но агитоксин примерно в 250 более активен, чем харибдотоксин. С другой стороны, харибдотоксин и ибериотоксин эффективно блокируют макси- $K^+$ -каналы, тогда как агитоксин 2 не влияет на эти каналы. Эти факты открывают возможности использования нейротоксинов для выяснения особенностей функциональной архитектуры калиевых каналов.

Нейротоксины – блокаторы калиевых каналов, содержащиеся в яде скорпионов, как правило менее токсичны, чем  $\alpha$ -нейротоксины – блокаторы натриевых каналов, и содержат меньше аминокислотных остатков. В составе цельного яда они представлены в незначительных количествах (0.01–1%) и поэтому при подкожном введении мышам практически не токсичны. Однако при введении в мозговые желудочки могут проявлять высокую токсичность. В настоящее время на основе первичной структуры и цистеиновых мотивов эти полипептиды разделены на четыре семейства блокаторов калиевых каналов:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\kappa$ -КТх. Известны свыше 120 КТх. Семейство  $\alpha$ -КТх самое представительное, в него входят токсины, блокирующие потенциал-активируемые K-каналы ( $K_v$ ) и  $Ca^{2+}$ -активируемые  $K^+$ -каналы ( $K_{Ca}$ ). Семейство  $\gamma$ -КТх взаимодействует с калиевыми каналами, кодируемыми геном hERG.

**Харибдотоксин** (рис. 8.18) состоит из 37 аминокислотных остатков, стабилизирован тремя дисульфидными мостиками, его  $M_r$  4 кДа; выделен из яда *Leiurus quinquestriatus hebraeus*. Блокирование этим токсином  $Ca^{2+}$ -активируемых  $K^+$ -каналов вызывает гиперактивацию нервной системы. Харибдотоксин связывается с каналом, находящимся в открытом и закрытом состоянии. Функциональная блокирующая активность токсина связана с аминокислотным остатком в молекуле Asn30, взаимодействующим с остатком Asn38 в молекуле канала. Мутация Lys31 – Gln и Asn30 – Gln приводит к снижению блокирующего действия харибдотоксина на калиевый канал. Харибдотоксин гомологичен с *агитоксином*, выделенным из яда этого же скорпиона.

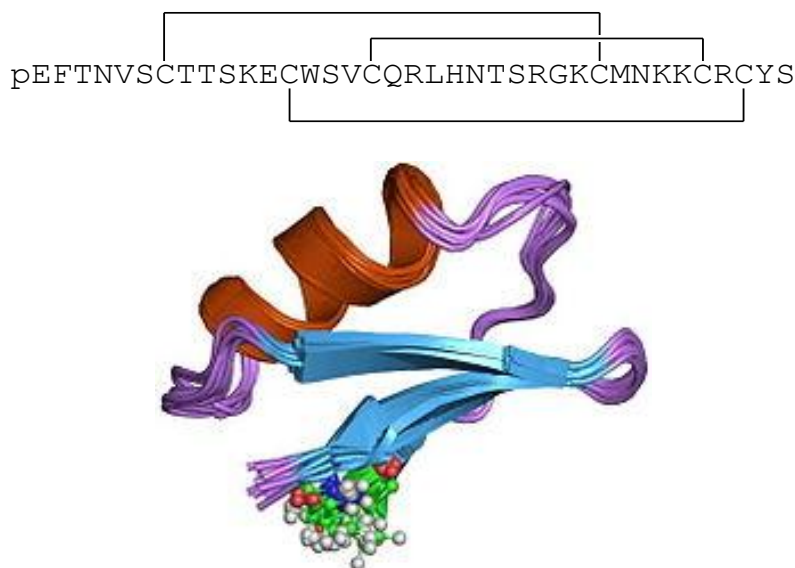


Рис. 8.18. Первичная структура и Ribbon-диаграмма харибдотоксина (Wikipedia Commons)

**Маргатоксин** – полипептид, состоящий из 39 аминокислотных остатков с  $M_r$  4185 Да, выделен из яда скорпиона *Centruroides margaritatus* (рис. 8.19). Маргатоксин относится к «короткому типу» нейротоксинов скорпионов, селективно блокирующих потенциал-зависимые калиевые каналы Kv1.1, Kv1.2 и Kv1.3. Маргатоксин гомологичен с аналогичными нейротоксинами калиевых каналов из яда других скорпионов, такими как харибдотоксин (44%), калиотоксин (54%), ибериотоксин (41%) и ноксиустоксин (79%). Структура маргатоксина представлена на рис. 8.19.

Внимание к маргатоксину обусловлено тем, что блокируемые им калиевые каналы регулируют большое число физиологических функций. Так, каналы Kv1.2 участвуют в регуляции сердечного ритма, секреции инсулина, нервной возбудимости, эпителиальном транспорте электролитов, сокращении гладкой мускулатуры, иммунном ответе и регуляции клеточного объема. Каналы Kv1.3 экспрессируют Т и В лимфоциты. Кроме того, ионные каналы Kv1.3 принимают участие в создании потенциала покоя нейронов, а также в регуляции их возбудимости. Маргатоксин в концентрации 20  $\mu\text{M}$  необратимо блокирует пролиферацию Т-клеток человека, но при снижении концентрации эффект становится обратимым.

Одной из проблем современной сердечно-сосудистой хирургии при лечении ишемической болезни сердца является неоинтимальная гиперплазия, заключающаяся в пролиферации гладкомышечных клеток и синтезе экстрацеллюлярного матрикса. Она развивается как ответ на травму сосудов, вызванную шунтированием коронарных артерий, и приводит к сужению просвета коронарных сосудов. Маргатоксин эффективно препятствует сужению просвета кровеносных сосудов, пересаженных в ходе хирургических операций на сердце. По мнению специалистов, такой подход может сделать коронарное шунтирование более успешным. Резорбтивное применение маргатоксина в связи с его токсичностью может быть проблематичным, а местное применение (например в виде спрея) для непосред-

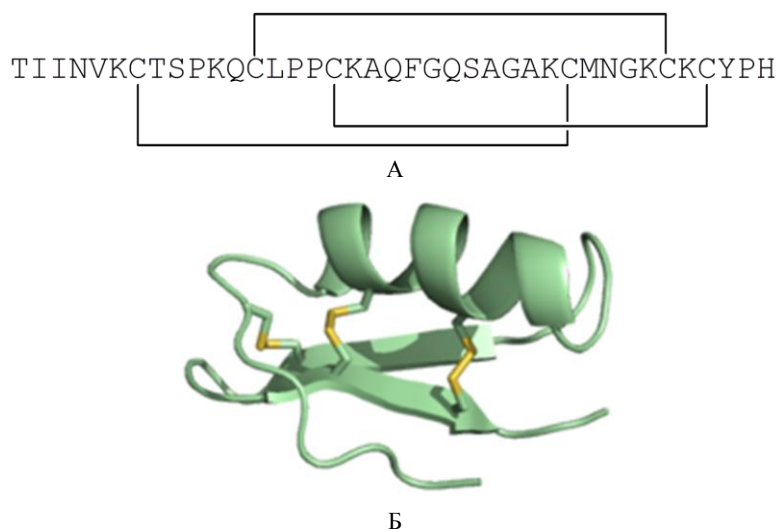


Рис. 8.19. Первичная структура (А) (Johnson et al., 1994) и Ribbon-диаграмма (Б) маргатоксина; желтым цветом выделены дисульфидные связи (RCSB PDB)

ственной обработки кровеносных сосудов перед их имплантацией в большое сердце может снизить процент послеоперационных осложнений.

В настоящее время с помощью твердофазного синтеза получен искусственный маргатоксин, идентичный натуральному токсину по физико-химическим и биологическим свойствам. Синтезированный маргатоксин применяется для изучения физиологической роли калиевых каналов Kv1.3.

**Калиотоксин**, выделенный из яда скорпиона *Androctonus mauretanicus mauretanicus*, обитающего на Ближнем Востоке и в Северной Африке, блокирует потенциал-управляемые калиевые каналы Kv1.3 и кальций-активируемые калиевые каналы, вызывая конформационные изменения в К-селективном фильтре канала. Первичная структура калиотоксина и модель его взаимодействия с калиевым каналом представлены на рис. 8.20.

Калиотоксин представляет собой полипептидную цепь с  $M_r$  4 кДа, состоящую из 38 аминокислотных остатков. Первичная структура имеет выраженную гомологию с ибериотоксином из яда *Buthus tumulus*, харибдотоксином из яда *Leiurus quinquestriatus* и ноксиустоксином из яда *Centruroides noxius*. Функциональная активность связана с Lys27, который входит в поровую часть канала Kv1.3 и взаимодействует с его селективным фильтром. Эти каналы контролируют такие важные процессы как высвобождение нейромедиаторов, сердечный ритм, секрецию инсулина, сокращение гладкой мускулатуры, а также играют важную роль в иммунных процессах. В частности, калиотоксин эффективен на крысах при моделировании рассеянного склероза.

**Ибериотоксин** – селективный блокатор  $Ca^{2+}$ -активируемых  $K^+$ -каналов большой проводимости (BK channels – Big Potassium, также Maxi-K или slo1). Получен из яда западно-индийского скорпиона *Buthus tamulus*.

Ибериотоксин (рис. 8.21) состоит из 37 аминокислотных остатков. Полная аминокислотная последовательность имеет гомологию до 80% с харибдотоксином. Ибериотоксин с высокой аффинностью ( $K_d = 1$  нМ) связывается с внеклеточной стороны

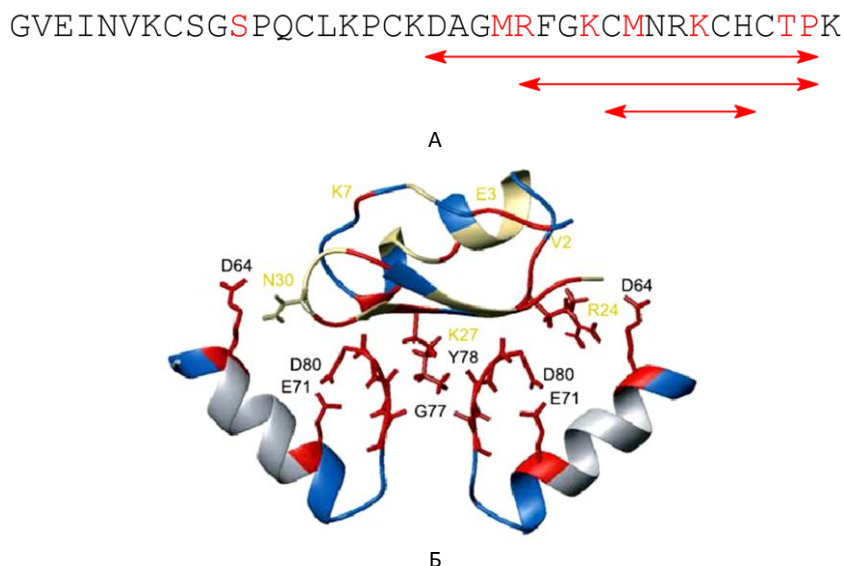


Рис. 8.20. Аминокислотная последовательность калиотоксина (А) и схема его взаимодействия с химерным  $K^+$ -каналом (KcsA-Kv1.3) (Б). Аминокислотные остатки токсина показаны желтым, канала – черным. Конформационно измененные участки молекул окрашены красным, неизмененные – синим (Lange et al., 2006)

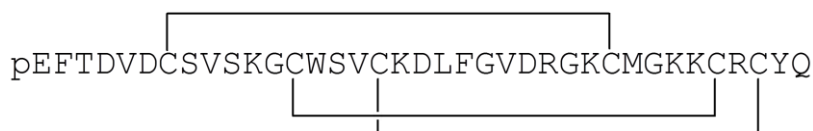


Рис. 8.21. Ибериотоксин (Candia et al., 1992)

с калиевым каналом, уменьшая калиевый ток за счет снижения вероятности открытия канала и времени его открытого состояния.  $Ca^{2+}$ -активируемые  $K^+$ -каналы большой проводимости (ВК-каналы) характеризуются проводимостью более 200 пСм, блокируются кроме ибериотоксина харибдотоксином, калиотоксином и ТЭА. Увеличение внутриклеточного кальция сдвигает потенциал-зависимость активации в отрицательную сторону, то есть меньшая деполяризация необходима для активации каналов при высоких концентрациях ионов  $Ca^{2+}$ . Таким образом, ВК-каналы управляются как  $Ca^{2+}$ , так и МП, то есть являются молекулярными интеграторами электрических событий на плазматической мембране и активации систем внутриклеточных посредников. ВК-каналы вовлечены в целый ряд клеточных функций и играют важную роль в контроле электрической активности клетки, секреции гормонов и медиаторов, сосудистого тонуса, регуляции циркадианных ритмов и др.

**Другие лиганды  $K^+$ -каналов из яда скорпионов.** В Институте биоорганической химии РАН охарактеризована большая группа токсинов – лигандов  $K^+$ -каналов. Так, из яда центрально-азиатского скорпиона *Orthochirus scrobiculosus* выделен и очищен полипептид (OsK-1) с молекулярной массой 4205.7 Да и определена его полная аминокислотная последовательность. OsK-1 состоит из 38 аминокислотных остатков и обладает высокой степенью гомологии с агиатоксином,

калиотоксином и некоторыми другими известными блокаторами  $K^+$ -каналов. Установлено, что OsK-1 обратимо и дозозависимо блокирует проводимость  $Ca^{2+}$ -активируемых  $K^+$ -каналов в гибридных клетках нейробластомы-глиомы NG 108-15 с  $K_d$   $1.4 \times 10^{-7}$  М. Эти гибридные клетки не чувствительны к апамину, но чувствительны к харибдотоксину.

Известно, что яд скорпиона *Heterometrus laoticus* обладает сравнительно невысокой токсичностью, но проявляет противоболевую и противовоспалительную активность. Эти свойства свидетельствуют о возможном присутствии в его составе соединений, воздействующих на иммунную систему. Действительно, из яда *Heterometrus laoticus* был выделен полипептид с молекулярной массой 3669.2 Да, названный *хетлаксин* (от *HE*Terometrus *LA*oticus) (рис. 8.22).

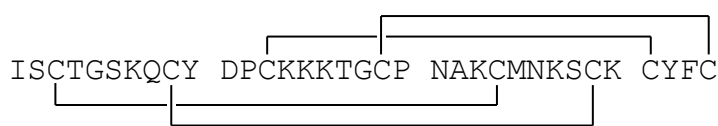


Рис. 8.22. Хетлаксин (Hoang et al., 2014)

Установлено, что хетлаксин связывается с поровой частью каналов Kv1.1 и Kv1.3 с  $K_{ap}$   $0.8 \pm 0.3$  мкМ и  $59 \pm 6$  нМ соответственно. Таким образом, впервые из яда скорпиона *H. laoticus* выделен токсин, обладающий сродством к Kv1.3 в наномолярном диапазоне. Обнаружение этого блокатора подтверждает предположение, что иммуномодулирующий эффект яда *H. laoticus* опосредован воздействием через канал Kv1.3, локализованный в клетках иммунной системы человека.

Кроме того, из яда пестрого скорпиона *Mesobuthus eupeus* выделены и охарактеризованы 9 токсинов, взаимодействующих с Kv1-каналами.

### 8.2.3. Нейротоксины скорпионов и Cl<sup>-</sup>-каналы

**Cl<sup>-</sup>-каналы.** Ионы Cl<sup>-</sup> являются наиболее распространенными вне- и внутриклеточными анионами. Cl<sup>-</sup>-каналы присутствуют в плазматической мембране большинства клеток, играя важную роль в регуляции клеточного объема, трансэпителиального транспорта, секреции секреторных желез, стабилизации мембранного потенциала.

Выделяют три суперсемейства Cl<sup>-</sup>-каналов: лиганд-активируемые, кальций-активируемые и потенциал-активируемые. Структура хлоридных каналов отличается от других каналов. Белки включают от 10 до 12 трансмембранных спиралей, образующих в клеточной мембране единственную пору. Активация каналов может происходить под действием потенциала,  $Ca^{2+}$ , различных внеклеточных лигандов или кислотности. Классификация хлоридных каналов меняется по мере накопления информации о их свойствах и функционировании. В настоящее время известны несколько групп хлоридных каналов.

**Хлоротоксин** – полипептид, впервые обнаруженный в яде скорпиона *Leiurus quinquestriatus*. Токсин приводит к быстрому прогрессирующему и продолжительному параличу ракообразных и насекомых (при дозе 1.23–2.23 мкг/г). У человека яд вызывает лихорадку, сильные боли, судороги, паралич, иногда смерть, вызванную остановкой дыхания. Хлоротоксин способен блокировать хлоридные каналы низкой проводимости. Его молекула состоит из 36 аминокислотных остатков,  $M_r \approx 4$  кДа. Восемь цистеинов образуют 4 внутримолекулярные дисульфидные



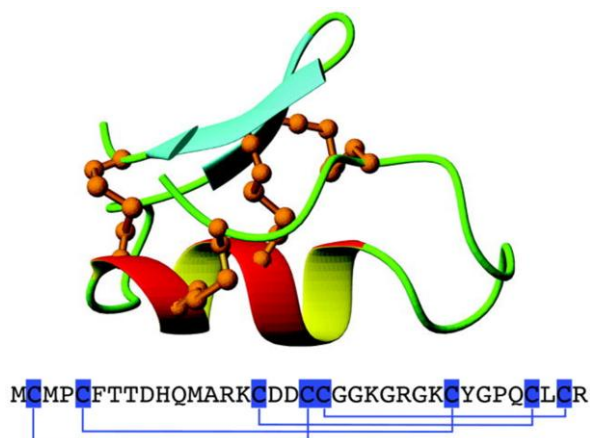


Рис. 8.23. Ribbon-диаграмма и первичная структура хлоротоксина (Stroud et al., 2011)

связи. При нейтральном рН = 7 токсин обладает высоким положительным зарядом. Характеризуется высокой гомологией с классом коротких инсектотоксинов. Трехмерная структура и полная аминокислотная последовательность хлоротоксина приведены на рис. 8.23.

В настоящее время определены аминокислотные последовательности 15 хлоротоксинов из яда скопионов *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*, *Mesobuthus eupeus*, *Mesobuthus tamulus*. Первоначально была высказана гипотеза, согласно которой хлоротоксин, блокируя хлоридные каналы клеток глиомы<sup>68</sup>, может модифицировать их распространение по организму. Однако впоследствии при использовании рекомбинантного гис-6-хлоротоксина было установлено, что его мишенью является матриксная металлопротеиназа (ММП-2). Матриксные металлопротеиназы (ММП), также называемые матриксинами, составляют семейство цинк- и кальций-зависимых эндопептидаз, их функция – расщепление почти всех основных белковых компонентов внеклеточного матрикса. Они играют важную роль во многих нормальных физиологических процессах, таких как эмбриональное развитие, морфогенез, репродукция и тканевое ремоделирование. Но они также участвуют и во многих патологических процессах, таких как воспаление и заживление ран, артрит, сердечно-сосудистые заболевания и рак. В частности, ММП-2 (желатиназа А) широко экспрессируется во время эмбрионального развития, и её уровень повышается в местах повреждения тканей, воспаления и в стромальных клетках, окружающих пораженное метастазирующей опухолью место. Это способствует развитию опухоли за счет ангиогенеза и метастатического фенотипа *in vivo*.

Способность хлоротоксина специфично связываться с опухолевыми клетками в образцах тканей мозга, не обнаруживаясь в здоровой ткани тех же образцов, позволило создать синтетический аналог этого токсина, конъюгированный с молекулами радиоактивного йода, который уже проходит первые этапы клинических испытаний. Кроме того, перспективным является создание суперпарамагнитных наночастиц, в которых хлоротоксин конъюгирован с широко применяемой в биологических исследованиях флуоресцентной меткой Cy5.5, что позволит

<sup>68</sup> Глиома – опухоль, входящая в гетерогенную группу и имеющая нейроэктодермальное происхождение. Глиома – самая распространённая первичная опухоль головного мозга. Глиомы различаются по степени злокачественности, гистологическим признакам, возрастом манифестации, способности к инвазии и опухолевому прогрессу и др.

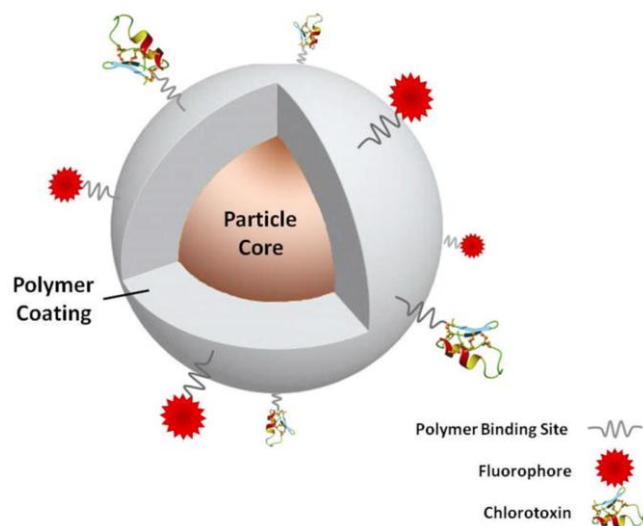


Рис. 8.24. Структура наночастицы для адресной визуализации опухолевых клеток: ядро, поверхностное полимерное покрытие, флюорофор и хлоротоксин (Stroud et al., 2011)

адресно визуализировать клетки опухоли (рис. 8.24). К каждой наночастице можно присоединить около 10 молекул хлоротоксина.

В настоящее время хирурги-онкологи могут отличить опухолевую ткань от здоровой по их цвету, текстуре, типу кровоснабжения и другим не слишком надежным признакам. «Краска для опухоли» в ответ на облучение инфракрасным светом испускает длинноволновые красные фотоны, легко проходящие сквозь человеческие ткани. В опытах на мышах исследователи могли различать в лимфатических сосудах скопления всего из нескольких сотен раковых клеток. Возможность четко видеть границу опухоли и здоровой ткани особенно важна при лечении рака головного мозга, когда необходимо и полностью удалить опухоль, и по возможности сохранить здоровые нейроны. Кроме того, изучается возможность соединения хлоротоксина с радиоизотопом, что теоретически должно обеспечить доставку радиоактивного вещества прямо в опухоль для терапевтического воздействия. Хлоротоксин, помещенный в наночастицы, помогает на 98% сократить деление злокачественных клеток, тогда как хлоротоксин, применяемый непосредственно, снижает распространение рака только на 45%. Кроме того, под действием хлоротоксина в наночастицах клетки опухоли не могут растягиваться, меняя форму, что препятствует их распространению, тем самым снижается опасность метастазирования.

\* \* \*

Подведем краткий итог анализу химической природы и механизмов токсического действия яда скорпионов. В составе яда многих видов скорпионов обнаружены видоспецифические нейротоксины (достаточно селективно воздействующие на млекопитающих, насекомых и ракообразных), которые по своей структуре могут быть разделены на «короткие» и «длинные». В свою очередь, токсины млекопитающих по механизму влияния на возбудимые мембраны делятся на  $\alpha$ - и

$\beta$ -типы в зависимости от механизма активирования  $\text{Na}^+$ -канала. Кроме того, токсические полипептиды яда скорпионов способны селективно взаимодействовать не только с натриевыми, но и с калиевыми, и хлоридными каналами. Изучение механизмов действия яда скорпионов во многом прояснило клинические симптомы отравления и способствовало разработке эффективных мер специфической и патогенетической терапии. Следует признать, что модификация ядом возбудимых мембран является тем пусковым механизмом, который обуславливает широкий спектр фармакологической активности яда. Увеличение высвобождения медиаторов из пресинаптических терминалей под действием яда обеспечивает развитие соответствующих постсинаптических реакций (клонические и тонические сокращения скелетной и гладкой мускулатуры, изменения тонуса сосудов и деятельности сердца), которые на внутриклеточном уровне реализуются через систему циклических нуклеотидов. При системном введении яд подпорогово деполаризует нервную мембрану, облегчая эффекты эфферентной нервной импульсации. Точкой приложения действия яда скорпионов являются безмиелиновые окончания нервных терминалей, так как интактные, покрытые миелиновой оболочкой нервные стволы устойчивы к действию яда. Вместе с тем приходится учитывать и прямое миотропное действие яда, а также его влияние на ЦНС, особенно у детей, что еще раз подчеркивает сложный характер действия яда скорпионов на организм. Молекулярная биология дает множество примеров успешного использования нейротоксинов скорпионов как маркеров компонентов ионных каналов. На основе селективности связывания нейротоксинов с возбудимыми мембранами предложены различные модели молекулярной архитектуры ионных каналов.

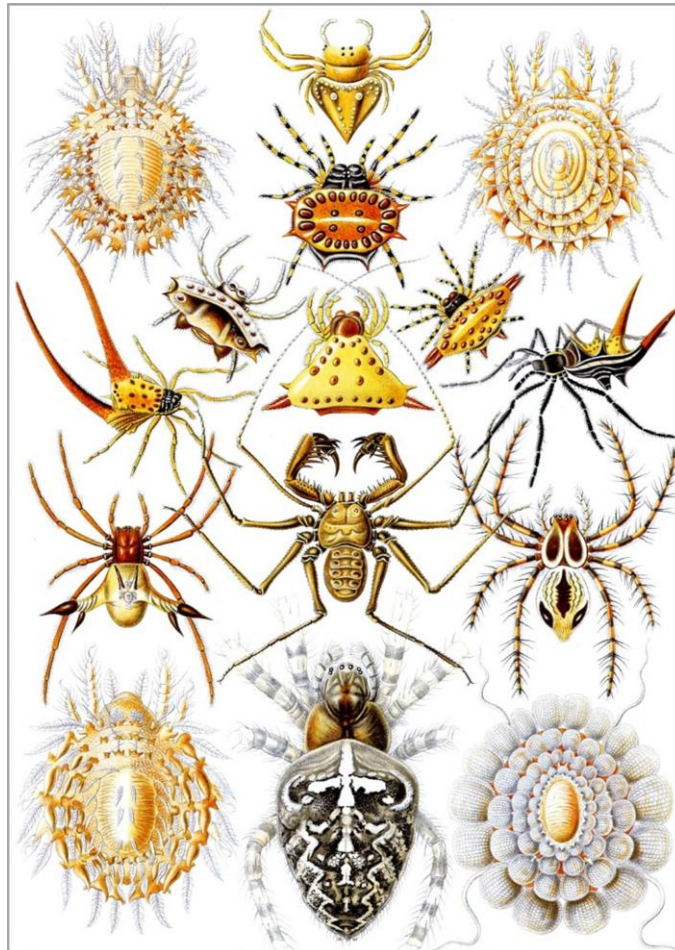
Наблюдаемое в зоотоксинах разнообразие компонентов одного структурного типа сегодня называют «эволюционно отредактированной комбинаторной библиотекой». Примеры этому дают токсины конусов, скорпионов и, как будет показано в следующей главе, пауков. Эти зоотоксины обладают различной эффективностью и специфичностью в отношении широкого круга рецепторов, а результирующая смесь токсинов эффективна для разнообразных мишеней. Эти факты позволяют выдвинуть гипотезу эволюционного преимущества наличия такого богатого арсенала «химического оружия» – например отслеживать способность жертвы мутировать и тем самым пытаться ускользнуть из-под воздействия хищника, однако у последнего есть «запасные» варианты токсинов, которые могут быть аффинными к мутирующему рецептору. В дальнейшем эта комбинация может быть подхвачена отбором, а источником является все та же «комбинаторная библиотека». Эта гипотеза базируется на концепции взаимодействия токсин–рецептор по принципу «ключ – замок». В качестве аналога принципа избыточности ключей (токсинов) используют особенности структурно-функциональной организации иммунной системы.

При этом не учитываются различия в целевой функции иммунной системы, и назовем ее за неимением лучшего, «системой зоотоксинов». Иммунная система эволюционно «заточена» на защиту организма, тогда как «система зоотоксинов» используется как для защиты, так и для нападения, но ни в одном из этих случаев не предусматривает щадящее отношение к жертве или агрессору: смертельный исход является самым эффективным. Если это так, то почему природе не пойти по пути «конструирования» универсальных токсинов (типа гостиничного или офисного мастер-ключа, пригодного для открывания (на самом деле грубого взламывания) любых замков-рецепторов, а что еще проще – просто клеточной мембраны). И такие примеры есть – это цитотоксины, или мембрано-активные полипептиды. Но природа мудрее – она не дает ядовитым животным такого абсолютного преимущества, способного подорвать их ресурсную базу. Поэтому избыточность токсинов – это шанс сохранить паритет в эволюционной «гонке вооружений» хищника и жертвы.

## МИГАЛОМОРФНЫЕ ПАУКИ (Mygalomorphae)

Вечерний, медленный паук  
В траве сплетает паутину, –  
Надежды знак. Но, милый друг,  
Я взора на него не кину.

*Н. Гумилёв*



Э. Геккель, 1904

Пауки (лат. Araneae, Aranei, др.-греч. ἀράχνη) – отряд членистоногих, второй по числу известных представителей в классе паукообразных (Arachnida): около 42 тысяч современных и около 1.1 тысячи ископаемых видов. Каталог пауков России и стран бывшего СССР включает 2888 видов. Отряд распространён повсеместно. Пауки – облигатные хищники, питаются прежде всего насекомыми или другими мелкими животными. Известно лишь одно исключение – паук-скакун *Bagheera kiplingi*, питающийся зелёными частями акаций. Отряд делится на три инфраотряда: Mesothelae (Liphistiomorphae) (членистобрюхие пауки), Mgalomorphae (пауки-птицееды в широком смысле) и Araneomorphae (аранеоморфные пауки). В токсинологическом плане изучены последние два инфраотряда. Рассмотрению мигаломорфных пауков предпослём токсинологическую характеристику отряда пауков в целом.

### 9.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТРЯДА ПАУКОВ

Ядовитые для человека пауки принадлежат к подотрядам Mgalomorphae и Araneomorphae (рис. 9.1). Среди мигаломорфных пауков опасны для тепло-

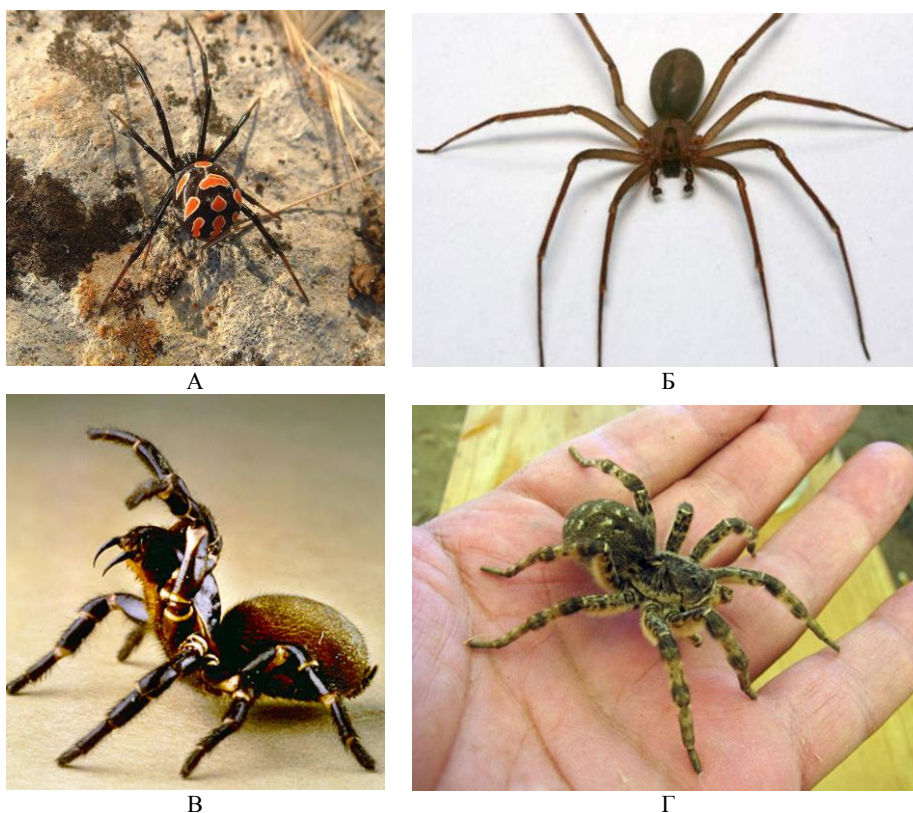


Рис. 9.1. Некоторые представители ядовитых пауков: А – каракурт (*Latrodectus mactans tredecimguttatus*); Б – паук-отшельник (*Loxosceles arizonica*); В – птицеед (*Atrax robustus*); Г – тарантул (*Lycosa singoriensis*) (Wikipedia Commons)

кровных животных и человека виды родов *Acanthoscurria*, *Phormictopus*, *Avicularia*, обитающих в Южной Америке, *Pterinochilus* из Восточной Африки, а также *Atrax*, принадлежащий Австралии. Из *Araneomorphae* очень ядовиты виды родов *Phoneutria*, *Stenus* (*Stenidae*), которые обитают в тропиках и субтропиках. *Mastophora* (*Araneidae* – пауки-кругопряды) также обитатели тропиков, в том числе *M. gasteracanthoides*, встречающийся в Перу. *Heteropoda* (*Sparassidae*) распространены в тропиках и субтропиках, *Latrodectus* (*Theridiidae* – пауки-тенетники) живут во всех частях света и, в частности, в Средней Азии, Средиземноморье, Восточной Африке, Индии, Австралии, Северной и Южной Америке, Новой Зеландии и Филиппинах; *Lycosa* (*Lycosidae* – пауки-волки) распространены в Европе и Азии; *Dendryphantes* (*Salticidae* – пауки-скакуны) обитают во всех частях света, и в числе их *D. poxiosus* в Боливии, *Loxosceles* (*Sicariidae*) в тропиках и субтропиках.

В фауне бывшего СССР пауки представлены в громадном большинстве безобидными видами. К ядовитым относится тарантул (*Lycosa singoriensis*), распространенный в пустынной, полупустынной, степной и лесостепной зонах. Каракурт (*Latrodectus mactans tredecimguttatus*) – характерный представитель пустынной и полупустынной фауны, но часто встречается и в степной зоне (Средняя Азия, степи Кавказа и Крыма). Ядовиты также *Eresus niger* – крупный представитель сем. *Eresidae*, живущий в степной и полупустынной зонах, и *Chiracanthium punctorium* (*Clubionidae*), обитающий также в степной зоне. В последнее время довольно подробно изучался яд *Argiopa lobata*, обитающего в европейской части России, на Кавказе, в Средней Азии и Казахстане. Встречается также в Северной Африке (Алжире).

### 9.1.1. Ядовитый аппарат пауков

Жертва пауков схватывается хелицерами – ротовыми придатками пауков, клещей, сольпуг, скорпионов, мечехвостов и им подобных, по наличию которых эта группа членистоногих получила название хелицеровых. Они же служат для защиты и умерщвления добычи. Находятся хелицеры впереди рта на брюшной стороне головогруди. Обычно состоят из двух или трех члеников и имеют вид клешней (дословный перевод «клешне-усы») или подклешен. Толстый основной членик хелицеры у основания заметно вздут. На вершине у внешнего края он сочленен с острым когтевидно изогнутым конечным члеником. Этот последний движется только в одной плоскости и может, пригибаясь внутрь, вкладываться, подобно лезвию ножа, в борозду на основном членике. Края бороздки вооружены хитиновыми зубцами. На концах когтевидных члеников открываются протоки пары ядовитых желез, лежащих или в основных члениках хелицер, или заходящих в головогрудь (рис. 9.2, 9.3). Известны два варианта их строения: ортогнатный и лабидогнатный. При ортогнатном строении подвижные когти хелицер направлены вперед и вниз параллельно друг другу, при лабидогнатном когти направлены с боков к плоскости двусторонней симметрии тела навстречу друг другу. Лабидогнатные хелицеры характерны для аранеоморфных пауков, тогда как ортогнатные встречаются у пауков-птицеедов (рис. 9.4).

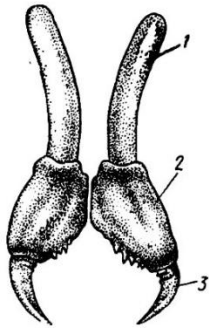


Рис. 9.2. Ядовитый аппарат тарантула (Мариковский, 1958):  
 1 – ядовитая железа;  
 2 – основной (базальный) членик хелицеры;  
 3 – коготь хелицеры

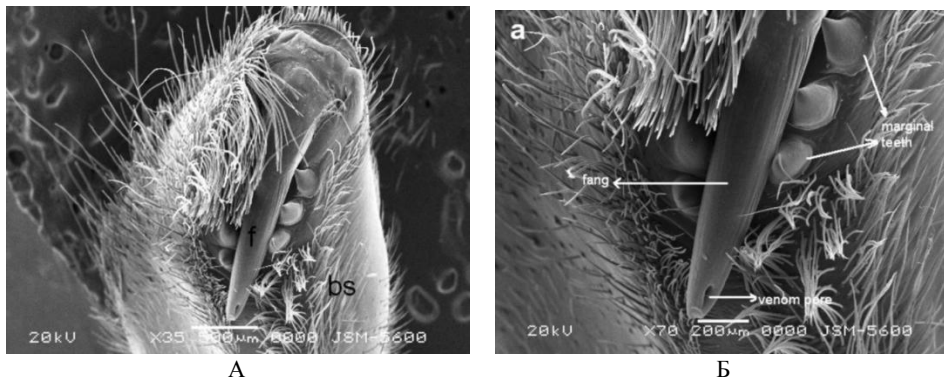


Рис. 9.3. Микрофотография базального членика (А) и когтя хелицеры тарантула (Б) при разном увеличении, полученная с помощью электронного сканирующего микроскопа. На рис. Б показано отверстие протока ядовитой железы (Yigit et al., 2009)



Рис. 9.4. Лабидогнатные и ортогатные хелицеры пауков: А – лабидогнатные хелицеры паука *Cheiracanthium punctorium*, когти хелицер направлены навстречу друг другу; Б – ортогатные хелицеры (Ch) паука *Atrax robustus*, когти хелицер направлены вперед и вниз параллельно друг другу (Wikipedia Commons)

Ядовитые железы – большие цилиндрические мешки с характерной исчерченностью, которая зависит от наличия наружной мускулатурной мантии и косых спиральных волокон. От передних концов желез отходит по тонкому выводному протоку (рис. 9.5).

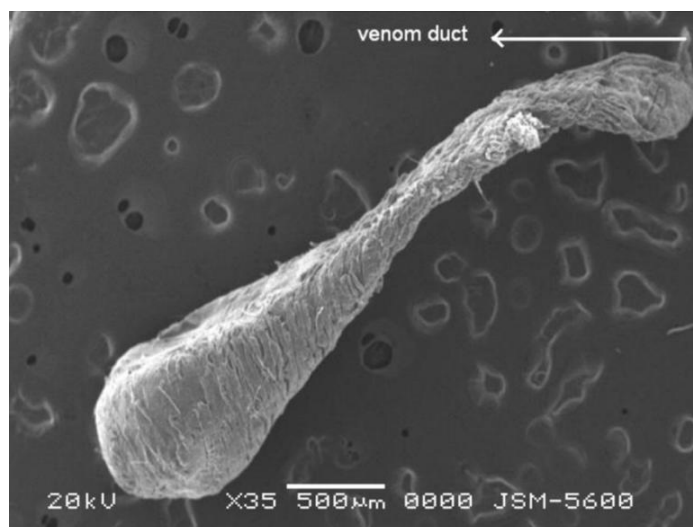


Рис. 9.5. Микрофотография ядовитой железы тарантула с мышечными пучками и протокой ядовитой железы, полученная с помощью электронного сканирующего микроскопа (Yigit et al., 2009)

У *Latrodectus* железистый эпителий, секретирующий яд, состоит из столбчатых клеток с заметно зернистой цитоплазмой. Среди столбчатых клеток хорошо заметны крупные округлые клетки, заполненные каплями гомогенного секрета. Считают, что клетки ядовитой железы обладают голокринным типом секреции. С помощью электронного микроскопа установлена иннервация железистых клеток, секреция которых, следовательно, находится под нервным контролем.

У пауков *Scytodes thoracica* имеется комбинированный тип железы, состоящий из двух отделов. Первый вырабатывает собственно яд, тогда как второй является своеобразной паутиной железой. Наметив жертву, паук с расстояния 1–2 см опрыскивает ее липким содержимым второго отдела железы, которое на воздухе быстро затвердевает в виде нитей паутины и приклеивает добычу к субстрату. После иммобилизации жертвы паук вводит в нее яд передних отделов железы обычным образом – с помощью хелицер.

Для получения яда пауков его экстрагируют из предварительно извлеченных ядовитых желез или применяют метод электростимуляции. Последний существует в двух вариантах: биполярный и монополярный. При биполярном способе электроды подводятся к обоим хелицерам, при раздражении которых электрическим током выделяется капелька яда, отсасываемая с помощью микропипетки. При монополярном способе наркотизированный паук фиксируется резиновой лентой на медной пластинке, служащей одним из электродов. Другой электрод подводится к хелицерам. При получении яда электростимуляцией возникает опасность загрязнения яда слюной. Поэтому сведения о протеолитической активности яда многих пауков относятся к яду, полученному именно методом электростимуляции. Напротив, в яде, полученном экстракцией желез, протеолитическая активность отсутствует. Для предохранения яда от загрязнения слюной необходимо при электростимуляции заставлять пауков прокалывать коготками хелицер тонкую пленку.



### 9.1.2. Арахноидизм

Поражения, вызываемые пауками (арохноидизм) у человека и сельскохозяйственных животных, – весьма серьезная проблема для медицины и ветеринарии в связи с тяжестью клинической картины отравления, а в некоторых районах земного шара укусы пауков имеют эпидемиологическое значение (табл. 9.1).

Таблица 9.1

**Симптоматика отравления человека некоторыми наиболее опасными пауками (по Василевскому и др., 2009, с изменениями и дополнениями)**

Пауки и их ареалы	Действующий компонент яда и патофизиологический эффект	Симптомы отравления
<i>Latrodectus</i> sp. (Theridiidae). Обитают на американских континентах, в Евразии, Африке, Австралии и Океании	$\alpha$ -Латротоксин, белковый нейротоксин, вызывает массивное высвобождение нейромедиаторов из нервных терминалей вплоть до полного истощения их запаса	«Латродектанизм», сопровождающийся сильной болью, не утихающей в течение длительного времени (до нескольких дней), развитием неспецифических системных эффектов, возможен летальный исход
<i>Loxosceles</i> sp. (Sicariidae). Распространены в тёплых регионах Старого и Нового Света	Фермент фосфолипаза D (сфингомиелиназа D), дермонекротический токсин	«Локсосцелизм», характеризующийся поражениями кожи различной степени тяжести: от раздражения до серьезных язв, а также системными эффектами – гемолизом, возможным летальным исходом
<i>Phoneutria</i> sp. (Stenidae). Ареал охватывает тропическую часть Южной и Центральной Америки	Пептидные нейротоксины, действующие на натриевые каналы	Боль в месте укуса, приапизм, брадикардия, гипотензия с угрозой для жизни
<i>Atrax</i> sp. (Hexathelidae). Обитают в Австралии, в Новом Южном Уэльсе. Встречаются южнее реки Хантер, восточнее Голубых гор и в окрестностях Сиднея	$\delta$ -Атракотоксины, пептидные нейротоксины, действующие на натриевые каналы	Местные и системные эффекты различной степени тяжести: боль в месте укуса, парестезия, мышечный спазм, общее возбуждение, гипертензия, нарушение сердечного ритма, кома, возможен летальный исход

Приведённые ниже сведения, сформулированные в виде простых правил, могут оказаться полезными в случае укуса пауков.

#### Как выглядит укус паука

- Первое ощущение похоже на укол тоненькой иглой. Довольно часто человек вообще не чувствует укус.
- На месте повреждения сразу же образуется небольшое пятнышко белого цвета (не превышающее размеров пятикопеечной монеты). Края белого пятна чаще всего розовые или красные.
- Через несколько минут (от 5 до 20) начинают нарастать симптомы.
- Появляются внезапные боли в мышцах, возможны судороги.
- Лицо сильно краснеет, может опухать.

#### **Доврачебная первая помощь при укусе паука**

- Тщательно промыть место укуса водой с мылом.
  - Имобилизовать пораженную часть конечности, зафиксировав ее доской, веткой (подвязав их к ноге или руке). Движение только ускорит распространение яда по телу.
  - Если место укуса находится на руке или ноге, наложить плотную повязку выше места укуса, чтобы предотвратить или замедлить распространение яда. Проследить, чтобы повязка не была настолько тугой, чтобы прекратить кровообращение в конечности.
  - Приложить холодный компресс на место укуса. Можно использовать пузырь со льдом или бутылку с холодной водой.
  - С целью выведения яда с мочой рекомендуется обильное питье.
  - В случае слабовыраженных симптомов взрослому можно дать аспирин или ацетаминофен. Не давать аспирин детям. Ребенку лучше дать парацетамол.
- Необходимо обратиться за срочной медицинской помощью в случае, если:
- пауком был укушен ребенок;
  - состояние пострадавшего от укуса паука резко ухудшается.

#### **Последствия укуса паука**

- Наиболее опасные последствия после укуса паука – это некроз тканей, инфицирование раны, арахноз или локсосцелизм, которые чаще всего развиваются после укусов пауков-отшельников. Арахноз характерен быстроразвивающимся некрозом кожных покровов, подкожной клетчатки и близлежащих мягких тканей. Также последствия могут проявиться смертельно опасным системным синдромом, который начинается в виде лихорадки, сопровождается диффузными миалгиями, артралгиями, судорогами, резким падением артериального давления, гемолизом и сердечной недостаточностью.
- Синдром гиперкоагуляции – ДВС (диссеминированное внутрисосудистое свёртывание) – это тоже достаточно частое последствие укусов каракурта или паука-отшельника.

#### **Симптомы и последствия укусов пауков (рис. 9.6):**

- Слабовыраженные, не представляющие угрозу последствия:
  - ✓ Терпимая боль в месте повреждения.
  - ✓ Гиперемия кожных покровов.
  - ✓ Небольшая опухоль в зоне прокола.
  - ✓ Зуд, жжение.
- Последствия, которые ощущаются в течение недели:
  - ✓ Боль.
  - ✓ Отек и опухоль, не проходящие в течение 3–5 дней.
  - ✓ Зуд и покраснение.
  - ✓ Расстройство пищеварения.
  - ✓ Преходящие судороги.
  - ✓ Сонливость и общее недомогание.
- Последствия, которые считаются угрожающими:
  - ✓ Резкая боль, интенсивно распространяющаяся по всему телу.
  - ✓ Быстроразвивающаяся опухоль.
  - ✓ Генерализованные судороги.



Рис. 9.6. Симптомы отравления ядом пауков (Wikipedia Commons)

- ✓ Расстройство желудочно-кишечного тракта, неукротимая диарея.
- ✓ Постоянная сонливость, слабость, объяснимые устойчивым снижением артериального давления.
- ✓ Почечная недостаточность.

**Следует иметь в виду состояния, имитирующие укус паука:**

- укусы муравьев, блох, клопов, клещей, мух и жуков;
- повреждения кожных покровов: например, токсический эпидермальный некролиз, хроническая мигрирующая эритема, узелковая (нодозная) эритема, споротрихоз, простой хронический герпес или узелковый периартериит;
  - инфекционные заболевания (например, распространенная гонорейная инфекция, септическая эмболия при эндокардите или внутривенной наркомании, кожная сибирская язва, абсцесс кожи с метициллин-резистентным *Staphylococcus aureus*);
  - травма (например, подкожная инъекция препарата, самопричиненные раны);
  - паническая атака.

**Медицинская помощь при укусах паука<sup>69</sup>**

Помощь при укусах паука должна соответствовать виду ядовитого паука и симптоматике. К сожалению, не всегда удается рассмотреть паука, однако опре-

<sup>69</sup> Информация для медицинских работников.

делив по внешнему виду кожи характер прокола, можно оказать необходимую адекватную помощь при укусах пауков. На место прокола следует положить холодный компресс, лучше лед.

- Дети до 16 лет и пожилые люди подлежат немедленной госпитализации.
- При укусе каракурта вводится специфическая сыворотка внутривенно. Перед введением средства проводят кожную пробу или дробную сенсibilизацию для более адекватного восприятия организмом сыворотки.
- Желательно провести антигистаминную терапию.
- В тяжелых случаях, сопровождающихся сердечной или почечной недостаточностью, вводятся кардиологические препараты, как правило внутривенно, дыхательные аналептики, миелорелаксанты и глюкокортикостероиды.
- Детоксикация проводится с помощью инфузионной терапии (капельного введения солевых растворов, глюкозы для поддержания электролитного баланса).
- Некротизированные ткани после укуса паука-отшельника обрабатывают и удаляют. Лечение некротических язв довольно длительное и, как правило, проводится амбулаторно.

#### **Лечение укуса паука**

Лечение одинаково для укусов всех видов пауков, включает санацию раны, аналгезию, придание конечности возвышенного положения, профилактику столбняка и динамическое наблюдение. Эти меры позволяют успешно справиться с большинством местных реакций. Изъязвления следует обрабатывать ежедневно, можно использовать мази с антибиотиками (например полимиксин В, бацитрацин + неомицин). Изъязвления лечат антигистаминными препаратами, глюкокортикоидами местного действия или их сочетанием. Некротические повреждения, наблюдаемые при укусах бурых пауков, saniруют и бинтуют. В некоторых случаях, когда некротические области >2 см в диаметре, назначают 100 мг дапсона внутрь 1 раз в сутки, пока воспаление не спадет, но его эффективность полностью не доказана. Местная инъекция глюкокортикоидов бесполезна. Хирургическое иссечение в случае необходимости следует отложить до полного отграничения зоны некроза (процесс может занять недели).

Если имеют место сильная интоксикация и ослабленность организма, будет не лишним укрепить иммунитет и немного поддержать органы и системы витаминотерапией. Кроме того, иногда возникает желудочно-кишечная симптоматика и диарея. В таком случае стоит две-три недели соблюдать щадящую диету, исключая белковую пищу. Если укус паука вызывает аллергическую реакцию, после укуса необходимо провести курс антигистаминной терапии. Нейротоксичный яд, который может вызвать функциональные нарушения со стороны центральной нервной системы, выводится с помощью медикаментозной терапии, в качестве самостоятельных действий показано обильное питье и желателен постельный режим. Все действия, направленные на ликвидацию последствий, должны быть адекватны основной симптоматике.

#### **9.1.3. Общая характеристика химического состава яда пауков**

Яды пауков – сложные смеси биологически активных веществ, представляющие собой «химическое оружие», используемое для нападения и защиты. По механизму действия в настоящее время выделяют три основные группы ядовитых

веществ: нейротоксические и цитолитические полипептиды и ферменты. С химической точки зрения токсины яда пауков по молекулярной массе также можно разделить на три группы. Первую группу представляют низкомолекулярные соединения (<1 кДа), например ацилполиамины, встречающиеся в яде пауков-кругопрядов (сем. Araneidae). Вторая группа представлена пептидами с молекулярной массой 1–10 кДа, в ней выделяют две структурно-функциональные группы: цитолитические полипептиды и нейротоксины. Последние встречаются у большинства изученных пауков. Наконец, третья группа включает высокомолекулярные белки – ферменты и нейротоксины, например  $\alpha$ -латротоксин из яда каракурта (табл. 9.2).

Таблица 9.2

**Основные токсические компоненты ядов пауков  
(по Василевскому и др., 2009, с изменениями)**

Характеристики групп токсинов		Представители
Низкомолекулярные вещества	Ацилполиамины	Сем. Araneidae
Пептиды	Цитолитики	Сем. Zodariidae
	Нейротоксины	Большинство изученных пауков
Белки	Ферменты	Сем. Sicariidae
	Нейротоксины	Сем. Theridiidae

Большинство изученных пауков производят яд с преобладанием дисульфид-содержащих пептидных нейротоксинов, которые в основном характеризуются общим цистеиновым «мотивом» первичной структуры и относятся к так называемым «ноттинам» – пептидным молекулам, формирующим в пространстве структуру «цистинового узла». В одном яде могут присутствовать до нескольких сотен молекул ноттинов со сходной пространственной структурой, стабилизированной инвариантными остатками полуцистина. Специфичность действия каждой молекулы определяется уникальной комбинацией переменных аминокислотных остатков, расположенных в петлевых участках между дисульфидными мостами. Подобные ансамбли пептидных молекул ядов принято называть «природными комбинаторными библиотеками» биологически активных веществ, хотя имеют место и исключения из описанного строения. Напомним, что похожие «библиотеки» можно встретить в ядах конусов, актиний, скорпионов, они имеются и в ядах змей, однако для каждого из этих случаев характерны другие мотивы аминокислотной последовательности и реализуются иные типы пространственной структуры молекул (табл. 9.3). Такие «библиотеки» позволяют ядовитым животным реализовывать различные жизненные стратегии (табл. 9.4). Так, наличие в ядах широкого спектра молекул с различными функциональными свойствами обеспечивает богатство выбора потенциальных жертв с относительно низкой устойчивостью к яду. С другой стороны, альтернативой является возможность отбора селективно действующих токсинов. Например, выделенный из цельного яда ( $DL_{50}$  4.4 мг/кг) паука-птицееда *Chilobrachys jingzhao* токсин JZTX-III не оказывал действия на потенциал-управляемые  $Na^+$ -каналы ганглионарных нейронов крысы, но ингибировал ТТХ-устойчивые  $Na^+$ -каналы в миоцитах крысы с  $IC_{50}$  0.38 мкМ/л.

Таблица 9.5

**Цитолитические пептиды из яда пауков  
(Василевский и др., 2009)**

Вид пауков	Название пептида	Аминокислотная последовательность	Заряд (при рН = 7)	Число а.о.
<i>Hogna carolinensis</i>	Ликотоксин I	IWLTALKFLGKHAAKHLAKQQLSKL-NH <sub>2</sub>	+6	25
	Ликотоксин II	KIKWFKTMKSIKFIKQMKKHLGGE	+6	27
<i>Lycosa singoriensis</i>	Ликцитин 3	KIKWFKTMKSLAKFLAKEQMKKHLGE	+6	26
	Ликоцитин 1	GKLQAF LAKMKEIAAQTL-NH <sub>2</sub>	+3	18
<i>Oxyopes takobius</i>	Оксиопинин 1	FRGLAKLLKIGLKS FARVLKLVLPKAAKAGKALAKSMADENAIRQQNQ	+10	48
	Оксиопинин 2a	GSVFGKILRSIAKVFKGVGKVRKQFKTASDLKNO	+8	37
<i>Cupiennius salei</i>	Купиеннин 1a	GFGALFKFLAKKVAKTVAKQAAKQGAQYVVNKQME-NH <sub>2</sub>	+8	35
<i>Lachesana tarabaevi</i>	Латарцин 1	SMWSGMWRRKLLKLRNALKKKLGGE	+9	25
	Латарцин 2a	GLFGKLIKFKGRKAISYAVKKARGKH	+9	26
	Латарцин 3a	SWKSMACKLKEYMEKLRQRA-NH <sub>2</sub>	+6	20
	Латарцин 4a	GLKDKFKSMGEKLRQYIQTWKAKF-NH <sub>2</sub>	+6	24
	Латарцин 5	GFFGKMKEYFKKFGASFKRRFANLKKRL-NH <sub>2</sub>	+10	28
	Цитоинсектотоксин 1a	FFGNTWKKIKGKADKIMLKKAVKIMVKKEGISKEEAQAK-VDAMSKKQIRLYLLKYYGKKALQKASEKL	+14	69
<i>Grammostola rosea</i>	GsMTx-4	GCLEFWWKCNPNDDKCCRPKLC SKLFLC NFSF-NH <sub>2</sub>	+5	34

Таблица 9.5

**Цитолитические пептиды из яда пауков  
(Василевский и др., 2009)**

Вид пауков	Название пептида	Аминокислотная последовательность	Заряд (при рН = 7)	Число а.о.
<i>Hogna carolinensis</i>	Ликотоксин I	IWLTAALKFLGKHAAKHLLAKQQLSKL-NH <sub>2</sub>	+6	25
	Ликотоксин II	KIKWFKTMKSTAKFIAKEQMKKHLGGE	+6	27
	Ликцитин 3	KIKWFKTMKSLAKFLAKEQMKKHLGGE	+6	26
<i>Lycosa singoriensis</i>	Ликоцитин I	GKLQAFIAKMKETIAAQTL-NH <sub>2</sub>	+3	18
	Оксиопинин I	FRGLAKLLKIGLKSFAFVLLKVIIPKAAKAGKALAKSMADENAIRQQNQ	+10	48
<i>Oxyopes takobius</i>	Оксиопинин 2a	GSVFGKILRSIAKVFKGVGKVKQFKTASDLLDKNQ	+8	37
	Купиеннин 1a	GFGALFKFLAKKVAKTVAKQAAKQGAKYVYNKQME-NH <sub>2</sub>	+8	35
<i>Suprennius salei</i>	Латарцин I	SMWSGMWRRRLKLRNALKKLKGGE	+9	25
	Латарцин 2a	GLFGKLIKKFGRKAI SYAVKKARGKH	+9	26
<i>Lachexana tara- baevi</i>	Латарцин 3a	SWKSMACKLKEYMEKLLKQRA-NH <sub>2</sub>	+6	20
	Латарцин 4a	GLKDKFKSMGEKLLKQYIQTWKAFF-NH <sub>2</sub>	+6	24
	Латарцин 5	GFFGKMKEYFKKFGASFKRRFRANLKKRL-NH <sub>2</sub>	+10	28
	Цитонсексотоксин 1a	FFGNTWKKIKGKADKIMLKKAVKIMVKKEGTSKEEAQAK- VDAMSKKQIRLYLLKYUGKKALQKASEKL	+14	69
	GsMTx-4	GCLEFFWVKCNPNDDKCCRPKLLKCSKLFKLCNFSF-NH <sub>2</sub>	+5	34

Таблица 9.4

Мишени действия токсинов яда паука-птицеда *Chilobrachys jingzhao*

Мишень		Токсины
ТТХ-чувствительные Na <sup>+</sup> -каналы		JZTX-I, JZTX-II, JZTX-IV, JZTX-V, JZTX-34, JZTX-IX
ТТХ-резистентные Na <sup>+</sup> -каналы		JZTX-II, JZTX-III, JZTX-IV, JZTX-V, JZTX-IX, JZTX-X
Калиевые каналы	Kv2.1	JZTX-I, JZTX-III, JZTX-IX, JZTX-XI
	Kv4.1	JZTX-I, JZTX-XII
	Kv4.2	JZTX-V

Следует подчеркнуть, что различные по структуре и механизму действия токсины могут усиливать действие друг друга (эффект синергизма), что позволило выдвинуть концепцию «групп заговорщиков» (англ. sabals). «Заговорщики» – разнокачественные компоненты яда – действуют согласованно для достижения определенного биологического эффекта.

В своем обзоре, посвященном молекулярному разнообразию яда пауков, Василевский и др. (2009) подробно обсуждают эволюционные факторы оптимизации молекулярной структуры токсинов пауков и выделяют следующие основные.

1) *Функциональное разнообразие*. Это обеспечивает резкое возрастание числа потенциальных жертв и снижает вероятность выработки ими устойчивости к яду. Например, в яде североамериканского «воронкового» паука *Agelenopsis aperta* (семейство Agelenidae) содержатся  $\alpha$ -,  $\mu$ - и  $\omega$ -агатоксины, действующие на различные звенья синаптической передачи и ионные каналы насекомых и позвоночных.

2) *Селективность и эффективность*. Отбор токсинов как высокоточного оружия, действующего наиболее специфично и мощно. Благодаря такому отбору, в руках исследователей оказались молекулы, селективно узнающие определенные мишени. Например,  $\omega$ -агатоксины IVA и IVB являются повсеместно используемыми диагностическими лигандами Ca<sup>2+</sup>-каналов P-типа.

3) *Синергизм*. Различные по структуре и механизму действия компоненты усиливают функции друг друга при совместном использовании. При этом эффективная действующая концентрация отдельных компонентов значительно снижается. Например, синергизм действия отмечен между солями калия, гистамином, цитолитическими и нейротоксическими пептидными компонентами яда центральноамериканского «странствующего» паука *Cupiennius salei* (Stenidae). Сюда же относится концепция «групп заговорщиков».

4) *Биомолекулярное разнообразие*. Подразумевает продукцию целых множеств компонентов со сходными функцией и структурой, отличающихся специфичностью и механизмом действия, то есть природных комбинаторных «библиотек» биологически активных молекул, отобранных в процессе эволюции. Этот фактор наиболее характерен для пептидных нейротоксинов, однако он важен и для эволюции других компонентов яда.

Подробный анализ химического строения яда пауков выходит далеко за рамки этой книги<sup>70</sup>, поэтому ограничимся краткими сведениями, актуализированными в соответствии с группировкой компонентов ядов пауков, приведенной в табл. 9.2.

<sup>70</sup> Рекомендуем обратиться к фундаментальному обзору Василевского и др. (2009).



### 9.1.3.1. Низкомолекулярные компоненты

Низкомолекулярные компоненты ядов пауков представлены различными органическими и неорганическими веществами: солями, углеводами, аминокислотами, биогенными аминами, ацилполиаминами. В конце прошлого века было установлено, что способность пауков из семейств кругопрядов (*Araneidae*) и неффиловых (*Nephilidae*), например, *Argiopa lobata*, *Nephila clavata*, *Araneus gemma*, парализовать свои жертвы связана с особенностью их яда блокировать передачу возбуждения через глутаматергические синапсы беспозвоночных. Первым нейротоксином был аргиопин, выделенный в 1986 г. из яда аргиопы дольчатой *A. lobata*, распространенной в Старом Свете, и положивший начало обширному классу токсинов из ядов пауков, получивших общее название «ацилполиаминовые» или «полиаминные» токсины. В настоящее время установлено строение большого числа (более 100) полиаминных токсинов из ядов нескольких десятков видов пауков. Эти токсины высокоомологичны: в основе их строения лежит полиаминная цепь, имеющая первичную, четвертичную амино-, гуанидиновую группу или остаток аргинина на одном конце молекулы и в большинстве случаев на другом конце – ароматическую группировку (различного типа) – ацильный радикал. Эта группировка соединяется с полиамином либо через аминокислотный остаток, либо непосредственно при помощи амидной связи (рис. 9.7).

Функция некоторых компонентов ядов пауков пока не ясна, однако прогресс в развитии аналитических методов позволяет ожидать появления новых низкомолекулярных веществ из ядов пауков.

### 9.1.3.2. Линейные пептиды

Линейные пептиды ядов пауков не содержат дисульфидных связей и характеризуются, в основном, цитолитическим действием, лежащим в основе некротического эффекта укуса пауков. В настоящее время из ряда пауков (сем. *Stenidae*, *Lycosidae*, *Oxyopidae*, *Zodariidae*) выделены и охарактеризованы около 30 цитолитических пептидов. Эти линейные пептиды – короткие цепочки (в основном содержат <50 аминокислотных остатков), имеют сравнительно большой положительный заряд молекул при нейтральном pH,  $pI > 10$ , характеризуются амфифильностью, склонны к формированию  $\alpha$ -спиралей и обладают сродством к липидным бислоям.

Несмотря на общее предпочтение в пользу аминокислотных остатков с высоким потенциалом формирования  $\alpha$ -спиральной конформации, в середине последовательностей цитолитических полипептидов часто встречаются остатки глицина и/или пролина. В результате пептиды характеризуются структурой типа спираль–петля–спираль. Появление локальных областей с неупорядоченной структурой или с достаточно выраженной конформационной лабильностью влияет на функциональные особенности молекул, их специфичность в отношении мембран различного типа. В табл. 9.5 для сравнения приведена первичная структура дисульфид-содержащего пептида GsMTx-4 из яда чилийского розового птицеда *Grammostola rosea* (сем. *Theraphosidae*). Этот пептид является ингибитором механочувствительных рецепторов млекопитающих, но также проявляет и цитолитическое действие, хотя по своей структуре он является типичным нейротоксином

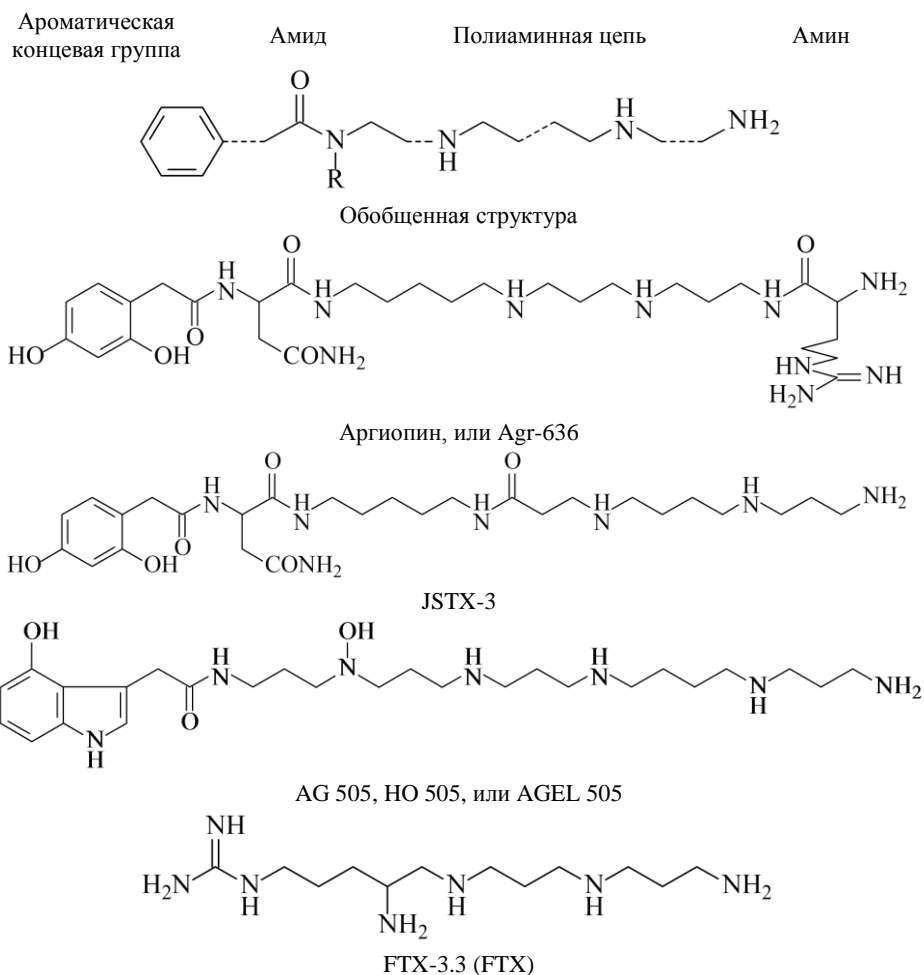


Рис. 9.7. Общая структура и некоторые примеры ключевых ацилполиаминных токсинов из ядов пауков. Аргиопин из яда *Argiopa* spp., токсин JSTX-3 из яда *Nephila clavata*, токсины HO 505 и FTX из яда *Agelenopsis aperta* (Василевский и др., 2009)

из яда пауков и относится к классу молекул, формирующих в пространстве так называемый «цистиновый узел».

Цитолитические пептиды из ядов пауков в микромолярном диапазоне концентраций проявляют активность в отношении клеток про- и эукариотического происхождения. Цитолитические пептиды характеризуются низкой селективностью, рецептор-независимым механизмом действия, следовательно они могут рассматриваться как мембранолитики. Цитолитические пептиды выполняют широкий круг функций: обеспечивают прямой токсический эффект, за счет синергизма усиливают действие нейротоксинов, выполняют антимикробные функции и, наконец, по мнению Василевского и др. (2009), могут облегчать переваривание пищи за счет разрушения клеточных и тканевых структур организма жертвы.

Таблица 9.5

**Цитолитические пептиды из яда пауков  
(Василевский и др., 2009)**

Вид пауков	Название пептида	Аминокислотная последовательность	Заряд (при pH = 7)	Число а.о.
<i>Hogna carolinensis</i>	Ликотоксин I	IWLTAALKFGLGKHAAKHLAKQQLSKL-NH <sub>2</sub>	+6	25
	Ликотоксин II	KIKWFKTMKSTIAKFIAKEQMKKHLGGE	+6	27
<i>Lycosa singoriensis</i>	Ликцитин 3	KIKWFKTMKSLAKFLAKEQMKKHLGE	+6	26
	Ликцитин I	GKIQAFIAKMKETAQTL-NH <sub>2</sub>	+3	18
<i>Oxyopes takobius</i>	Оксиопинин I	FRGLAKLLKIGLKSFAFVLLKYLPKAAKAGKALAKSMADENAIHQQQ	+10	48
	Оксиопинин 2a	GSVFGKILRSIAKVFKGKVRKQFKTASDLDKNQ	+8	37
<i>Cupiennius salei</i>	Купиеннин 1a	GFGALFKFLAKKVAKTVAKQAAKQGAKYVVKQME-NH <sub>2</sub>	+8	35
	Латарцин I	SMWSGMWRRKLLRNALKKLKGGE	+9	25
<i>Lachesana tarabaei</i>	Латарцин 2a	GLFGLIKKFGKKAISYAVKKARGKH	+9	26
	Латарцин 3a	SMKSMACKLKEYMEKLLKQRA-NH <sub>2</sub>	+6	20
	Латарцин 4a	GLKDKFKSMGEXLQYIQTWKAKFF-NH <sub>2</sub>	+6	24
	Латарцин 5	GFFGKMKEYFKKFGASFKRRFANLKKRL-NH <sub>2</sub>	+10	28
	Цитоинсектотоксин 1a	FFGNTWKKIKGKADKIMLKKAVKIMVKKKGI SKEEAQAK-VDAMSKKQIRLYLLKYGGKALQKASEKL	+14	69
<i>Grammostola rosea</i>	GsMTx-4	GCLLFFWVKCNPNDDKCCRPKLFC SKLFLKLCNFSF-NH <sub>2</sub>	+5	34

### 9.1.3.3. Дисульфидсодержащие пептиды

Несмотря на то, что в настоящее время из ядов пауков выделены и охарактеризованы примерно 500 индивидуальных пептидов, по мнению специалистов только в яде одного вида паука может присутствовать несколько сотен пептидов, а с учетом видового богатства пауков их природная комбинаторная библиотека может насчитывать десятки миллионов молекул(!). Для пептидных токсинов пауков предложен принцип классификации по типу мотивов первичной структуры, который базируется на анализе аминокислотных последовательностей и не учитывает фармакологические свойства молекул.

Пептидные токсины пауков характеризуются аминокислотной последовательностью, определяющей укладку (англ. fold) полипептидной цепи в пространстве. В настоящее время рассматривают три типа укладки, характерных для пространственной 3D-структуры дисульфидсодержащих пептидов из ядов пауков. Как уже говорилось, для подавляющего большинства известных пептидных токсинов пауков характерна укладка полипептидной цепи, описываемая структурным мотивом так называемого «цистинового узла». Для всех молекул этого типа характерно следующее расположение дисульфидных связей:  $C^1-C^4$ ,  $C^2-C^5$ ,  $C^3-C^6$ . Пространственная структура пептидов с мотивом «цистинового узла» характеризуется наличием  $\beta$ -шпильки и своеобразного «узла»: третья дисульфидная связь ( $C^3-C^6$ ) пронизывает кольцо, образованное двумя другими дисульфидами и атомами основной цепи, их соединяющими. Полипептиды с укладкой «цистинового узла» часто также именуются как ноттины (от англ. knot – узел). В настоящее время известны свыше тысячи ноттинов с различной биологической функцией: ингибиторы протеаз, антимикробные пептиды, инсектицидные и антигельминтные пептиды, нейротоксины, гуморальные регуляторы и т.д.

В «канонической» структуре токсинов пауков ноттинового типа, содержащих шесть остатков полуцистина, можно выделить три основных фрагмента (рис. 9.8).

- 1) N-концевой участок длиной порядка 8–10 аминокислотных остатков (до второго остатка полуцистина, зеленая область на рис. 9.8);
- 2) центральный фрагмент, наиболее богатый остатками полуцистина и содержащий характерный «сдвоенный» мотив CC (желтый цвет на рис. 9.8);
- 3) наконец, C-концевой фрагмент после пятого остатка полуцистина, отличающийся наибольшей вариабельностью как по размеру, так и по аминокислотному составу (синий цвет на рис. 9.8).

Существует определенная закономерность распределения остатков цистеина в N-концевой и центральной частях аминокислотной последовательности токсинов, что привело к формулированию для них специального мотива первичной структуры. Для подавляющего большинства токсинов расстояние между  $C^1$  и  $C^2$  соответствует шести аминокислотным остаткам, а  $C^3$  и  $C^4$ , как правило, занимают соседние позиции. Эти наблюдения позволили определить *основной структурный мотив* (principal structural motif, PSM):  $C^1X_6C^2 \dots \dots \dots C^3C^4$ , где X – любой аминокислотный остаток.

Наличие в какой-либо исследуемой структуре пептида из яда паука мотива PSM, может является диагностическим симптомом наличия нейротоксической активности. В случае содержания в молекуле более шести остатков цистеина выявлена еще одна закономерность: более чем в 70% случаев  $C^5$  и  $C^6$ , а также  $C^7$  и  $C^8$  разделены одним аминокислотным остатком. В результате предложен *дополнительный структурный мотив* (extra structural motif, ESM):  $C^5XC^6 \dots \dots \dots C^7XC^8$ ,

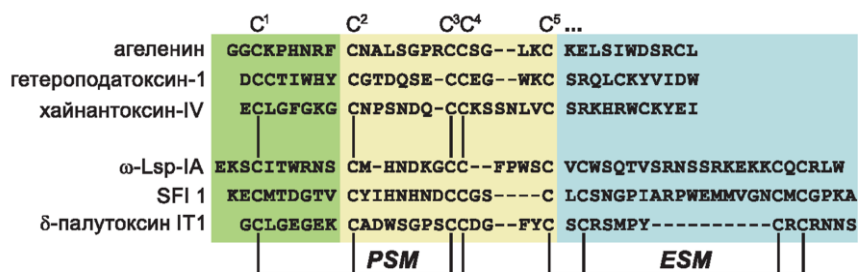


Рис. 9.8. Аминокислотные последовательности пептидных токсинов пауков с указанием мотивов PSM и ESM (Василевский и др., 2009). В качестве примеров приведены агеленин из *Allagelena opulenta*, гетероподатоксин-1 из *Heteropoda venatoria*, хайнантоксин-IV из *Haplopelma hainanum*, ω-Lsp-IA из *Geolycosa* sp., SFI 1 из *Segestria florentina*, δ-палитоксин IT1 из *Paracoelotes luctuosus*. N-концевой фрагмент молекул расположен на зеленом фоне, центральный – на желтом, C-концевой – на синем. Разрывы внесены для оптимизации сравнения последовательностей. Сверху приведена нумерация первых пяти остатков цистеина

где X – любой аминокислотный остаток. Присутствие в исследуемой структуре мотива ESM без PSM не указывает достоверно на нейротоксическую функцию пептида. Примеры выявленных у токсинов пауков мотивов PSM и ESM приведены на рис. 9.8; обнаружено также несколько более редких разновидностей этих мотивов.

Дисульфидсодержащие пептиды из ядов пауков отличаются высоким многообразием функциональных особенностей.

В соответствии с биологией пауков, главные мишени действия их токсинов должны находиться в организме насекомых. Однако рецепторные структуры млекопитающих также могут попасть «в сферу интересов» токсинов пауков:

- 1) в случае, если такие структуры также биологически обоснованы и несут функцию защиты или нападения;
- 2) вследствие гомологии молекул мишеней из представителей различных таксонов;
- 3) при случайном выполнении необходимых структурных требований к лигандам соответствующих рецепторов.

В настоящее время основными мишенями (рецепторами) дисульфидсодержащих нейротоксических пептидов из ядов пауков являются белковые компоненты мембран электровозбудимых клеток (нейронов и миоцитов): не только различные потенциал-зависимые ионные каналы (калиевые, натриевые, кальциевые), но также хемо-, термо- и механо-возбудимые ионотропные рецепторы.

#### 9.1.3.4. Ферменты

Ферменты играют важную роль в осуществлении биологических функций у всех ядовитых животных, в состав ядов которых они входят – это насекомые, паукообразные, амфибии, рептилии и др. Общее представление о ферментном спектре яда пауков дает табл. 9.6. Более детальную характеристику патогенетических эффектов ферментов целесообразно рассмотреть в соответствующих разделах главы.

Таблица 9.6

## Ферментативная активность яда пауков (Rach, Hodgson, 2002)

Ферменты	Примеры пауков-продуцентов
Гиалуронидаза	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i> , <i>Loxosceles</i> sp., <i>Atrax robustus</i> , <i>Phoneutria nigriventer</i>
Фосфодиэстераза	<i>Atrax robustus</i> , <i>Latrodectus mactans</i>
Щелочная фосфатаза	<i>Loxosceles reclusa</i>
Эстераза	<i>Loxosceles reclusa</i>
АТФаза	<i>Loxosceles reclusa</i>
Сфингомиелиназа D	<i>Loxosceles reclusa</i>
Коллагеназа	<i>Nephila edulis</i> , <i>Eriophora transmarina</i>
Пептид изомераза	<i>Agelenopsis aperta</i>
Фосфолипаза A <sub>2</sub>	<i>Eresus niger</i>

#### 9.1.4. Общая характеристика фармакологических эффектов яда пауков

В предыдущем разделе, в основном посвященном химической структуре токсинов ядов пауков, вопросы механизмов их действия затрагивались попутно. Поэтому целесообразно кратко рассмотреть систематизированные сведения о фармакологических эффектах и патогенетических механизмах действия яда пауков и их токсинов, детали же будут проанализированы при характеристике конкретных ядов. Пауки, так же как и другие ядовитые животные, например змеи или скорпионы характеризуются не только межвидовой, но и внутривидовой гетерогенностью химического состава, а следовательно и механизмов действия яда и его компонентов.

Мишенями действия нейротоксинов яда пауков являются наиболее уязвимые, с точки зрения тяжести последствий структурно-функциональных нарушений, элементы нервной системы: ионные каналы электровозбудимых мембран, участвующие в генерации и распространении потенциалов действия, и синаптические структуры, обеспечивающие передачу сигнала между нейронами или между нейроном и эффекторным органом.

В настоящее время основные нейротоксические компоненты яда пауков рассматривают в рамках следующей классификации:

- токсины глутаматных рецепторов,
- токсины кальциевых каналов,
- токсины натриевых каналов,
- токсины калиевых каналов,
- токсины хлоридных каналов,
- токсины, стимулирующие высвобождение нейромедиаторов,
- токсины, повреждающие холинергическую передачу.

Для идентификации токсинов в соответствии с мишенями их действия приняты приведенные в табл. 9.7 символы.

Таблица 9.7

**Фармакологическая классификация токсинов из яда пауков  
(Kuhn-Nentwig et al., 2011)**

Мишень	Дескриптор	Функция
Постсинаптические рецепторы	$\alpha$ (альфа)	Блокирование ацетилхолиновых и глутаматных рецепторов постсинаптической мембраны
$\text{Ca}^{2+}$ -каналы	$\omega$ (омега)	Ингибирование потенциал-активируемых кальциевых каналов
$\text{K}^{+}$ -каналы	$\beta$ (бета)	Ингибирование потенциал-активируемых калиевых каналов
$\text{Na}^{+}$ -каналы	$\kappa$ (каппа)	Модификация активации потенциал-зависимых натриевых каналов
	$\delta$ (дельта)	Замедление инактивации потенциал-активируемых натриевых каналов
	$\mu$ (мю)	Ингибирование потенциал-активируемых натриевых каналов
Другие каналы	$\gamma$ (гамма)	Взаимодействие с активируемыми гиперполяризацией управляемыми циклическими нуклеотидами неспецифическими катионными каналами
	$\pi$ (пи)	Взаимодействие с рН-чувствительными ионными каналами
	$\tau$ (тау)	Взаимодействие с переходным рецептором потенциального канала

*Глутаматные рецепторы* играют важную роль в функционировании ЦНС позвоночных и беспозвоночных животных, поэтому обнаружение в яде пауков соответствующих нейротоксических лигандов (ацилполиаминов) соответствовало концепции «ключа и замка». Первым токсином (1980 г.), блокирующим глутаматные синапсы беспозвоночных и позвоночных, был токсин JSTX, выделенный из яда паука *Nephila clavata*. Позднее токсины с аналогичным действием были выделены из ядов пауков *Araneus ventricosus*, *Nephila maculate*, *Argiope* sp. Кроме того, из яда бразильского странствующего паука *Phoneutria nigriventer* выделен новый класс токсинов, повреждающих глутаматергическую передачу, в частности, токсин PhTx-4 тормозит поглощение глутамата изолированными синапсосомами мозга крысы.

*Кальциевые каналы* находятся во многих тканях и, в частности, играют ключевую роль в процессах высвобождения нейромедиаторов в пресинаптических окончаниях. Основными продуцентами нейротоксинов – блокаторов кальциевых каналов – являются пауки *Agelenopsis aperta*, вызывающие необратимый пресинаптический блок у беспозвоночных (семейство агатоксинов). Токсины, взаимодействующие с кальциевыми каналами, выделены также из яда *Grammostola rosea* ( $\omega$ -граммотоксин SIA); *Phoneutria nigriventer* (токсины PhTx1-3); *Segestria florentina* (токсин SNX-325) и многих др.

*Потенциал-управляемые натриевые каналы* являются неотъемлемой частью физиологических систем, обеспечивающих реализацию широкого спектра жизненно важных функций от локомоции до обучения и памяти. Ключевая роль натриевых каналов в живых системах, особенно в возбудимых тканях (нервной и мышечной), предопределила их эволюционную роль как мишеней действия нейротоксинов ядовитых животных вообще и пауков в частности. Блокаторы и

Таблица 9.8

**Некоторые мишени дисульфид-содержащих токсинов пауков  
(по Василевскому и др. (2009), с дополнениями)**

Мишень	Токсин и его продуцент	Механизм действия
K <sup>+</sup> -каналы	Хувентоксин-XI (P68425)* (Кappa-theraphotoxin-Hh1a)** <i>Haplopelma schmidti</i>	Поровый блокатор
	Ханатоксин 1 (P56852) (Кappa-theraphotoxin-Gr1a) <i>Grammostola rosea</i>	Блокатор-модулятор активации
Na <sup>+</sup> -каналы	Хувентоксин-IV (P83303) (Mu-theraphotoxin-Hh2a) <i>Haplopelma schmidti</i>	Поровый блокатор
	Протоксин I (P83480) (Beta-theraphotoxin-Tr1a) <i>Thrixopelma pruriens</i>	Блокатор-модулятор активации
	μ-Агатоксин I (P11057) (Mu-agatoxin-Aa1a) <i>Agelenopsis aperta</i>	Модулятор активации
	Робустоксин (P01478) (Delta-hexatoxin-Ar1a) <i>Atrax robustus</i>	Ингибитор активации
Ca <sup>2+</sup> -каналы	ω-Агатоксин IIIA (P33034) (Omega-agatoxin-Aa3a) <i>Agelenopsis aperta</i>	Поровый блокатор
	ω-Грамма-240-токсин SIA(P60590) (Omega-theraphotoxin-Gr1a) <i>Grammostola rosea</i>	Блокатор-модулятор активации
H <sup>+</sup> -рецепторы	Псалмотоксин 1(P60514) (Pi-theraphotoxin-Pc1a) <i>Psalmopoeus cambridgei</i>	Блокатор
Механорецепторы	GsMTx-4 (Q7YT39) (M-theraphotoxin-Gr1a) <i>Grammostola rosea</i>	Блокатор
Терморекцепторы	Ваниллотоксин 3 (P0C246) (Tau-theraphotoxin-Pc1c) <i>Psalmopoeus cambridgei</i>	Активатор

\*Код токсина в базе данных UniProt. \*\*Рекомендуемое название в базе данных UniProt.

модификаторы натриевых каналов найдены в ядах многих видов пауков: *Agelenopsis aperta*, *Argiopa* sp., *Atrax robustus*, *Phoneutria nigriventer* и др.

K<sup>+</sup>-каналы возбудимых клеток участвуют в образовании мембранного потенциала покоя, обеспечивают реполяризацию мембраны во время потенциала действия, формируют следовую гиперполяризацию, модулируют повторную активность, имеют очень большое значение в регуляции секреции медиатора из нервных окончаний, принимают участие в механизмах обучения и памяти. Блокаторы калиевых каналов обнаружены в ядах целого ряда пауков: *Grammostola rosea* (ханатоксины), *Heteropoda venatoria* (гетероподатоксины), *Haplopelma schmidti* (хувентоксины) и др.



Таблица 9.9

Токсичность целого яда некоторых видов пауков для таракана *Blatta orientalis* (Kuhn-Nentwig et al., 2011)

Семейство	Вид паука	DL <sub>50</sub> (нг сырого яда/мг массы насекомого)
Agelenidae	<i>Tegenaria atrica</i>	92.6
Amaurobiidae	<i>Amaurobius</i> sp.	542.9
Ctenidae	<i>Cupiennius salei</i>	26.0
Filistatidae	<i>Kukulcania</i> sp.	0.3
Hexathelidae	<i>Atrax robustus female</i> <i>Atrax robustus male</i>	9.7 20.0
Lycosidae	<i>Lycosa</i> sp.	45.1
Plectreuridae	<i>Plectreurys tristis</i>	1.2
Salticidae	<i>Phidippus johnsonii</i>	2.6
Sicariidae	<i>Loxosceles deserta</i>	5.1
Sparassidae	<i>Olios</i> sp.	5.9
Theraphosidae	<i>Brachypelma albopilosum</i> , <i>Avicularia metallica</i>	50.3 10.0
Theridiidae	<i>Latrodectus hesperus</i>	0.9

Ионы  $Ca^{2+}$  являются наиболее распространенными вне- и внутриклеточными анионами.  $Ca^{2+}$ -каналы присутствуют в плазматической мембране большинства клеток, играя важную роль в регуляции клеточного объема, трансэпителиального транспорта, секреции секреторных желез, стабилизации мембранного потенциала. Нейротоксины, блокирующие  $Ca^{2+}$ -активируемые  $Ca^{2+}$ -каналы, найдены в ядах *Argiopa* sp. Кроме того, получены синтетические аналоги токсина FTX из яда *Agelenopsis aperta* – sFTX3.3 – также являющиеся блокаторами  $Ca^{2+}$ -активируемых  $Ca^{2+}$ -каналов.

Классическим представителем ядов, стимулирующих высвобождение нейромедиаторов из пресинаптических окончаний, является яд каракурта (черной вдовы – *Latrodectus* sp.). Как целый яд, так и основное действующее начало  $\alpha$ -латротоксин вызывают истощающей массивный выброс медиаторов из пресинаптических везикул.

Наконец упомянем никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (Н-АХ-рецепторы), которые присутствуют на постсинаптической мембране мышечных и нервных клеток и участвуют в реализации синаптической передачи. Показано, что яд *Argiopa lobata* не только вызывает постсинаптический блок в глутаматергических синапсах, но также обратимо блокирует холинергическую передачу в мионевральных синапсах позвоночных. Блокирующий эффект холинергической передачи в клетках феохромоцитомы PC12 крыс установлен для полиаминного токсина JSTX-3 из яда *Nephila clavata*.

В табл. 9.8 и 9.9 приведена дополнительная информация о фармакологических эффектах некоторых токсинов и токсичности целых ядов пауков.

## 9.2. ЯД МИГАЛОМОРФНЫХ ПАУКОВ (Mygalomorphae)

Мигаломорфные пауки (лат. Mygalomorphae) – инфраотряд пауков (Araneae). Как правило, мигаломорфные пауки крупнее аранеоморфных, что связывают именно с различием в строении хелицер. Описаны около 2650 современных ви-

дов. Наиболее известные представители принадлежат к семействам Theraphosidae и Hexathelidae. Особенности механизма действия различных групп токсинов пауков, включая белковые, целесообразно рассмотреть на примере наиболее изученных представителей различных семейств.

### 9.2.1. Семейство Пауки-птицееды (Theraphosidae)

Theraphosidae – пауки-птицееды<sup>71</sup> населяют все континенты, кроме Антарктиды. Ареал включает полностью Африку, Южную Америку, юго-запад США, Австралию и Океанию. В Европе пауки-птицееды встречаются редко, их ареал включает южную половину Италии, Испанию и Португалию. Встречаются как влаголюбивые виды, обитающие в кронах экваториальных лесов, так и засухоустойчивые полупустынные. Пауки-птицееды нередко достигают размеров 6–11 см и более. Живут на деревьях в паутинных трубках или полостях почвы, в дуплах деревьев или расщелинах скал. Паук-птицеед опасен для мелких животных в условиях дикой природы. Птицеед охотится на лягушек, ящериц и маленьких птиц. Яд паука не убивает жертву, а всего лишь парализует ее, поскольку относится к нейротоксичным веществам.

#### 9.2.1.1. Клиника отравления

В силу своих размеров и нередко агрессивного поведения могут представлять опасность и для человека роды *Avicularia* (Гвиана, Суринам, Бразилия, Калифорния), *Acanthoscurria* и *Lasiodora* (Южная Америка), *Pterinochilus* (Восточная Африка), *Poecilotheria* (о. Цейлон). В отечественной литературе феноменология отравления пауками-птицедами подробно изложена Пигулевским (1975). Так, например, пауки *Poecilotheria fasciata* обитают на кокосовых пальмах, и поэтому нередки случаи укусов сборщиков кокосовых орехов. Отравление их ядом характеризуется сильной болью, которая распространяется от места укуса по телу, а также произвольными сокращениями скелетной мускулатуры. У местных жителей этот симптом получил название «прыгающее тело». Иногда на месте укуса развивается некротический очаг, однако он может быть и следствием механического повреждения кожи и попадания вторичной инфекции.

Пауки-птицееды, которых в последнее время все чаще стали содержать в домашних условиях, как правило, привезены из других стран; они имеют яркую окраску, а размах ног достигает 25 см. Птицееды кусаются только в целях самозащиты. Укусы их не более опасны, чем ужаления пчел. Однако возможны сильная боль и отек. Домашний паук-птицеед чаще всего кусает хозяина «сухим» способом, то есть не выпускает яд, а только повреждает кожные покровы. Механическое повреждение кожи представляет относительную опасность в смысле инфи-

---

<sup>71</sup> В ряде европейских языков птицеедов, а иногда и всех крупных пауков, часто называют tarantula. В русском языке слово тарантул служит для обозначения пауков другой группы. В связи с этим часто возникает путаница при неграмотном переводе текстов. В современной биологической систематике таксоны «тарантулы» и «птицееды» не пересекаются; птицееды относятся к мигаломорфным паукам, а тарантулы – к аранеоморфным.

цирования бактериями. Эту опасность довольно легко устранить, обработав рану антисептиком. Кроме того, у некоторых видов птицеедов тело покрыто особыми стрекочущими волосками. Если паука потревожить, он скрещивает задние ноги над брюшком и потирает их друг об друга; волоски при этом разлетаются в стороны и, вонзаясь в кожу, вызывают образование зудящих папул. Сыпь держится по несколько недель. При укусах пауков-птицеедов промывают рану, придают конечности возвышенное положение, проводят профилактику столбняка и назначают анальгетики. При сыпи показаны гистаминоблокаторы и глюкокортикоиды для наружного применения.

### 9.2.1.2. Химический состав и механизмы действия яда

В яде *Poecilotheria fasciata* обнаружены аллогенные факторы – гистамин и серотонин. Изучение действия яда на нервно-мышечную передачу показало, что уже в концентрации 1 мкг/мл он усиливает и пролонгирует мышечные сокращения на непрямую стимуляцию. Этот эффект яда блокируется курареподобными веществами. Вероятно яд усиливает высвобождение ацетилхолина из моторных нервных терминалей, с чем и связаны клинические симптомы отравления.

Обитающие в Танзании пауки *Pterinochilus* sp. обладают нейротоксическим ядом и вызывают у млекопитающих сильную местную боль, беспокойство, повышенную чувствительность к внешним раздражениям. Через 5–15 мин у отравленных животных развивается гиперсаливация, ринорея, приапизм, диарея, судороги, наступает нарушение дыхания с последующим развитием резкой дыхательной недостаточности. При подкожном введении мышам  $DL_{50}$  целого яда *Pterinochilus* sp. составила 1.5 мг/кг. Яд токсичен и для беспозвоночных животных. Например, у таракана при интраабдоминальном введении после начального периода возбуждения наступает двигательный паралич ( $DL_{50} = 45$  мкг/кг).

В настоящее время получены достаточно подробные сведения о химической природе и механизмах действия компонентов ядов некоторых пауков-птицеедов.

Например, из яда китайского паука-птицееда *Haplopelma schmidtii* (синонимы *Haplopelma huwena*, *Ornithoctonus huwena*, сем. Theraphosidae) выделена группа дисульфид-содержащих пептидных токсинов – хувентоксинов (рис. 9.9, 9.10).

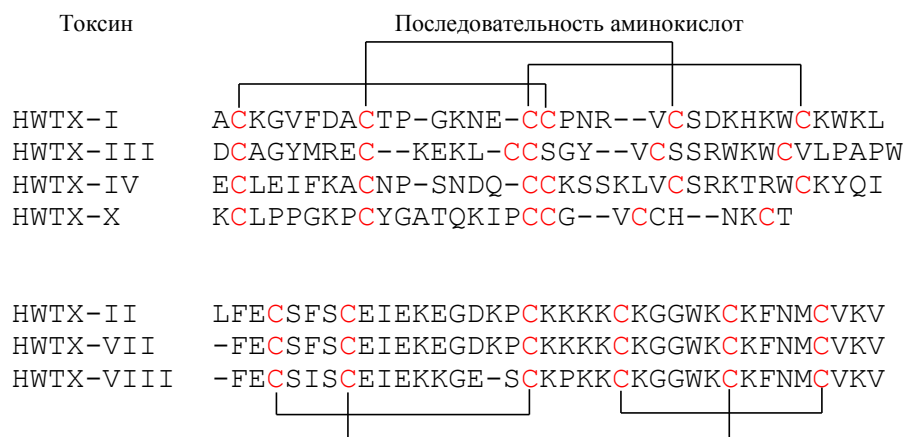


Рис. 9.9. Первичная структура хувентоксинов из яда *Haplopelma schmidtii*



Рис. 9.10. Ribbon-структура хувентоксина-IV (Escoubas, Rash, 2004)

Так, входящий в эту группу хувентотоксин IV (HwTx-IV, Мм 4109.18 Да) селективно взаимодействует с ТТХ-чувствительными потенциал-управляемыми  $\text{Na}^+$ -каналами нейронов спинного ганглия крыс с  $\text{IC}_{50}$  30 нМ. Нейротоксин преимущественно тормозит нервные потенциал-управляемые натриевые каналы подтипов hNav1.7 ( $\text{IC}_{50}$  26 нМ), rNav1.2 ( $\text{IC}_{50}$  150 нМ) и rNav1 ( $\text{IC}_{50}$  338 нМ) и менее эффективен в отношении мышечных подтипов натриевых каналов rNav1.4 и hNav1.5 ( $\text{IC}_{50} > 10$  мкМ). Известно, что канал Nav1.7 участвует в генерации и проведении нейропатической и ноцицептивных болевых сигналов. Показано, что аминокислотные остатки Glu(1), Glu(4), Phe(6) и Tyr(33) этого токсина играют важную роль в его функциональной активности.

В яде паука *H. schmidtii* был также обнаружен хувентоксин-XI, являющийся типичным поровым блокатором  $\text{K}^+$ -каналов, в его структуре присутствует характерная «функциональная диада» аминокислотных остатков, найденная у блокаторов калиевых каналов из различных источников и разнообразной 3D-структуры.

Источником интересных и перспективных дисульфид-содержащих токсинов являются ханатоксины 1 и 2, выделенные из яда чилийского паука-птицеда *Grammostola rosea* (синонимы *Phrixotrichus spatulata*, *Grammostola spatulata*). Ханатоксины – это общее название для двух пептидных токсинов HaTx1 и HaTx2 с  $M_r$  4.1 кДа, которые имеют сходную структуру и состоят из 35 аминокислотных остатков (рис. 9.11).

Первичная структура ханатоксинов имеет высокую гомологию с граммотоксином (42%) и с токсином SGTx1 (76%). Ханатоксины 1 и 2 взаимодействуют с потенциал-чувствительным доменом  $\text{K}^+$ -каналов Kv4.2 и Kv2.1 таким образом, что затрудняют процесс их активации. Аналогичным образом действует гомологичный ханатоксинам блокатор  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов  $\omega$ -граммотоксин SIA ( $\omega$ -GrTx SIA) из яда того же паука.

Сходный эффект, но на  $\text{Na}^+$ -каналы оказывают протоксины I и II (ProTx) из яда чилийского паука *Thrixopelma pruriens* (сем. Theraphosidae). Более того, для этих токсинов характерна перекрестная активность, и они взаимодействуют с консервативной областью потенциал-чувствительных доменов ионных каналов, получившей название мотива «весла» (англ. paddle).

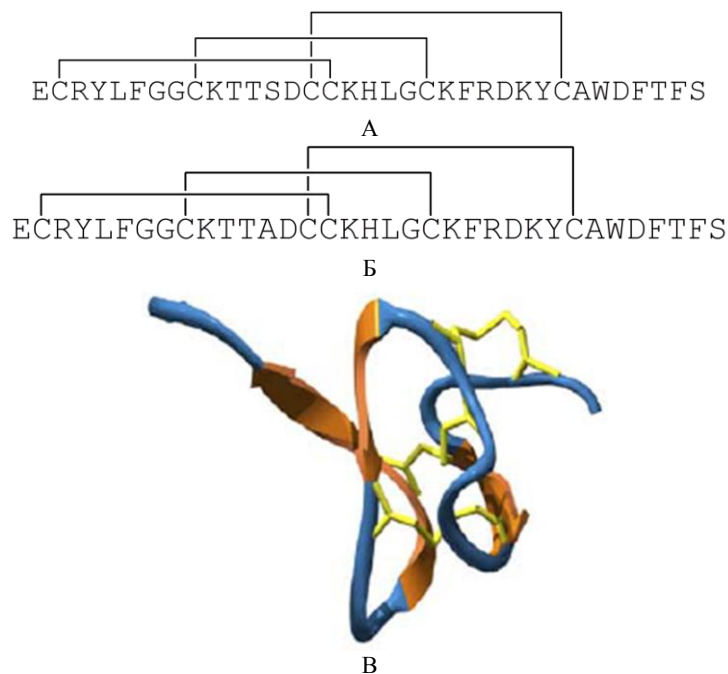


Рис. 9.11. Первичная структура ханатоксинов: А – NaTx1, Б – NaTx2, В – 3D-изображение NaTx1 (Escoubas, Rash, 2004)

Торможение ханатоксинами калиевых каналов может быть перспективным в лечение диабета 2-го типа, поскольку именно калиевые каналы участвуют в регуляции секреции инсулина. Однако низкий выход синтетического ханатоксина (~1%) пока является экономически сдерживающим обстоятельством.

Среди других интересных дисульфид-содержащих токсинов пауков-птицеедов укажем псалмотоксин 1 (PcTx1) из яда тринидадского паука-птицееда (*Psalmopoeus cambridgei*), который с высокой аффинностью и селективностью блокирует подтип 1a кислоточувствительных каналов (ASICs, acid-sensing ion channels).

### 9.2.2. Семейство Ядовитые воронковые пауки (Hexathelidae)

Hexathelidae – семейство мигаломорфных пауков (Mygalomorphae). Насчитывает 105 видов, объединяемых в 12 родов. Живут в норках и древесных дуплах, строя паутинные сети, напоминающие воронки. Эти большие (длиной до 7 см «с ногами») черные пауки имеют очень длинные парные прядильные органы на конце брюшка. Они плетут (как видно из их названия) лейкоподобную или трубоподобную паутину и живут в норке глубиной до 40 см. Пауки очень агрессивны и всегда готовы к нападению. Их массивные клыки могут прокусить даже детские ногти. Половозрелые самцы покидают свои норки и начинают путешествовать, часто, особенно после летних дождей, заходят в человеческие жилища и могут прятаться в одежде.

### 9.2.2.1. Клиника отравления

Укус некоторых представителей (например австралийского *Atrax robustus*) опасен для здоровья человека и может приводить к летальному исходу. Сиднейский воронковый, или лейкопаутиный паук (Sydney funnel-web spider) – *Atrax robustus* – ранее обитал исключительно в г. Сиднее, а сейчас встречается в штате Квинсленд между г. Бризбенем и г. Гимпи и даже на о. Фрейзера. Он принадлежит к наиболее опасным паукам в мире. Описаны случаи смерти детей в течение двух часов после укуса пауками-самцами этого вида (укус самки этого вида паука тяжелой болезнью не вызывает). Симптомы отравления ядом этого паука включают местную боль, слюно- и слезотечение, мышечные подергивания. Весьма характерны также тахикардия, гипертензия, пилоэрекция. Достоверно зарегистрированы смертельные случаи у людей, причем в одном случае смерть ребенка наступила уже через 15 мин после укуса (Сатерленд, 1981). В Австралии создана сыворотка против яда *A. robustus*, кроме того, рекомендуется наложение давящих повязок (но не жгута!) выше и ниже места укуса и иммобилизация конечности. Из симптоматических средств применяют диазепам, атропин, кортикостероиды.

### 9.2.2.2. Химический состав и механизмы действия яда

Кроме токсических полипептидов в состав яда входят ГАМК, спермин и гялуронидаза. Яд *A. robustus* вызывает высвобождение ацетилхолина из холинергических нервных терминалей, что и служит причиной мышечных сокращений. Эффект усиления нервно-мышечной передачи через 70–100 мин сменяется ее угнетением. Другой характерной особенностью яда является его вазоконстрикторный эффект. Фармакологический анализ показал, что сокращение гладкой мускулатуры сосудистой стенки частично обусловлено прямым стимулирующим действием яда на  $\alpha$ -адренорецепторы. Возможно, что этот механизм лежит в основе гипертензивной реакции, обычно наблюдаемой у людей, отравленных ядом *A. robustus*. Интересно, что в крови высших позвоночных, но не приматов, содержатся факторы, нейтрализующие этот яд. Подобным эффектом обладает кровь крыс, кроликов, собак, кошек, мышей, цыплят. Ингибирующее действие сыворотки крови может быть обусловлено комплекментом и иммуноглобулинами G.

Главными токсичными компонентами ядов пауков из родов *Atrax* и *Hadronyche*, опасных для человека, служат  $\delta$ -атракотоксины, которые, подобно  $\alpha$ -токсинам скорпионов, замедляют инактивацию  $\text{Na}^+$ -каналов. Наиболее изученными являются  $\delta$ -атракотоксины *Ag1a* (*робустоксин*) и *Hv1a* (*версустоксин*) – мажорные компоненты ядов *Atrax robustus* и *Hadronyche versuta* (рис. 9.12, 9.13). Токсичность ( $\text{DL}_{50}$ )  $\delta$ -атракотоксинов составляет ~ 0.2 мг/кг при подкожном и ~50–100 нг/кг при внутримозговом введении мышам. Версустоксин является структурным и функциональным аналогом робустоксина. Робустоксин состоит из 42 аминокислотных остатков, характерным является наличие подряд трех остатков цистеина в позициях 14–16 (характерный триплет ССС). Дополнительным структурным элементом  $\delta$ -атракотоксинов служит фиксирование С-концевой области молекулы четвертой дисульфидной связью:

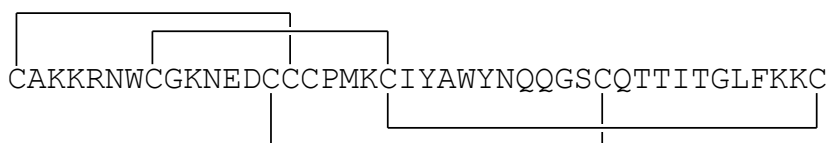


Рис. 9.12. Робустоксин

Робустоксин – низкомолекулярный нейротоксический полипептид – ингибирует ТТХ-чувствительные потенциал-управляемые натриевые каналы насекомых и млекопитающих. Он замедляет инактивацию, вызывая пролонгирование потенциала действия в нервных окончаниях вегетативной и периферической нервной системы. В результате возникают спонтанные повторяющиеся паттерны нервных импульсов, приводящие к усилению высвобождения нейромедиаторов из нервных окончаний периферической и вегетативной нервной системы. Робустоксин не деполаризует потенциал покоя и не влияет на ТТХ-устойчивые натриевые каналы. Полагают, что если у млекопитающих робустоксин модифицирует работу натриевых каналов, то у насекомых может оказывать влияние на калиевые и кальциевые ионные каналы.

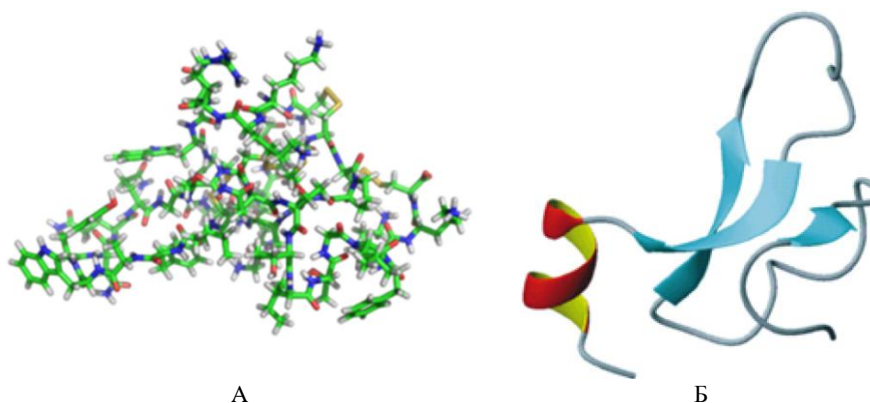


Рис. 9.13. 3D-структура δ-атракотоксинов: А – робустоксин из яда *Atrax robustus* (Wikipedia Commons), Б – версустоксин из яда *Hadronyche versuta* (Fletcher et al., 1997)

Высокоселективные блокаторы кальциевых каналов в центральных нейронах насекомых были выделены из ядов пауков родов *Atrax* и *Hadronyche* – это более короткие атракотоксины семейства ω-АСТХ-1 (36–37 аминокислотных остатков) и более длинные представители семейства ω-АСТХ-2 (42–44 аминокислотных остатков). Так, из яда *Atrax robustus* выделен селективный инсектотоксин, состоящий из 37 аминокислотных остатков ω-АСТХ-Ag1a, высокоомологичный с ранее выделенными нейротоксинами этого семейства (рис. 9.14). Этот нейротоксин вызывает начальное возбуждение у сверчков, сменяющееся вялым параличом и смертью. На изолированных нервно-мышечных препаратах гладкой и скелетной мускулатуры позвоночных токсин в концентрации до 1 мМ был не эффективен, однако избирательно блокировал кальциевые каналы ЦНС таракана. Детально изучена активность ω-атракотоксинов Hv1a и Hv2a из яда *H. versuta*. Видоспецифичность, то есть соотношение концентраций инсектотоксинов и млекотоксинов

была около 100. Эти нейротоксины рассматриваются как кандидаты в эффективные биопестициды (биоинсектициды). В частности, имеются сведения об их эффективности против вредителей табака.

	1	5	10	15	20	25	30	35	% совпадения																													
ω-АКТХ-Аr1а	S	S	V	C	I	P	S	G	Q	P	C	P	Y	N	E	H	C	C	S	G	S	C	T	Y	K	E	N	E	N	G	N	T	V	Q	R	C	D	100
ω-АКТХ-Нv1а	S	P	T	C	I	P	S	G	Q	P	C	P	Y	N	E	N	C	C	S	Q	S	T	F	K	E	N	E	N	G	N	T	V	K	R	C	D	84	
ω-АКТХ-Нv1b	S	S	T	C	I	P	S	G	Q	P	C	P	Y	N	E	N	C	C	S	Q	S	T	F	K	E	N	E	N	G	N	T	V	K	R	C	D	89	
ω-АКТХ-Нv1c	S	S	T	C	I	P	S	G	Q	P	C	P	Y	N	E	N	C	C	S	Q	S	T	F	K	E	N	E	N	G	N	T	V	K	R	C	D	88	
ω-АКТХ-Нv1d	S	P	T	C	I	P	S	G	Q	P	C	P	Y	N	E	N	C	C	S	K	S	C	T	Y	K	E	N	E	N	G	N	T	V	Q	R	C	D	89
ω-АКТХ-Нv1e	S	P	T	C	I	P	S	G	Q	P	C	P	Y	N	E	N	C	C	S	Q	S	T	F	K	E	N	E	N	G	N	T	V	K	R	C	D	86	
ω-АКТХ-Нv1f	S	A	V	C	I	P	S	G	Q	P	C	P	Y	S	K	Y	C	C	S	G	S	C	T	Y	K	T	N	E	N	G	N	S	V	Q	R	C	D	84
ω-АКТХ-Нi1а	S	-	T	C	T	P	T	D	Q	P	C	P	Y	H	E	S	C	C	S	G	S	C	T	Y	K	A	N	E	N	G	N	Q	V	K	R	C	D	73
ω-АКТХ-Нi1b	S	P	T	C	I	P	T	G	Q	P	C	P	Y	N	E	N	C	C	S	Q	S	T	F	K	E	N	E	N	G	N	Q	V	K	R	C	D	78	
ω-АКТХ-Нi1c	S	S	T	C	I	R	T	D	Q	P	C	P	Y	N	E	S	C	C	S	G	S	C	T	Y	K	A	N	E	N	G	N	Q	V	K	R	C	D	78
ω-АКТХ-Нf1а	S	P	T	C	I	R	S	G	Q	P	C	P	Y	N	E	N	C	C	S	Q	S	T	F	K	T	N	E	N	G	N	T	V	K	R	C	D	78	

Рис. 9.14. Первичная структура ω-атракотоксинов семейства АКТХ-1, выделенных из яда пауков *Hadronyche versuta* (Hv), *Hadronyche infensa* (Hi) и *Hadronyche formidabilis* (Hf). Справа показана гомология (%) с последовательностью ω-АКТХ-Аr1а (Chong et al., 2007)

Другая группа инсектотоксинов из ядов этих же пауков, получивших название к- или J-атракотоксинов (J-АКТХs), характеризуется редкой *вицинальной дисульфидной связью* между остатками цистеина в соседних положениях. Эта связь (C<sup>13</sup>C<sup>14</sup>) не принимает участия в стабилизации укладки полипептидной цепи, однако является критически важной для биологической активности, по-видимому, участвуя в непосредственном контакте с рецептором (рис. 9.15). При анализе пространственной структуры J-АКТХs было обнаружено, что наибольшее сходство они имеют с пептидами, не содержащими цистиновый узел, а характеризующимися структурным мотивом «дисульфид-направленной β-шпильки» (от англ. disulfide directed β-hairpin, DDH).

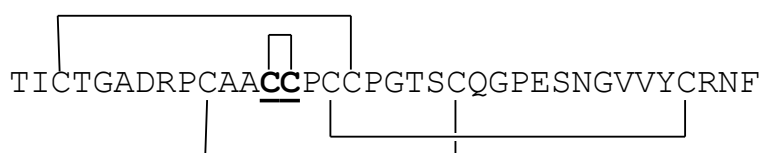


Рис. 9.15. Первичная структура J-атракотоксина (Maggio, King, 2002)

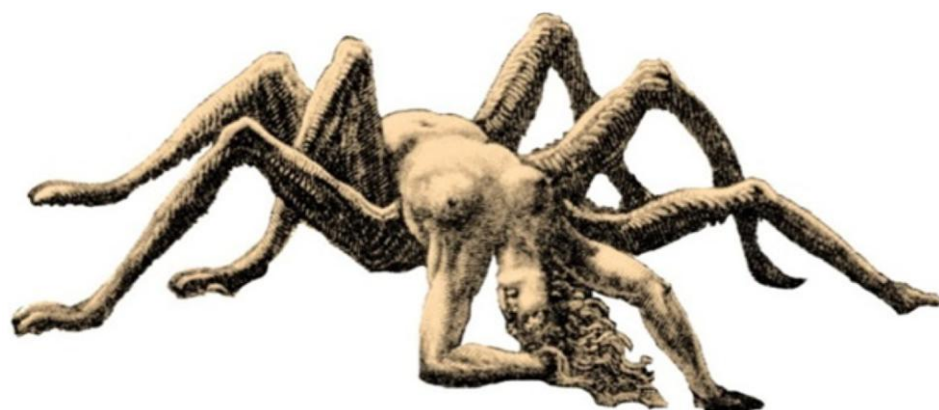
В целом, характеризуя рассмотренные токсины яда пауков, следует отметить, что имеет место как функциональное разнообразие, так и синергизм, следовательно, наибольшую эффективность имеет цельный яд, представляющий собой «коктейль» из различных токсинов. Это в очередной раз подтверждает стратегию природы: иметь избыточное число лигандов (токсинов), адекватных возможной комбинации рецепторов.



АРАНЕОМОРФНЫЕ ПАУКИ  
(Araneomorphae)  
ПАРАЗИТИФОРМНЫЕ КЛЕЩИ  
(Parasitiformes)

Я в тесной келье – в этом мире  
И келья тесная низка.  
А в четырех углах – четыре  
Неутомимых паука.

*З. Гунтуц*



Wikipedia Commons

**К** инфраотряду аранеоморфных пауков относится большое число видов пауков, среди которых много и ядовитых. Степень изученности их весьма неравномерна. Так, яды *Latrodectus* (Theridiidae) и *Loxosceles* (Sicariidae) в связи с их важным эпидемиологическим значением интенсивно изучаются. В то же время сильные яды таких пауков, как *Stenus* (Stenidae), *Mastophora* (Araneidae), *Dendryphantas* (Salticidae) и некоторых других, изучены явно недостаточно.

В этой главе будут также рассмотрены Паразитиформные клещи (Parasitiformes) – надотряд паукообразных из подкласса клещей (Acari), класса паукообразных (Arachnida). Описаны свыше 12.5 тысяч видов, которые разделяют на 75–80 семейств. Группу традиционно подразделяют на три отряда: Ixodida, Holothyrida и Mesostigmata. Ряд исследователей также относит к паразитиформным клещам клещей-сенокосцев (Opilioacariformes). Клещи – самая многочисленная группа в классе: в настоящее время описаны свыше 48 тысяч видов. Такого расцвета клещи достигли в связи с тем, что в своем историческом развитии они приобрели микроскопически мелкие размеры, что позволило им освоить верхние слои почвы, богатые разлагающимися растительными остатками.

## 10.1. ЯД АРАНЕОМОРФНЫХ ПАУКОВ (Araneomorphae)

### 10.1.1. Семейство Воронковые пауки (Agelenidae)

Воронковые пауки (Agelenidae) – широко распространенное семейство аранеоморфных пауков, насчитывают 515 современных видов, объединяемых в 42 рода. Латинское название Agelenidae происходит от слов *agelenis* – «двигаюся нечётко», что указывает на прерывистый бег особей этого семейства по сравнению с другими пауками, передвигающимися, в основном, прямо и постоянно. Несмотря на это, во многих современных языках чаще используется название «воронковые», или «травяные». Один из видов, получивший большую известность в странах Восточной Европы, – домовый паук (*Tegenaria domestica*). В русских деревнях его нередко называют «паук-домовик» из-за частого и долгого присутствия паутины за мебелью.

Воронковые пауки обычно бежево-коричневые, с продолговатым брюшком, полосатыми конечностями и длинной парой передних ног (иногда даже длиннее задних) (рис. 10.1). Размер самцов варьирует от половины до двух сантиметров. Самки обычно на сантиметр больше. Самая первая различительная характеристика – две тёмных полосы по всей спине тела. На первых трёх линьках полосы отсутствуют. Виды этого семейства плетут ловчие сети в форме воронок. Паук пользуется паутиной для охоты и защиты, хотя обычно бежит гораздо быстрее себе подобных по размеру (род *Taraxia*, например, может пробежать до 2 км за час почти без остановок, преследуя жертву). На паутине паук, как правило, сидит чуть глубже в воронке и ждёт проходящую мимо добычу, которая, чуть дотронувшись до выложенной паутины, будет моментально атакована. Убив добычу ядом, паук затаскивает её к себе в воронку. Часто его воронка меняет положение из-за скопившегося количества трупов насекомых. Больше двух-трёх недель паук на ней не задерживается. Воронка бывает липкой и не липкой, зависит это от вида. Если паутина не липкая, то паутина будет путаться вокруг ног добычи. Отлично делают паутину роды *Agelenopsis* и *Hololena*, их паутину можно заметить на



*Agelena orientalis*



Паутина *Agelena orientalis*.  
В глубине воронки виден паук

Рис. 10.1. Внешний вид и паутина паука *Agelena orientalis*. Встречается в Италии, Средней Азии и Иране (Wikipedia Commons)

кустах и траве осенним утром, когда роса собирается на паутине. Она может достигать до 3 м<sup>2</sup>. При этом несколько особей могут иметь смежную между собой паутину (что не характерно для других видов пауков). Agelenidae часто бывают агрессивны, но почти не опасны для человека. Однако токсины, выделенные из яда воронковых пауков, представляют большой интерес.

Агатоксины представляют собой семейство химически различных полиаминов и пептидных токсинов, выделенных из воронковых пауков. Механизм их действия включает блокаду глутаматных ионных каналов, потенциал-зависимых натриевых каналов и потенциал-зависимых кальциевых каналов. Агатоксины можно разделить на три основных структурных подкласса ( $\alpha$ -,  $\mu$ -,  $\omega$ -).

$\alpha$ -Агатоксины состоят из полиаминов, присоединённых к ароматической части молекулы. В яде североамериканского воронкового паука *Agelenopsis aperta* обнаружено свыше 30 различных ацилполиаминов ( $\alpha$ -агатоксинов), структура которых установлена масс-спектрометрически (рис. 10.2).

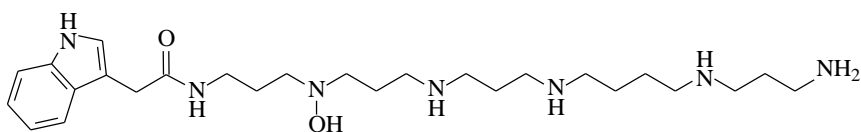


Рис. 10.2. Структурная формула  $\alpha$ -агатоксина 489 из яда *Agelenopsis aperta*

$\alpha$ -Агатоксины блокируют глутамат-активируемые рецепторные каналы у насекомых. Блокирование наступает только при условии, что канал открыт глутаматом.  $\alpha$ -Агатоксины вызывают быстрый и обратимый паралич насекомых.

$\mu$ -Агатоксины являются пептидами с амидированным С-концом, состоящими из 35–37 аминокислотных остатков и стабилизированными четырьмя дисульфидными связями (рис. 10.3).

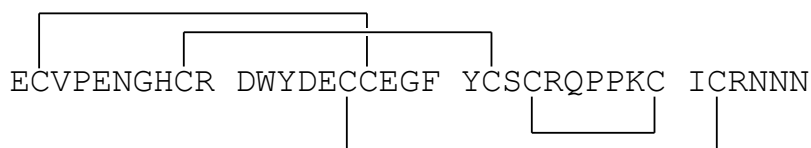


Рис. 10.3.  $\mu$ -Агатоксин-Aa1a

$\mu$ -Агатоксины – специфические модуляторы-активаторы потенциал-управляемых натриевых каналов в мембранах нейрональных клеток насекомых, но не влияют на другие организмы. Токсины снижают порог открытия натриевого канала, повышают вероятность нахождения канала в открытом состоянии и способствуют высвобождению нейромедиаторов. Подобно  $\beta$ -токсинам скорпионов,  $\mu$ -агатоксины I–VI вызывают сдвиг потенциала активации  $\text{Na}^+$ -каналов и, видимо, взаимодействуют с сайтом 4.

$\mu$ -Агатоксины вызывают медленное развитие паралича у насекомых. Поскольку  $\mu$ -агатоксины опосредованно приводят к активации глутаматных рецепторов вследствие стимулирования выброса нейромедиатора, совместное введение  $\alpha$ -агатоксина и  $\mu$ -агатоксина вызывает усиленный синергичный эффект и развитие быстрого необратимого блока нервно-мышечной передачи. Таким образом,  $\alpha$ - и  $\mu$ -агатоксины из яда паука *A. aperta* могут рассматриваться как «группа заговорщиков», вызывающая быстрый паралич.

$\omega$ -Агатоксины, в свою очередь, подразделяются на четыре семейства с различной специфичностью в отношении разных типов кальциевых каналов млекопитающих<sup>72</sup>, при этом обычной биологической мишенью их действия являются каналы насекомых. В целом  $\omega$ -агатоксины блокируют пресинаптические кальциевые каналы, что приводит к уменьшению входа кальция в терминали и снижению высвобождения нейромедиаторов в синаптическую щель. Суще-

<sup>72</sup> В настоящее время выделяют несколько типов кальциевых каналов (L, T, N, P, Q, R), обладающих разными свойствами (в том числе проводимость, длительность открытия) и имеющих разную тканевую локализацию.

*Каналы L-типа* (long-lasting large-capacitance, от англ. long-lasting – долгоживущий, large – большой; имеется в виду проводимость канала) медленно активируются при деполаризации клеточной мембраны и обуславливают медленный вход ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку и формирование медленного кальциевого потенциала, например в кардиомиоцитах.

*Каналы T-типа* – транзиторные (от англ. transient – скоротечный, кратковременный; имеется в виду время открытия канала), быстро инактивируются. Каналы T-типа называют низкопороговыми, т.к. они открываются при разности потенциалов  $-40$  мВ, тогда как каналы L-типа относят к высокопороговым – они открываются при  $-20$  мВ. Каналы T-типа играют важную роль в генерации сердечных сокращений; кроме того, они принимают участие в регуляции проводимости в предсердно-желудочковом узле.

*Каналы N-типа* (от англ. neuronal – имеется в виду преимущественное распределение каналов) обнаружены в нейронах. N-каналы активируются при переходе от очень отрицательных значений мембранного потенциала к сильной деполаризации и регулируют секрецию нейромедиаторов.

*Каналы P-типа*, выявленные первоначально в клетках Пуркинье мозжечка (отсюда и происходит их название), обнаружены в гранулярных клетках и в гигантских аксонах кальмара.

Каналы N-, P-, Q- и недавно описанного R-типов видимо регулируют секрецию нейромедиаторов.

ствует несколько подтипов, которые могут мешать друг другу и блокировать динамический процесс.

- $\omega$ -Агатоксины IA и IB – двухцепочечные (66 и 63 аминокислотных остатка,  $M_r \sim 7.5$  кДа), их цепи удерживаются дисульфидной связью. Это пептиды с неизвестным типом укладки (для представителей других семейств характерен мотив цистинового узла), блокаторы каналов L-типа.  $\omega$ -Агатоксины группы I ( $\omega$ -Aga-I) блокируют нервно-мышечную передачу у насекомых, но не влияют на связывание с синаптосомами  $\omega$ -конотоксина GVIA из яда моллюска конуса, блокирующего N-тип кальциевых каналов.  $\omega$ -Aga-I блокируют пресинаптические кальциевые каналы в мотонейронах и нейросекреторных клетках насекомых, но не влияют на птиц и млекопитающих (кроме сенсорных нейронов крыс).

- $\omega$ -Агатоксины IIA и IIB (90 и 95 аминокислотных остатков) действуют на каналы N-типа.  $\omega$ -Агатоксины группы II ( $\omega$ -Aga-II) блокируют нервно-мышечную передачу у насекомых и тормозят связывание с синаптосомами  $\omega$ -конотоксина GVIA.

- $\omega$ -Агатоксины IIIA–IIID (76 аминокислотных остатков), несмотря на гомологию с представителями семейства II, обладают широким спектром действия на L-, N-, P/Q- и R-типы каналов, исключение составили каналы T-типа. Порovým блокатором кальциевых каналов предположительно является  $\omega$ -агатоксин IIIA.  $\omega$ -Агатоксины группы III ( $\omega$ -Aga-III) тормозят связывание с синаптосомами  $\omega$ -конотоксина GVIA, но не влияют на нервно-мышечную передачу у насекомых.

- $\omega$ -Агатоксины IVA и IVB (48 аминокислотных остатков) являются высоко-специфичными блокаторами каналов P/Q-типа (рис. 10.4).

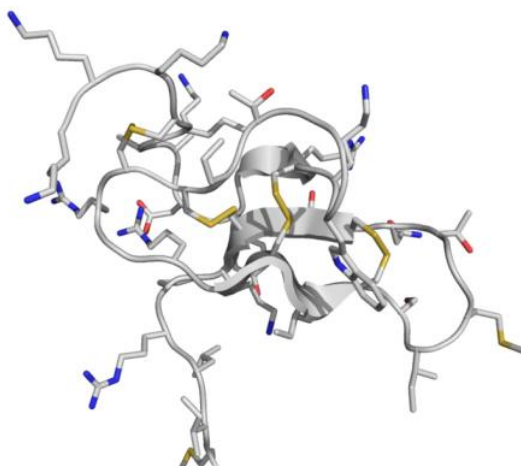


Рис. 10.4.  $\omega$ -Агатоксин IVA

В последнее время в яде паука *Agelena orientalis* обнаружено новое семейство гомологичных полипептидов ( $\beta/\delta$ -агатоксины-1–7). Эти вещества обладают уникальным потенциал-зависимым действием на  $\text{Na}^+$ -каналы насекомых с одновременным влиянием на процессы активации и инактивации каналов. Подобная активность описана впервые, что может привести к пересмотру современной классификации лигандов  $\text{Na}^+$ -каналов, основанной на строгом

соотношении места связывания молекулы в канале и вызываемым ею эффектом (Никольский, 2012).

### 10.1.2. Семейство Бурые пауки-отшельники (Sicariidae)

Бурые пауки-отшельники (Sicariidae) – семейство Аранеоморфных пауков из надсемейства Scytodoidea. Насчитывают около 125 видов, распространённых преимущественно в Новом Свете и Африке. Большая часть представителей семейства – около 100 видов – относится к роду *Loxosceles*. Из них около 85 видов распространены в Америке южнее Канады (включая Антильские острова), двенадцать известны из различных регионов Африки, два вида – *Loxosceles aphrasta* и *Loxosceles laeta* – описаны из Китая. *Loxosceles laeta* обладает разорванным ареалом, обитая в Америке, Австралии и Финляндии. Исходно средиземноморский вид *Loxosceles rufescens* в результате непреднамеренной интродукции в настоящее время спорадически встречается на всех материках, на Гавайях. Распространение *L. reclusa* – от юга среднего запада США до Мексиканского залива. Ареал лежит вдоль линии от юго-востока штата Небраска, через юг Айовы, Иллинойс, Индиана и до юго-запада Огайо. В южных штатах – от центрального Техаса до западной Джорджии и севера Виргинии. Вопреки распространённому слуху, коричневый паук-отшельник не встречается в штате Калифорния – в юго-западной части США и в Калифорнии водятся другие виды из рода *Loxosceles*.

Это небольшие пауки длиной 7–15 мм. Размах ног составляет 2–4 см, самки чуть крупнее. Тело бывает окрашено в коричневые, серые или тёмно-желтые тона. Спинная сторона головогруди обычно несёт тёмный рисунок, напоминающий скрипку (гриф направлен к заднему концу тела) (рис. 10.5). Наличие такого рисунка не уникально для данного вида, причём распространено не только среди близкородственных форм, но даже и среди представителей других семейств (например пауков-сенокосцев). В отличие от большинства пауков, имеющих восемь глаз, этот вид характеризуется наличием шести глаз, организованных в три пары: одну медиальную и две боковых.



Рис. 10.5. *Loxosceles reclusa*: А – общий вид, Б – головогрудь, видны три пары глаз и рисунок, напоминающий скрипку (Wikipedia Commons)

От других пауков с шестью глазами (семейства Scytodidae) их отличает отсутствие цветных узоров на брюшке и конечностях. Брюшко покрыто короткими волосками. Ноги несколько светлее в сочленениях. Днем коричневый паук-отшельник прячется под камнями и корягами, в расщелинах и норах мелких животных, а ночью охотится за другими пауками и насекомыми. В отличие от большинства пауков, коричневый паук-отшельник по ночам покидает свою паутину. Самцы проводят большую часть времени охотясь, в то время как самки предпочитают находиться ближе к своим сетям. Лапки у паука-отшельника широко расставлены, если он находится на плоской поверхности, однако, будучи встревоженным, принимает защитную позицию: втягивает внутрь передние лапки, поднимает педипальпы и вытягивает задние лапки для рывка. Коричневый паук-отшельник прекрасно себя чувствует в изменённой человеком окружающей среде. Плетёт беспорядочные сети в охапках дров, а также в сараях, гаражах, подвалах, чердаках, туалетах, плenum-полостях и в других местах, где есть дерево и полумрак. Пауки могут встретиться в пустых коробках, обуви, одежде, постельном белье, за картинами и за плинтусами – словом в тех местах, которые идентичны природному месту обитания паука-отшельника – древесной коре, норам, расщелинам и т.п. В помещениях с низкой температурой паук стремится к источникам тепла. Самостоятельно эти пауки на человека не нападают и наносят укусы лишь в целях самозащиты. Они могут прятаться в складках одежды, поэтому укусы часто происходят, когда человек одевается. Обычно страдают руки, шея и нижняя часть живота.

**Клиника отравления.** Большое внимание уделяют изучению *L. reclusa* в США, где в бассейне рек Миссисипи и Миссури они представляют серьезную опасность, известную как «локсосцелизм» – вызванный ядом системный синдром. Поражение ядом этих пауков называют также «некротическим арахноидизмом», что подчеркивает выраженность местных симптомов отравления в виде обширных некротических очагов. Сначала в месте укуса боли нет или отмечается легкое жжение. Через несколько часов возникают боль и зуд, в центре очага поражения развивается отек, а вокруг появляются зона ишемии и зона гиперемии. В большинстве случаев в течение 2–3 суток наступает самопроизвольное выздоровление. У остальных больных зона гиперемии расширяется, в центре очага возникают пузырь, кровоизлияние и некроз. Затем формируется черный струп, после отторжения которого остается язва. В диаметре она может достигать 2,5 см и более (рис. 10.6). После заживления, которое занимает 3–6 месяцев, остается вдавленный рубец. В случае некроза подкожной клетчатки заживление может растянуться на 3 года.

Осложнения включают местное повреждение нервов и вторичные инфекции. В первые 72 часа после укуса возможны лихорадка, озноб, слабость, головная боль, тошнота,



Рис. 10.6. Некроз ткани, вызванный укусом паука *Loxosceles* (Wikipedia Commons)

рвота, миалгия, артралгия, пятнисто-папулезная сыпь, лейкоцитоз, тромбоцитопения, внутрисосудистое свертывание крови. Изредка развиваются гемолитическая анемия, гемоглобинурия и почечная недостаточность, которые могут стать причиной смерти. Частота укусов *L. reclusa* в США довольно высока. Против яда *Loxosceles* создана сыворотка. Тем не менее некоторые авторы рекомендуют раннее удаление участка укуса, так как, несмотря на введение сыворотки и применение лекарственной терапии, очень трудно избежать развития некроза.

Рану промывают, накладывают стерильную повязку и холодный компресс. Пораженную конечность иммобилизируют и придают ей возвышенное положение. При необходимости назначают анальгетики, H<sub>1</sub>-блокаторы (антигистаминные препараты), антибиотики, проводят профилактику столбняка. Антибактериальный препарат дапсон, назначаемый в первые 48–72 ч после укуса, останавливает рост очага поражения, ослабляя миграцию и эффекты нейтрофилов. Эффективность глюкокортикоидов для местного и системного применения не доказана. Хирургическую обработку раны проводят только после разрешения воспаления. Впоследствии может потребоваться кожная пластика.

**Химический состав и механизм действия.** Цельный яд паука *Loxosceles* представляет собой смесь токсинов, обогащенных низкомолекулярными пептидами с  $M_r$  5–40 кДа. В яде присутствуют щелочная фосфатаза, гиалуронидаза, металлопротеазы (астацин-подобные протеазы), низкомолекулярные инсектотоксины и фосфолипазы D (дермонекротический токсин), которые из-за активности в отношении сфингомиелина называют также сфингомиелиназами D, ответственными за развитие феномена Артюса<sup>73</sup>.

В настоящее время установлено строение целого ряда дермонекротоксинов, а для одного из них из яда *Loxosceles laeta* получена кристаллическая структура (рис. 10.7). С помощью протеомных исследований в ядах нескольких видов *Loxosceles* обнаружены около десятка различных изоформ сфингомиелиназы D и получены рекомбинантные дермотоксины (рис. 10.8). Следует подчеркнуть, что сфингомиелиназы D не встречаются в животном мире, но обнаружены у некоторых бактерий, что позволяет считать возможной гипотезу о древнем горизонтальном переносе генов.

Целый яд приводят к кратковременному, но очень сильному увеличению амплитуды и частоты импульсов в брюшной нервной цепочке таракана *Periplaneta americana*, которое уже через несколько минут сменяется полным отсутствием активности (рис. 10.9A). Однако этот эффект обратим, и после отмывания препарата спонтанная активность восстанавливается. Присутствие инсектотоксинов объясняет активность яда *L. reclusa* по отношению к насекомым, причем следует учитывать, что в целом яде эти инсектотоксины действуют синергично. Количество яда, которое выделяет при электростимуляции одна самка *L. reclusa* (70 мкл), достаточно, чтобы убить (DL<sub>50</sub>) 13360 домашних мух. Следует отметить, что из яда *L. intermedia* получены инсектотоксины LiTx×1, LiTx×2 и LiTx×3, активные

---

<sup>73</sup> Артюса феномен (описан французским врачом-иммунологом N.M. Arthus, 1862–1945) – местная аллергическая реакция с воспалением и некрозом ткани при повторном подкожном или внутримышечном введении антигена (в частности лекарственных средств и сывороток). Развивается в результате формирования иммунных комплексов в месте поступления антигена. Проявления: гиперемия кожи, инфильтрат, зуд, жжение в месте инъекции. Необходима отмена применявшегося препарата. В более широком смысле термин используют как синоним иммунокомплексного типа аллергических реакций, лежащего в основе развития сывороточной болезни, экзогенных аллергических альвеолитов и др.



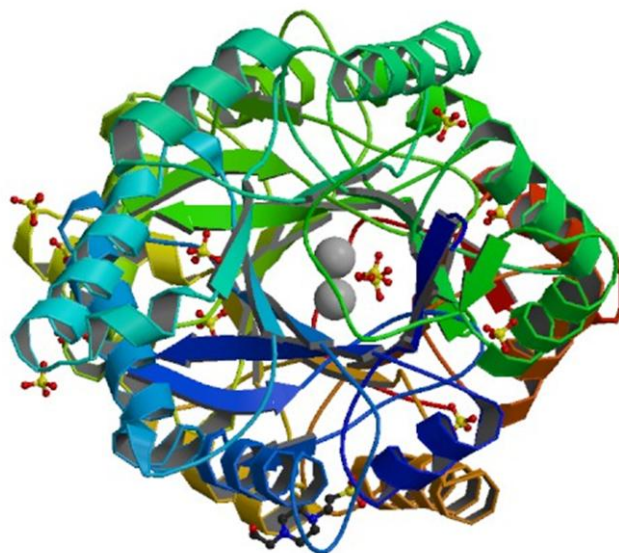


Рис. 10.7. 3D-структура сфингомиелиназы D из яда паука *Loxosceles laeta* (Murakami et al., 2005)

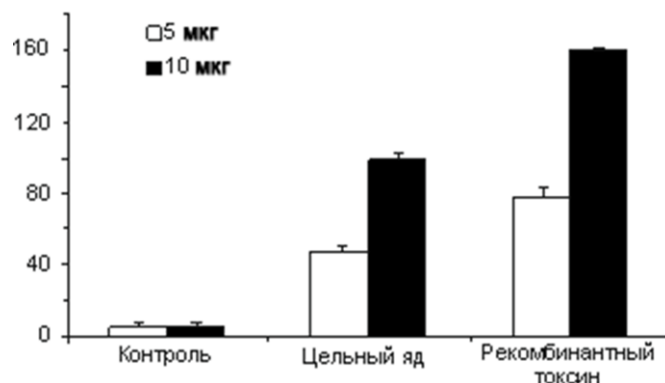


Рис. 10.8. Сравнение сфингомиелиназной активности цельного яда *Loxosceles intermedia* и рекомбинантного дермотоксина LiRecDT6 в различных дозах. В качестве контроля использовался рекомбинантный токсин без дермонекротической и воспалительной активности. По оси ординат – интенсивность флуоресценции (Appel et al., 2008)

против совки *Spodoptera frugiperda* – вредителя кукурузы в Бразилии. Эти инсектотоксины рассматриваются как перспективные биопестициды.

В свою очередь, ферменты, входящие в состав яда, также играют важную роль в его токсическом действии. У беспозвоночных яд *L. reclusa* вызывает лизис гемцитов, жировой и мышечной ткани. Сфингомиелиназа D яда является не только дерматонекротоксином, но и вызывает высвобождение из тромбоцитов серотонина, в результате чего происходит агрегация тромбоцитов (рис. 10.9Б).

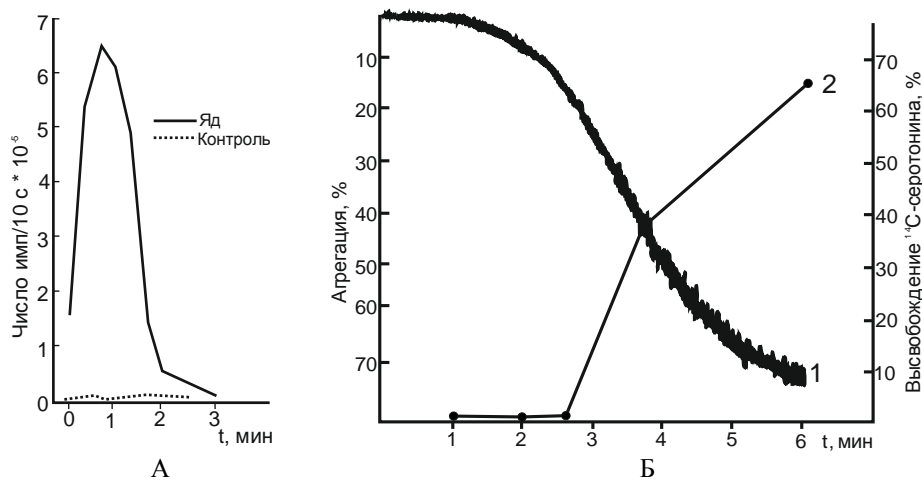


Рис. 10.9. Биологические эффекты яда паука *Loxosceles reclusa*: А – влияние яда (0.5 мкг/мл) на спонтанную активность вентральной нервной цепочки таракана *Periplaneta americana* (Foil et al., 1979), Б – агрегация тромбоцитов человека (1) и высвобождение из них <sup>14</sup>С-серотонина (2), вызванные токсином паука *Loxosceles reclusa* в дозе 200 мкг белка/мл (Kurpievsky et al., 1981)

Таким образом, сфингомиелиназа D – один из важных патогенетических факторов яда, обуславливающий агрегацию тромбоцитов, развитие гемостаза, нарушение трофики тканей. Некроз, вызываемый ядом *L. reclusa*, возникает и в результате аутоиммунных реакций. Под действием цитолитических компонентов яда (ферментов) активируется система комплемента, обеспечивается хемотаксис нейтрофилов к очагу поражения. Выделение нейтрофилами лизосомальных ферментов – также важный фактор, обуславливающий повреждение тканей. В эксперименте показано, что отек и некроз, вызванные ядом, значительно уменьшаются при снижении числа полиморфоядерных лейкоцитов в крови под действием фармакологических агентов.

Несмотря на достигнутые успехи, до сих пор остаются невыясненными молекулярный механизм действия дермoneкротоксинов и основы их специфичности. Так, кролики и морские свинки обладают сходной с человеком чувствительностью к действию ядов *Loxosceles*, в то время как у мышей и крыс кожные язвы не образуются. Показано участие определенных компонентов плазмы крови и иммунной системы жертвы в развитии некроза.

Гемолитическое действие яда также является комплемент-зависимым процессом. Гемолитическая анемия, развивающаяся при отравлении ядом *Loxosceles*, может обуславливаться как прямым литическим, так и иммунопатологическим механизмом. Прямой лизис эритроцитов ядом связан с активностью сфингомиелиназы D, причем ее гемолитическое действие тем больше, чем выше соотношение сфингомиелин : лецитин в мембране эритроцитов. Поэтому, например, эритроциты барана более чувствительны к яду *Loxosceles*, чем эритроциты человека. Однако лизис эритроцитов человека резко усиливается в присутствии одногрупповой сыворотки крови. Предварительно нагретая до 56°C в течение 30 мин сыворотка (для инактивации комплемента) лизирующим действием уже не обладает. Гемолиз можно также предотвратить добавлением в ненагретую сыворотку

ингибиторов комплемента. Эти данные могут иметь терапевтическое значение. Заметим, что металлопротеазы яда, расщепляющие желатин, фибронектин, фибриноген и энтактин, играют роль фактора распространения яда и ответственны за его геморрагические эффекты.

Широкий спектр биологической активности яда *Loxosceles* дает основание использовать его компоненты для моделирования различных патологических состояний и процессов: гемостаза, воспаления, иммунных ответов, цитотоксических эффектов и др. (Senff-Ribeiro et al., 2008). Интересным открытием, расширяющим и без того широкую фармакологию сфингомиелиназы D, служит обнаружение явления активации  $K^+$ -каналов при действии фермента на клетки.

### 10.1.3. Семейство Пауки-тенетники (*Theridiidae*)

Семейство Пауки-тенетники – *Theridiidae* – насчитывает около 2300 современных вида, объединенных примерно в 100 родов, в том числе известных своей ядовитостью представителей рода *Latrodectus*, таких как каракурт, или чёрная вдова. По ископаемым останкам, известным начиная с юрского периода, описаны 187 видов. Небольшие и средних размеров пауки, обычно 2–10 мм, реже крупнее, размах ног – 5 см. Форма тела очень разнообразна, особенно у тропических видов. На лапках задних ног несколько изогнутых щетинок, служащих для забрасывания добычи клейкими нитями. Пауки этого семейства встречаются в самых разнообразных биотопах – в различных типах лесов, населяя все ярусы, от подстилки до крон деревьев, обитают в пустыне, агроландшафтах, пещерах, постройках человека. Для большинства теридид характерны ловчие сети двух видов. Неправильная сеть представляет собой систему перекрещивающихся нитей, часть из которых несет клейкий секрет. Такие сети характерны, в основном, для пауков рода *Theridion* и приспособлены для ловли мелких летающих и прыгающих насекомых (комаров, мух, цикадок). Упорядоченные сети (пауков родов *Diploena*, *Srteatoda* и др.), состоящие из горизонтального полога и отходящих от него клейких нитей, служат для ловли нелетающих членистоногих – муравьев, личинок прямокрылых, жуков, других пауков и т.д. Некоторые виды питаются исключительно муравьями. Сеть может служить и логовищем для паука, но иногда устраиваются специальные логовища, замаскированные песчинками, кусочками почвы и хвоинками. Копуляция происходит в сети самки. После спаривания самка нередко высасывает самца – сексуальный каннибализм. В отечественной литературе пауков *Latrodectus* обычно называют каракурт, в англоязычной – «черная вдова» (*black widow*), подчеркивая биологическую особенность самки, съедающей самца после копуляции. Самка охраняет коконы и держит их в логовище или на сети. Некоторое время молодь живет в гнезде. Самка первое время охраняет потомство и даже подкармливает, отрывая содержимое глотки. Некоторые виды устраивают небольшие тенета между листьями, стягивая края нескольких или одного листа паутиной. Здесь же помещается рыхлый яйцевой кокон, охраняемый самкой.

Род Пауки – черные вдовы – *Latrodectus* [= *Chasoca* Badcock, 1932] – распространённый во всём мире род пауков, состоящий из 32 видов. Главной характерной чертой чёрных вдов являются умеренно длинные, похожие на «гребень» ноги.

Пауки имеют ряд крепких, изогнутых щетинок на задних парах ног. Гребень задних ног используется для метания ловчей паутины на добычу. Окутывание происходит за считанные минуты, в связи с чем в паутинах вдов можно изредка встретить весьма крупную добычу, например даже ящерок, лягушек и ужей. Расцветка каждого вида различна, но у всех чёрные, блестящие конечности, включая головогрудь. У североамериканских вдов брюшко тоже целиком чёрное, за исключением чёрной вдовы, на теле которой можно обнаружить красное пятно в виде «песочных часов». Расцветка брюшек европейских видов варьирует от пятнистых у степных вдов и продолговатых бело-коричневых пятен у европейских вдов. На американских континентах обитают 13 видов, в Евразии – 8 видов, на африканском континенте – 8 видов, в Австралии и Океании – 3 вида и 1 вид (*Latrodectus geometricus*) – на всех континентах за исключением Евразии. Паук черная вдова (*Latrodectus mactans*) распространен на всей территории США, за исключением Аляски; особенно много этих пауков на юго-востоке. Паук этот блестящий, чёрный, с двумя красными отметинами в виде песочных часов на вентральной поверхности брюшка. В США также обитают паук *Latrodectus geometricus* (коричневая вдова), паук *Latrodectus bishopi* (красная вдова), паук *Latrodectus variolus* и паук *Latrodectus hesperus*. В других странах с умеренным и субтропическим климатом обитают иные виды *Latrodectus*, в частности паук каракурт (*Latrodectus tredecimguttatus*). Латинское название вида очень точно передаёт внешние морфологические признаки: тринадцать точек или пятен на верхней стороне брюшка (рис. 9.1А). Этимология слова не вполне ясна; слово состоит из двух тюркских корней: «кара» – чёрный и «курт», который в зависимости от характера первого согласного (к или q), можно перевести как червь, жучок или как волк. Каракурты встречаются в пустынной зоне Казахстана, в степях Астраханской области, Средней Азии, Иране, Афганистане, по берегам Средиземного моря и Енисея, в Северной Африке, Южной Европе, в Крыму, Причерноморье и Приазовье. Отмечены случаи укусов людей на юге Урала, приграничных с Казахстаном территориях (в г. Орске Оренбургской области), а также были нападения на Украине в г. Мариуполе. В последнее десятилетие случаи укусов каракурта стали также регистрироваться в Азербайджане. В последнее время увеличилась численность в Ростовской области, появились находки данного вида в Алтайском крае и Новосибирской области. В 2010 году каракурт был обнаружен в Волгоградской и Саратовской областях. В жаркие годы каракурт может мигрировать и в более северные районы, например в Подмосковье. И даже на гораздо более высоких широтах иногда он может встречаться, но жить там он может только до зимы. Идеальные условия местообитания – там, где жаркое лето и тёплая осень. Основные места обитания – полынная целина, пустоши, берега арыков, склоны оврагов. Врагами каракурта являются осы, наездники, ежи, их кладки вытаптываются отарами овец. От укусов каракурта сильно страдает скот, особенно чувствительны верблюды и лошади, которые обычно погибают. В годы массового размножения этого паука не раз происходил значительный падеж скота и животноводство терпело большие убытки. Теперь в местах размножения каракурта его уничтожают опрыскиванием почвы гексахлораном и другими ядами.

**Клиника отравления.** Латродектизм – системный синдром, вызванный нейротоксическими компонентами яда. Сам укус невиден, но место укуса чувствуется как укол булавки. На месте укуса через некоторое время проявляются две маленькие красные точки, легкая эритема и отёк. Спустя 30–60 минут после укуса паука появляются болезненные симптомы. Клиническая картина

отравления ядом каракурта складывается, в основном, из общетоксических симптомов, среди которых преобладают общий болевой синдром, нервно-мышечные расстройства и вегетативные сдвиги. Больные жалуются на сильные распространяющиеся боли в конечностях, области поясницы, живота и грудной клетки. Отмечается психомоторное возбуждение, сменяющееся в тяжелых случаях глубокой депрессией, затемнением сознания, бредом, выраженным страхом смерти, адинамией. Наблюдается общая слабость, распространенная эритематозная сыпь, зуд, птоз, отеки век и конечностей, затруднение дыхания, повышение температуры кожи в пораженной области. Весьма характерны симптомы тонического напряжения мышц брюшного пресса, что нередко служило основанием для хирургического вмешательства по поводу «острого живота». Многие авторы указывают на случаи бесполезной лапаротомии при отравлении ядом *Latrodectus*. Мариковский приводит высказывание Ходжеса: «Многие бесполезные операции могут быть предупреждены, если все врачи будут знать, что острая боль, ригидность живота, умеренная лихорадка, лейкоцитоз и случайные тошнота и рвота могут быть результатом укуса черной вдовы». К болевым ощущениям присоединяется выраженное мышечное напряжение, фасцикулярные подергивания мышц. В последнюю очередь вовлекаются мышцы лица: потное, искаженное гримасой боли и страха лицо с проявлениями блефароконъюнктивита и слезотечением носит название «латродектического лица» (*facies latrodectismica*).

При отравлении каракуртом характерны также симптомы возбуждения вегетативной нервной системы: мидриаз, потоотделение, повышение артериального давления, слюнотечение, бронхоспазм, приапизм, задержка мочеиспускания и дефекации. Вследствие остановки дыхания, геморрагического инсульта, сердечной недостаточности может наступить смерть (особенно у детей младшего возраста, пожилых и ослабленных больных). Боль начинает стихать в течение первых 12 ч, но может вновь усилиться в последующие дни и недели. Симптомы стихают в течение 1–3 суток, но остаточные судороги, парестезия, беспокойство и слабость могут сохраняться в течение нескольких недель и месяцев.

Смертность при отравлении ядом *Latrodectus* может достигать 2–4%.

При оказании первой помощи рану промывают, охлаждают место укуса пузырьком со льдом, проводят профилактику столбняка. При симптоматическом лечении вводят анальгетики, бензодиазепины, метокарбамол. Если АД не снижается, применяют гипотензивные средства. Хорошие результаты дает внутривенное введение 25%-ного раствора гидросульфата магнезии или 10%-ного раствора хлорида кальция. Миалгии и мышечные спазмы от укусов черной вдовы слабо реагируют на миорелаксанты и наркотические анальгетики. Медленное введение 2–3 мл 10%-ного раствора глюконата кальция внутривенно может быстро уменьшить боль, но при этом нужен постоянный кардиомониторинг. В качестве интенсивной детоксикационной терапии при интоксикации ядом каракурта рекомендуется методика непрямого электрохимического окисления крови (ЭХО) посредством внутривенной инфузии раствора гипохлорита натрия в адекватных концентрации и объеме, который оказывает выраженный детоксикационный эффект. К наиболее радикальным методам относится серотерапия. Во многих странах выпускаются лечебные сыворотки против яда *Latrodectus*.

Профилактика укусов каракурта – важная задача для медицины и ветеринарии. Перспективными в этом отношении являются биологические методы борьбы с увеличением численности пауков, например с помощью наездников, уничтожающих яйцекладки каракуртов. Из индивидуальных мер защиты человека рекомендуется применение в полевых условиях противомоскитного полога, предохраняющего ночью от заползания каракурта, а также прижигание места укуса головкой воспламеняющейся спички, что весьма эффективно, если сделано не позднее 3 мин после укуса. Следует помнить, что черная вдова плетет паутину среди камней и коряг, в темных углах сараев, амбаров, гаражей. Большинство укусов наблюдается летом и ранней осенью и происходит тогда, когда люди разрушают паутину или пытаются поймать паука. У любителей посидеть в укромном уголке на природе укусы нередко приходится на ягодицы и половые органы.

**Химический состав и механизм действия.** В табл. 10.1 приведены данные о токсичности яда паука черная вдова для беспозвоночных и позвоночных животных.

Таблица 10.1

Токсичность яда паука черная вдова

Вид животных	DL <sub>50</sub> , мкг/кг
Рак	62
Домашняя муха	99
Морская свинка	105
Мышь	220

У беспозвоночных животных яд *Latrodectus* вызывает паралич, у позвоночных – начальную стадию возбуждения с последующей атаксией, развитием клонических и тонических судорог, сменяющихся парезами, а также профузным слюно- и слезотечением. Тяжесть симптоматики прогрессивно нарастает вплоть до наступления коматозного состояния. Смерть животных чаще всего возникает в результате бронхоспазма и отека легких. У морских свинок бронхоспазм воспроизводится настолько легко, что предлагалось использовать ингаляции яда *Latrodectus* для получения экспериментальной модели астмы и бронхоспазма. Существует видовая чувствительность к яду каракурта. Весьма чувствительны грызуны, лошади, верблюды, крупный рогатый скот. Малочувствительны ежи, собаки, летучие мыши, амфибии и рептилии.

Экспериментальное изучение яда *Latrodectus* показало, что точкой приложения его действия являются пресинаптические нервные терминалы, из которых увеличивается высвобождение нейромедиаторов. Этот эффект наблюдается на препаратах тканей позвоночных и беспозвоночных животных и ведет к необратимому угнетению функциональной активности за счет истощения запасов медиатора. Двухфазный характер действия яда на рецептор растяжения рака хорошо иллюстрирует рис. 10.10А. Целый яд вызывает мощное высвобождение дофамина, ацетилхолина, норадреналина, ГАМК из различных тканей (рис. 10.10Б).

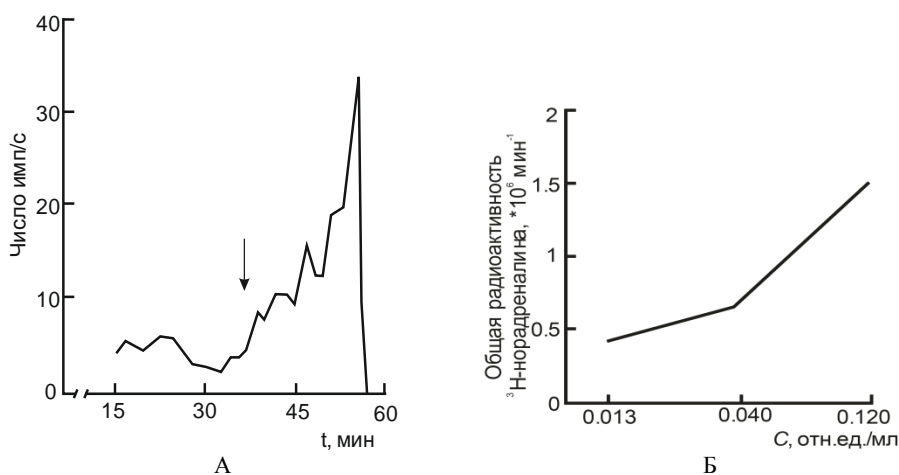


Рис. 10.10. Эффекты яда каракурта: А – влияние яда паука *Latrodectus mactans tredecimguttatus* (7 мкг/мл) на импульсную активность рецептора растяжения рака *Astacus astacus* (Grosso, Padjj, 1967); Б – влияние экстракта из ядовитых желез паука *Latrodectus antheratus* на высвобождение <sup>3</sup>Н-норадреналина из изолированной хвостовой артерии крысы (Pardal et al., 1979)

По современным представлениям в яде паука *Latrodectus mactans* содержатся высокомолекулярные нейротоксины ( $M_r > 100$  кДа), активные по отношению к позвоночным, насекомым и ракообразным. В настоящее время идентифицированы, по крайней мере, семь различных токсинов каракурта, служащих примером биомолекулярного разнообразия компонентов ядов пауков (табл. 10.2):

- токсин для позвоночных:  
α-латротоксин, α-LTX (P23631),
- пять токсинов для насекомых – латроинсектотоксины:  
α-LIT (Q02989),  
β-LIT, γ-LIT, δ-LIT (Q25338),  
ε-LIT,
- а также токсин для ракообразных:  
α-латрокрустотоксин, α-LCT (Q9XZC0).

Таблица 10.2

Характеристика латротоксинов  
(Василевский и др., 2009, с изменениями)

Характеристика токсина	Токсин						
	α-LTX	α-LIT	β-LIT	γ-LIT	δ-LIT	ε-LIT	α-LCT
Молекулярная масса, кДа	130	120	140	120	110	110	120
Токсичность, DL <sub>50</sub> , мкг/кг	20	15	25	250	60	1000	100
Тест-объект	Мыши	<i>Galleria mellonella</i>					<i>Procambarus cubensis</i>

Электрофизиологические исследования показали видоспецифическое стимулирование высвобождения нейромедиаторов из нервных окончаний. Так, латроинсектотоксины не оказывали видимого эффекта на позвоночных и ракообразных (табл. 10.3), тогда как латрокрустотоксин не влиял на насекомых и мышей. Эти результаты прямо коррелировали с данными по измерению связывания радиоактивно меченых  $\alpha$ -LTX и  $\alpha$ -LIT с препаратами нейрональных мембран позвоночных и насекомых.

Таблица 10.3

**Видоспецифическая токсичность  $\alpha$ -латроинсектотоксина (Василевский и др., 2009)**

Тест-объект	DL <sub>50</sub> , мкг/кг
<i>Galleria mellonella</i> (моль)	15
<i>Periplaneta americana</i> (таракан)	27
<i>Nauphoeta cinerea</i> (таракан)	45
<i>Grylodes supplicans</i> (сверчок)	35
<i>Musca domestica</i> (муха)	20 – DL <sub>100</sub>
<i>Procambarus cubensis</i> (рак)	7.5 мг/кг – нет эффекта
Мыши	12 мг/кг – нет эффекта
Лягушки	7.5 мг/кг – нет эффекта

Наиболее изучен  $\alpha$ -латротоксин ( $\alpha$ -LTX; P23631), эффективный по отношению к позвоночным животным. Методами электрофизиологии показано, что этот токсин, так же как и цельный яд, вызывает массивное высвобождение нейромедиаторов из нервных терминалов позвоночных животных, приводящее к блокаде передачи нервного импульса. Пресинаптическое действие  $\alpha$ -латротоксина выражается в начальном резком (в 600–1000 раз) увеличении частоты МПКП, которое сменяется через 30–50 мин полным блоком нервно-мышечной передачи. Действие токсина проявляется и в бескальциевой среде, но содержащей ионы магния. Заметим, что  $\alpha$ -LTX стимулировал экзоцитоз и вызывал секрецию всех известных типов нейромедиаторов.

Электронная микроскопия выявляет во время второй фазы действия токсина сильное набухание нервных терминалей и почти полное исчезновение синаптических везикул. Одной из причин этого может быть своеобразное перераспределение мембранных компонентов терминалей, вызываемое ядом. Считается, что яд приводит к дезорганизации цитоскелета, в результате которой сокращаются микрофиламенты аксолеммы и происходит сближение везикул с пресинаптической мембраной. В итоге наблюдается массивный выброс медиатора. Одновременно нарушается процесс рециклизации синаптических везикул.

Хотя высвобождение медиатора из пресинаптических терминалей под действием  $\alpha$ -латротоксина связано со входом внутрь волокна катионов, их транспорт, в частности кальция, осуществляется не через потенциал-зависимые Ca<sup>2+</sup>-каналы, поскольку специфические блокаторы этих каналов не препятствуют развитию действия яда. Это предположение подтверждается экспериментами на бислойных фосфолипидных мембранах, обработка которых ядом каракурта или  $\alpha$ -латротоксином приводит к образованию каналов проводимости для одно- и двухвалентных катионов, которые характеризуются селективностью и потенциал-зависимостью. Так, селективность каналов, образованных ядом каракурта, имеет следующий вид: K<sup>+</sup> > Ca<sup>2+</sup> > Sr<sup>2+</sup> > Mg<sup>2+</sup> > Na<sup>+</sup> > Cs<sup>+</sup> ≈ Li<sup>+</sup>.



Таким образом, одним из основных проявлений действия латротоксинов является образование в искусственных мембранах пор, проницаемых для катионов. Специфичное же действие токсинов на клеточные мембраны опосредовано специализированными рецепторами. На рис. 10.11 схематично представлены основные этапы действия латротоксина.

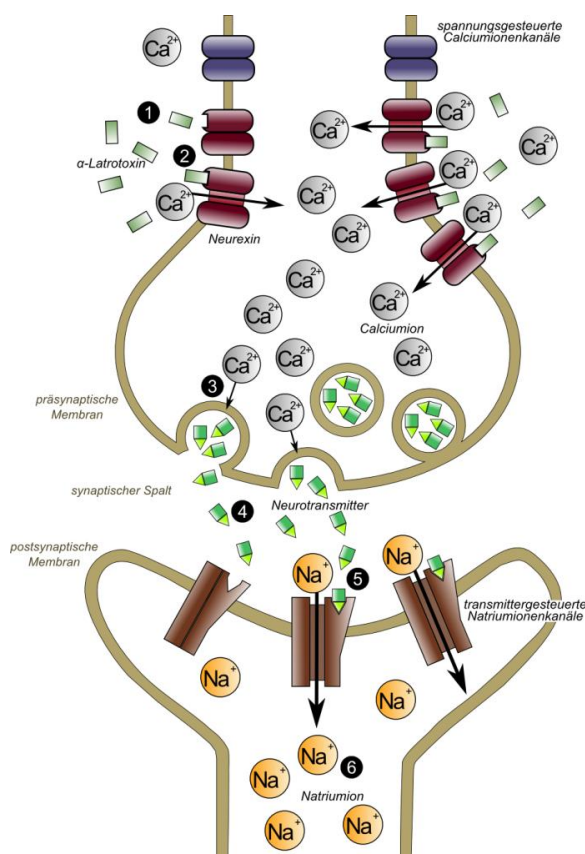


Рис. 10.11. Схематичное изображение этапов действия латротоксина (Wikipedia Commons)

Механизмы действия латротоксинов тесно связаны с особенностями их строения. В настоящее время известно строение четырех латротоксинов. Три из них ( $\alpha$ -LTX,  $\alpha$ -LIT и  $\alpha$ -LCT) состоят из  $\sim 1100$ – $1200$  аминокислотных остатков, а  $\delta$ -LIT – из  $\sim 1000$  аминокислотных остатков. Все латротоксины имеют высокий уровень гомологии. В высокоочищенных препаратах  $\alpha$ -LTX содержатся два компонента с  $M_r \sim 130$  и  $8$  кДа. Низкомолекулярный компонент – латродектин (LMWP; P49125) – состоит из 70 аминокислотных остатков, стабилизирован тремя дисульфидными связями. Латродектин не токсичен и не обладает порообразующей активностью в бислоиных липидных мембранах. Его функциональная роль, по-видимому, заключается в стабилизации структуры и, следовательно, потенцировании биологической активности  $\alpha$ -LTX. Применение криоэлектронной

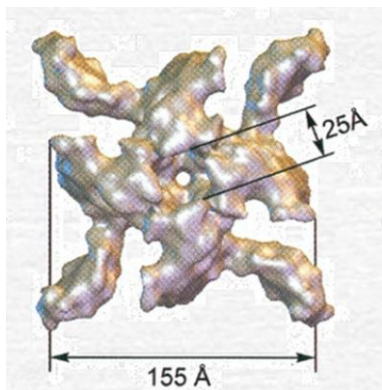


Рис. 10.12. Тетрамерное строение  $\alpha$ -латротоксина

тетрамеров латротоксинов обусловлен их встраиванием в пресинаптическую мембрану с образованием поры, обеспечивающей вход ионов кальция внутрь нервного окончания.

С помощью меченого  $\alpha$ -LTX в пресинаптических терминалях идентифицированы три рецептора/акцептора этого токсина: нейрексин Ia, латрофилин и тирозинфосфатаза  $\sigma$ . Нейрексин Ia является  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимым рецептором. В свою очередь, латрофилин – это  $\text{Ca}^{2+}$ -независимый нейрональный рецептор, относящийся к семейству белковых рецепторов, ассоциированных с G-белками (G protein-coupled receptors, GPCRs). Установлено, что для проявления порообразующей активности и, следовательно, токсического эффекта для  $\alpha$ -LTX достаточно наличия мембранного рецептора и не требуется взаимодействия с другими пресинаптическими белками. Связавшись с латрофилином или нейрексином Ia,  $\alpha$ -LTX встраивается в мембрану и формирует поры, проницаемые для  $\text{Ca}^{2+}$ , что обуславливает высвобождение нейромедиаторов из пресинаптических окончаний. Кроме того, связывание  $\alpha$ -LTX с GPCR-рецептором латрофилином приводит к активации внутриклеточного каскада и выходу ионов кальция из пресинаптических депо.

В настоящее время  $\alpha$ -LTX является одним из наиболее эффективных молекулярных инструментов исследования процессов экзоцитоза и нейросекреции биологически активных веществ.

Пауки стеатоды (род *Steatoda*), или иногда их называют ложными чёрными вдовами, внешне (размером и формой тела) напоминают чёрных вдов, так как они находятся в одном семействе. Укус стеатоды менее опасен, чем укус черной вдовы, хотя укусы некоторых видов имеют эпидемиологическое значение. Есть два вида стеатод в Европе (*Steatoda paykulliana* и *S. nobilis*) и один в Новой Зеландии и Южной Африке (*S. capensis*), укусы которых могут быть опасны для человека. Экспериментально показано, что под действием яда стеатод значительно увеличивается частота МПКП. Яд способствует высвобождению кальция в пресинаптических окончаниях, что влечет за собой увеличение секреции нейромедиаторов.

микроскопии позволило установить пространственную структуру  $\alpha$ -LTX. Токсин находится в форме тетрамера, причем симметричный тетрамер образуется только в присутствии ионов кальция или магния. В отсутствие этих катионов  $\alpha$ -LTX существует в виде стабильного несимметричного гомодимера. В структуре мономера выделяются три домена, а тетрамерная форма имеет в своем центре канал диаметром  $\sim 10 \text{ \AA}$  (рис. 10.12). По-видимому, тетрамер токсина встраивается в мембрану и образует ионную пору. Именно с тетрамерной формой  $\alpha$ -LTX связывают его способность стимулировать высвобождение нейромедиаторов. Предполагается, что  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимый эффект тетра-

#### 10.1.4. Семейство Пауки-кругопряды (Araneidae) и семейство Nephilidae

Ядовитых пауков этих двух семейств целесообразно рассмотреть вместе, поскольку биологической мишенью их яда являются глутаматные рецепторы.

**Пауки-кругопряды (Araneidae)** – семейство аранеоморфных пауков. Включают около 3000 видов, объединяемых в 170 родов. Третье по числу видов семейство пауков, уступающее лишь паукам-скакунам (лат. Salticidae) и паукам-линефидам (лат. Linyphiidae). Описаны около 70 ископаемых видов, наиболее древние остатки датируются меловым периодом. В России известны порядка 105 видов из 19 родов, а в азиатской части России – 90 видов из 19 родов. Среди пауков этого семейства наиболее изучены крестовик обыкновенный *Araneus diadematus*, виноградный паук *Mastophora gasteracanthoides*, *Argiopa* sp. и некоторые другие.

Яд *A. diadematus* токсичен для насекомых и паукообразных, смерть которых наступает тем быстрее, чем ближе вводится яд к головному ганглию. У позвоночных животных яд крестовика вызывает местную воспалительную реакцию, парезы мышц задних конечностей, затрудненное дыхание. У человека смертельных случаев не отмечено. Отравление сопровождается болью и чувством жжения в месте укуса, кровоизлияниями в подкожную клетчатку, иногда развиваются некрозы. Из общих симптомов характерны головные боли, боли в суставах. Еще в начале прошлого века (Вальбум, 1915) были сведения, что в яйцах крестовика содержится сильный токсин, вызывающий гипотонию у экспериментальных животных.

Рабочие виноградных плантаций в Южной Америке страдают от укусов *M. gasteracanthoides*, раскидывающих свои тенета на винограде. Укус сопровождается сильной болью, развивается геморрагический отек, приводящий к некрозу поверхностных тканей. В тяжелых случаях картина отравления осложняется вторичной инфекцией, занесенной в рану, что ведет к флегмоне или сепсису.

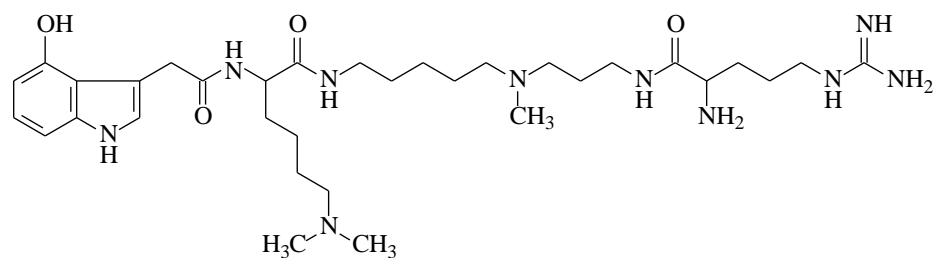
В конце 80-х годов прошлого века внимание исследователей привлек яд паука *Argiopa lobata*. Это паук средней величины, длина тела самок 1.2–1.5 см. Брюшко серебристо-белое с шестью глубокими выемками-дольками, цвет которых варьирует от темного до оранжевого (рис. 10.13). Ловчая сеть колесовидная, её центр густо заплетён нитями паутины. На территории бывшего СССР обитает в её европейской части, на Кавказе, в Средней Азии и Казахстане. Населяет, в основном, пустыни, полупустыни, степи. Также обитает в Северной Африке (Алжире). Было известно, что яд аргиопы парализует как беспозвоночных, так и позвоночных животных. Из яда аргиопы, как уже указывалось, выделено семейство ацилполиаминных токсинов – аргиопинов, аргиопининов и псевдоаргиопининов.

В электрофизиологических экспериментах на нервно-мышечном препарате беспозвоночных (личинки мясной мухи) и изолированном спинном мозге лягушки было установлено, что аргиопин в концентрациях  $\sim 10^{-8}$ – $10^{-6}$  М является блокатором глутаматергических синапсов, характеристика которых будет дана ниже. Блокирующее действие аргиопинов проявлялось и при аппликации на срезы гиппокампа крысы самого глутамата или агониста одного из типов глутаматных рецепторов – каиновой кислоты. Следует отметить, что все блокаторы, кроме псевдоаргиопинина III (укороченной формы псевдоаргиопининов) (рис. 10.14), обладают большой структурной гомологией, имеют в своем составе остаток аргинина,

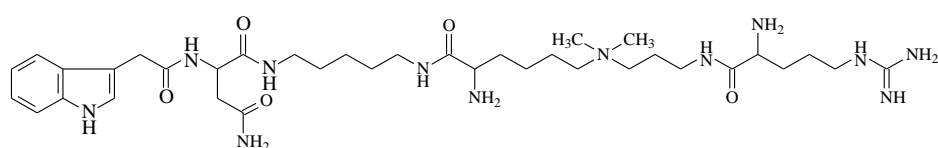


Рис. 10.13. Паук *Argiopa lobata* (Wikipedia Commons)

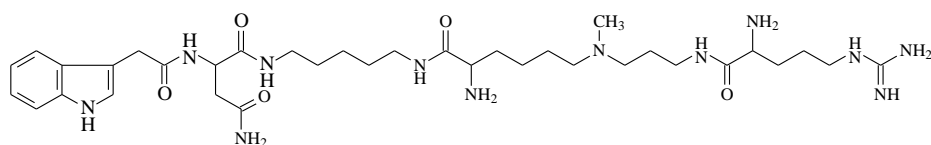
алифатические полиамины и хромофорные ароматические группировки, модифицированные аспарагином или лизином.



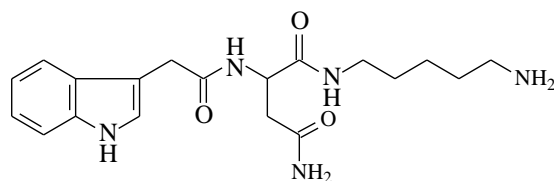
Аргиопинин V



Псевдоаргиопинин I



Псевдоаргиопинин II



Псевдоаргиопинин III

Рис. 10.14. Структурные формулы аргиопинина V и псевдоаргиопининов (Василевский и др., 2009)

**Семейство Nephilidae.** Блокаторы глутаматных рецепторов также выделены из ядов пауков рода *Nephila* (от греч. νήμα+φίλος, «любящий плести»), известных как самые большие плетущие паутины пауки (рис. 10.15). Известны около 30 видов этого рода. До 1990 года род *Nephila* входил в состав семейства Araneidae. В 2006 году был выделен в отдельное семейство Nephilidae. Размер тела (без ног) от 1 до 4 см, размах ног достигает 12 см. Характерен половой диморфизм: самцы в несколько раз мельче самок. Среди жертв, попавшихся в сети этих пауков в Австралии (Квинсленде), отмечены даже мелкие птицы. Размах ног гигантского ископаемого паука *Nephila jurassica* достигал 15 см. Рыбаки на побережьях Индийского и Тихого океанов собирают сети пауков *Nephila* и формируют из них шар, который бросают в воду, чтобы поймать рыбу. Эти пауки известны под разными названиями: банановые пауки (banana spiders), золотопряды (golden silk orb-weavers), гигантские древесные пауки (giant wood spiders) и т.д.



Рис. 10.15. Паук *Nephila clavipes* (Wikipedia Commons)

Яд пауков рода *Nephila* сильный, но не смертелен для людей. Укус причиняет местную боль, покраснение и появление волдырей, которые обычно исчезают в пределах 24-часового интервала. В редких случаях может вызвать аллергические реакции, а у астматиков и затруднения с дыханием. Поскольку пауки этого рода обладают относительно сильным хелицерами, укус может оставить небольшой шрам на тонкой коже (например на пальцах).

Из яда *Nephila pilipes* выделен нейротоксин NSTX-3, а из яда *N. clavata* – JSTX-3 (рис. 10.16).

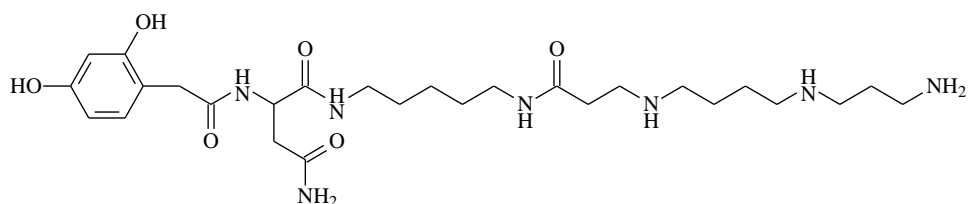


Рис. 10.6. Нейротоксин JSTX-3 из яда паука *Nephila clavata*

JSTX-3 является эффективным блоком ионотропных глутаматных рецепторов ЦНС позвоночных. Ионотропные глутаматные рецепторы регулируют проницаемость ионных каналов и классифицируются в зависимости от чувствительности к действию селективного агониста, в контексте рассматриваемого вопроса, на NMDA-рецепторы, взаимодействующие с N-метил-D-аспарататом (NMDA), и AMPA-рецепторы (или рецепторы к квинквалату), реагирующие на альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовую кислоту (AMPA).

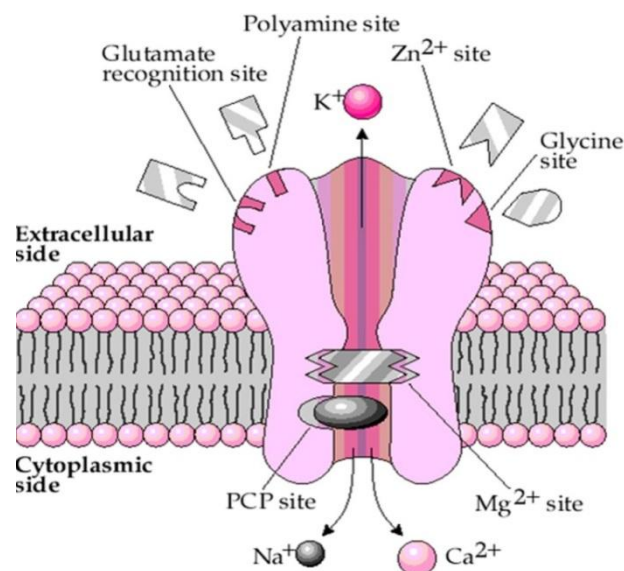


Рис. 10.17. Схема NMDA-рецептора (Wikipedia Commons)

Структуру глутаматного рецептора можно проиллюстрировать на примере NMDA-рецептора, представляющего собой гетеротетрамер двух субъединиц (рис. 10.17). В неактивированной форме канал рецептора закрыт ионом магния. Ион магния удаляется при деполяризации постсинаптической мембраны, на которой находится рецептор. Одновременно с этим, для функционирования рецептора должен поступить в синаптическую щель глутамат. Такая активация рецептора вызывает открытие ионного канала, неселективного к катионам, что ведет к притоку в клетку ионов  $\text{Na}^+$  и, в небольшом объеме, ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , а ионы  $\text{K}^+$  покидают клетку. Ионы кальция, вошедшие через канал, активируют протеинкиназу CaMK-II. Происходит ее аутофосфорилирование и фосфорилирование ряда белков нейрона-

реципиента. AMPA-рецепторы ( $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовая кислота), активность которых способствует вхождению ионов натрия в клетку, локализованы в коре и таламусе.

Показано, что при внутрижелудочковом введении в мозг мышам в больших дозах (более 12 нмоль/животное) JSTX-3 вызывал усиление двигательной активности. Но уже в меньшей дозе – 4.7 нмоль/животное, не вызывающей видимых эффектов, JSTX-3 специфически блокировал судорожное действие, квазиквалата, не влияя при этом на судороги, индуцированные NMDA или каинатом. Эти результаты показывают, что JSTX-3 можно рассматривать как специфический блокатор квазиквалат AMPA-рецепторов в ЦНС млекопитающих.

Однако в экспериментах на изолированных срезах гиппокампа CA1 крысы было установлено, что JSTX-3 блокирует эпилептиформную активность нейронов, вызванную инофоретическим введением NMDA. Таким образом, JSTX-3, возможно, обладает действием на оба типа глутаматных рецепторов (с разной селективностью), что делает его перспективным противосудорожным агентом с синергичным эффектом.

#### 10.1.5. Семейство Пауки-волки (*Lycosidae*)

Семейство *Lycosidae* насчитывает около 1200 видов во всех странах света, в том числе в Арктике. Тарантулы (*Lycosa*) – род крупных ядовитых аранеоморфных пауков, принадлежащих этому семейству. Тарантулы – обитатели засушливых районов (степей и пустынь), живут в углублениях, порой достигающих до одного метра. Днем тарантулов встретить практически невозможно, так как они являются сугубо ночными хищниками, питающимися преимущественно насекомыми: гусеницами, жуками, медведками, сверчками, тараканами, жуками и т.д. Ночью пауки выбираются на поверхность и активно перемещаются по земле, охотясь на насекомых. Тарантулы не плетут ловчих сетей и используют паутину только в качестве покрытия стен норки и при строительстве яйцевого кокона. Паук подстерегает жертву, сидя в своей норке или свободно перемещаясь по поверхности. Нападая, парализует или убивает ядом. Размножаются в конце лета (конец июля, августа). Найдя подходящую норку, самка откладывает яйца и оплетает их паутиной. Формирующийся в результате яйцевой кокон она до вылупления молоди носит на паутинных бородавках. Молодые особи после выхода из яиц некоторое время остаются на брюшке самки. В качестве примера приведем некоторые биоэкологические сведения о двух широко известных видах тарантулов: *Lycosa singoriensis* и *Lycosa tarantula* (рис. 10.18).

*Lycosa singoriensis* (южнорусский тарантул, или мизгирь). Размер паука: самки до 30 мм, самцы до 25 мм. Тело густо покрыто волосками. Окраска буро-рыжая сверху, почти чёрная снизу. Предпочитает сухой климат, в связи с чем обитает в пустынной, полупустынной, степной, иногда и лесостепной зонах. Распространён в Средней Азии, также обитает на территории России (Сибирь) и Украины. С 2008 г. обнаружен в Белоруссии, в поймах рек Припять, Сож, Днепр. Был замечен в больших количествах в Саратовской области, в особенности у побережья Волги, в Белгородской, Курской и Орловской областях. Роет вертикальные норы глубиной до 30–40 см, выстилает паутиной; при появлении около норы насекомого стремительно выскакивает из норы и ловит его. Как правило, сигналом к атаке тарантула служит тень от насекомого,





Рис. 10.18. Пауки *Lycosa singoriensis* (А) и *Lycosa tarantula* (Б) (Wikipedia Commons)

пробежавшая по входу в нору. Привязав пластилиновый шарик или пуговицу к нитке и покачивая им перед норкой, можно выманить тарантула наружу. Ночью паук становится более активным, выходит из убежища на небольшое расстояние и охотится за насекомыми. Обычная добыча взрослого тарантула – прямокрылые и разные жуки. Паук ловит и убивает насекомых, которые могут залезть случайно к нему в нору.

*Lycosa tarantula* (тарантул апулийский). Распространен в Южной Европе: Италии, Испании и Португалии. Самки достигают 27 мм в длину, самцы – 19 мм. Брюшко самок окрашено в рыжие тона с несколькими чёрными со светлой каймой поперечными и одной продольной полосами. Головогрудь тёмная со светлым кантом. Апулийские тарантулы роют глубокие (до 60 см) норы, преимущественно на склонах гор, и обрамляют вход в них валиком из сухих листьев. Днём пауки обычно находятся в норе, лишь по ночам отправляясь на поиски добычи (в основном насекомых). Как и многие другие пауки, они убивают жертву с помощью яда, растворяют её ткани с помощью гидролитических ферментов, после чего высасывают. Зимой апулийские тарантулы закрывают вход в норку сухими растениями, скрепляя их паутиной. Продолжительность жизни самок может достигать четырёх лет и более. Самцы живут два года и участвуют в размножении лишь однажды. Самка откладывает яйца в паутинный кокон и носит его на паутинных бородавках.

**Клиника отравления.** Ядовитость тарантулов известна издавна. В средние века виновником тарантизма – заболевания, характеризующегося судорогами и хореическими движениями, – считали тарантула апулийского *Lycosa tarantula*. Методы лечения того времени состояли в усиленных движениях больного до обильного потоотделения, во время которого, якобы, удалялся из организма яд. Больных заставляли быстро двигаться, а часто и танцевать под быструю ритмичную мелодию; так родилась тарантелла, одно из па которой напоминает движение человека, раздавливающего ногой паука. Единого мнения об эпидемиологической роли тарантулов да и пауков вообще в тарантизме нет. Укусы тарантулов отмечены и в наше время, однако симптоматика их несколько иная. Отравление их ядом характеризуется местной болью, отеком и гиперемией, иногда распространяющихся и на другие части тела. Очень тяжелые поражения кожи с развитием обширных очагов некроза описаны для южноамериканского тарантула *L. raptoria*.

Случаи смерти людей от укусов тарантулов в настоящее время практически неизвестны. Нередко в результате неопытности врачей отравления, вызванные укусом тарантула, ошибочно приписывают каракурту. Для дифференциальной диагностики симптомов отравления этими пауками полезна таблица, приводимая Мариковским (1956) (табл. 10.4).

Таблица 10.4

**Сравнительная симптоматика отравления при укусах тарантула и каракурта (Мариковский, 1956)**

<b>Укус тарантула</b>	<b>Укус каракурта</b>
В момент укуса ощущается значительная болезненность	В момент укуса ощущается слабая боль. Во сне нередко укус не замечается
Места проколов кожи коготками хелицер различимы невооруженным глазом и отстоят друг от друга на 3–15 мм	Места проколов кожи хелицерами неразличимы невооруженным глазом
В месте укуса развиваются два хорошо заметных пятнышка, соответствующие проколам хелицер	В месте укуса развивается маленькое пятнышко, иногда совершенно незаметное
В месте укуса заметно обширное покраснение и опухание тканей	В месте укуса опухоли нет
Боль в месте укуса продолжается почти в течение суток	Боль в месте укуса вскоре исчезает
Общих болей нет. Ощущение тяжести тела	Сильные боли во всем теле
Сонливое состояние, апатия	Резко выраженное двигательное и эмоциональное возбуждение, страх смерти

Ядовитость тарантулов имеет сезонные колебания, максимум токсичности их яда падает на период с мая по август. Тарантул прочно ассоциируется с ядовитыми пауками, однако это представление несколько преувеличено. Действительно, укус паука тарантула может вызвать некоторые болезненные симптомы, но смертельные исходы встречаются крайне редко и чаще всего связаны с сочетанием с другими внутренними патологиями. У человека укус паука тарантула вызывает боль и жжение на месте повреждения. Но разозленный паук может сбросить подобные игле волоски, которые попадают в качестве инородных тел в кожу или глаза и могут вызвать дегрануляцию тучных клеток и псевдоанафилактическую реакцию (например крапивницу, отек Квинке, бронхоспазм, артериальную гипотензию) у чувствительных людей, обычно владельцев пауков, которые контактируют с ними ежедневно. Развивается локальная отечность, вокруг раны может образоваться мелкая сыпь. Укус крупного тарантула сопровождается гипертермией, головной болью, парестезиями, общей слабостью. Летальный исход бывает крайне редко и связан с общей аллергической реакцией на токсины и анафилактическим шоком. Простой укус паука тарантула исчезает бесследно в течение 3–5 дней.

**Химический состав и механизм действия.** Яд тарантулов токсичен для беспозвоночных и позвоночных животных. У членистоногих яд вызывает паралич в результате нарушения синаптической передачи и деполяризации мембран. У млекопитающих на первый план выступают симптомы повышения сосудистой проницаемости, что ведет к развитию очагов геморрагии во внутренних органах и месте инокуляции яда. На нервно-мышечную передачу позвоночных животных яды тарантулов действуют с разной эффективностью, влияние на гладкую мускулатуру достаточно выражено. Сокращение гладкомышечных препаратов под действием яда *L. singoriensis* связано с усилением входящего потока ионов  $Ca^{2+}$ . Накопление сведений о химическом составе и фармакологических эффектах ядов разных видов тарантулов свидетельствует о достаточной межвидовой гетерогенности в характеристиках и свойствах ядов тарантулов.

$\alpha$ -Спиральные пептиды, содержащиеся в яде пауков-хищников, которые используют паралитический яд для обездвиживания или умерщвления своей жертвы, играют основную роль не только в захвате, но и в переваривании жертвы. В яде пауков имеются токсины, которые разрушают мембраны клеток и приводят к некрозу тканей. Так, в яде паука-волка (*Lycosa carolinensis*) найдены амфифильные  $\alpha$ -спиральные пептиды

ликотоксин I

IWLTLALKFLGKHAANKHLAKQQLSKL-NH<sub>2</sub>

и ликотоксин II

KIKWFKTMKSIAKFIAKEQMKKHLGGE-OH,

которые образуют поры в мембранах и приводят к лизису прокариотических и эукариотических клеток (в частности бактериальных, дрожжевых клеток и эритроцитов). Установлено, что они также индуцируют выход ионов  $Ca^{2+}$  из синапсом мозга крысы и снижают электрохимический потенциал на мышечных мембранах насекомых. Таким образом, эти белки выполняют множественные функции: участвуют в захвате жертвы, ее переваривании, в защите от инфицирования микроорганизмами. Ниже в качестве примеров приведены характеристики ядов некоторых видов тарантулов.

Яд паука *Lycosa singoriensis*, обитающего на северо-западе Китая в провинции Синьцзян, содержит 0.659 мг белка/ мг сырого яда, несколько отличающегося по своим фармакологическим свойствам от яда других тарантулов. Яд получали, провоцируя пауков кусать пластиковые тубы, в которые вводился яд, при этом исключалось загрязнение яда пищеварительными ферментами. Биохимический анализ яда позволил выделить три группы пептидов, распределенных по молекулярным диапазонам 2.0–2.5, 4.8–5.5 и 7.0–8.0 кДа. В дозе 200 мкг/мл яд паука не блокировал передачу в нервно-диафрагмальном препарате мыши и слабо (только через 20 мин) угнетал передачу в препарате сывявносящего протока крысы (рис. 10.19А). Однако при концентрации 100 мкг/мл яд вызвал положительный инотропный эффект на изолированном сердце жабы, что свидетельствует о наличии кардиотонических компонентов (рис. 10.19Б).

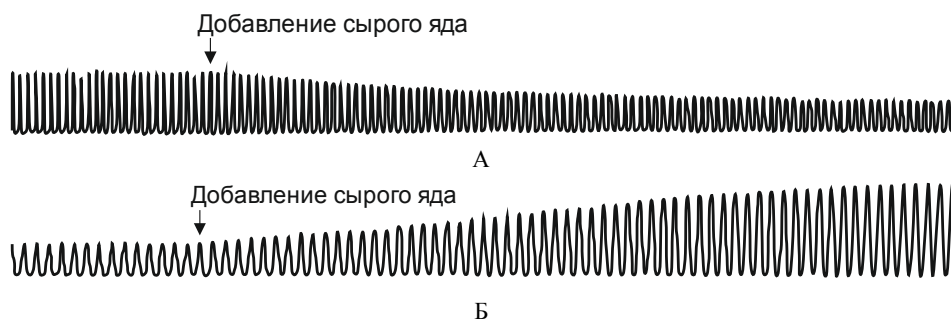


Рис. 10.19. Влияние яда *Lycosa singoriensis* на передачу возбуждения в нервно-мышечном препарате семьявыносящего протока мыши (А) и изолированном сердце жабы (Б) (Liu et al., 2008)

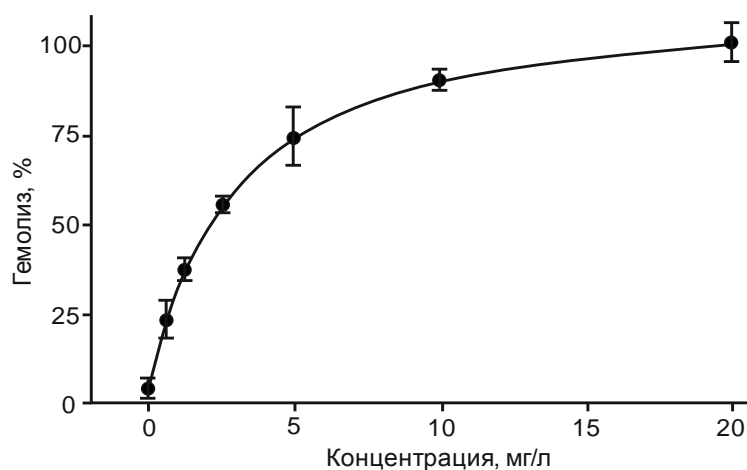


Рис. 10.20. Гемолитическое действие яда *Lycosa singoriensis* на эритроциты человека (Liu et al., 2008)

Следует отметить гемолитическую активность яда этого паука, вызывающего дозозависимый гемолиз эритроцитов человека с  $EC_{50}$  1.25 мг/мл (рис. 10.20) и наличие у него антимикробной активности против прокариотических и эукариотических клеток.

Из яда тарантула *Lycosa Gen.l. sp.1* выделен нейротоксин Lsp-I, представляющий собой одноцепочечный полипептид, содержащий 47 а.о., из которых 8 – остатки цистеина, что позволяет предположить наличие в молекуле токсина четырех дисульфидных связей.

Максимальная гомология (42% идентичных аминокислотных остатков) первичной структуры наблюдается между Lsp-1 и токсином Tx3-5, выделенным из яда бразильского паука *Phoneutria nigriventer*, являющимся ингибитором  $Ca^{2+}$ -каналов. Гомология между Lsp-1 и другими известными блокаторами  $Ca^{2+}$ -каналов еще меньше. Наибольшее сходство Lsp-1 с блокаторами  $Ca^{2+}$ -каналов наблюдается в расположении остатков цистеина. Поэтому сходное расположение остатков цистеина в токсине Lsp-1 и всех известных токсинах блокаторах ионных каналов позволяет сделать предположение об аналогичном

замыкании дисульфидных мостов и схожей пространственной организации токсина. Учитывая чрезвычайно низкую гомологию Lsp-1 с известными токсинами пауков, его нельзя отнести ни к одной из ранее описанных подгрупп токсинов пауков. Вследствие этого Lsp-1 является представителем новой структурной подгруппы блокаторов  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов. Электрофизиологические данные показывают, что полипептидный токсин Lsp-1 в концентрациях 7–10 нМ частично снижает амплитуду  $\text{Ca}^{2+}$ -тока Р-типа в центральных нейронах млекопитающих и вызывает неполное блокирование этих каналов. Несмотря на то, что механизм действия Lsp-1 пока до конца не ясен, предполагается, что он может оказаться перспективным молекулярным инструментом исследования структуры и функции  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов

Р-типа и сыграть важную роль в разработке новых лекарственных препаратов.

Яд бразильского паука *Lycosa erythrognatha* на изолированном нервно-мышечном препарате лягушки при концентрации 40 мкг белка/мл вызывал заметное увеличение длительности потенциалов действия и развитие длительной деполяризации. Эти эффекты частично устранялись отмыванием физиологическим раствором. Активное начало яда инактивировалось проназой или трипсином. Из яда выделен нейротоксический полипептид LucIV с  $M_r$  8 кДа, который подобен по своему действию другим известным ядам и токсинам, блокирующим натриевые каналы. Полагают, что LucIV, так же как цельный яд *Lycosa erythrognatha*, воздействует на процессы реполяризации потенциалов действия, возможно за счет ингибирования инактивации натриевых каналов. Кроме нейротоксинов, яд *Lycosa erythrognatha* содержит антибактериальный токсин LyeTxI, проявляющий активность против бактерий (*Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*) и грибов (*Candida krusei* и *Cryptococcus neoformans*). Токсин дозозависимым образом повреждает проницаемость L- $\alpha$ -фосфатидилхолин-липосом. Проницаемость липосом, содержащих холестерол, нарушалась в меньшей степени, что в сочетании со сравнительно низкой гемолитической активностью токсина дает основание предположить, что мишенью токсина являются мембраны бактериальных клеток, а не позвоночных. Токсин LyeTxI состоит из 19 аминокислотных остатков:



Методом ЯМР-спектроскопии получены трехмерные изображения молекулы LyeTxI (рис. 10.21).

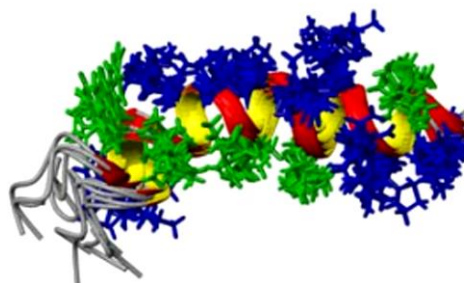


Рис. 10.21. ЯМР-структура антибактериального токсина LyeTxI из яда *Lycosa erythrognatha*. Гидрофобные аминокислотные остатки окрашены синим, гидрофильные и заряженные остатки – зеленым

В заключение краткого рассмотрения яда тарантулов следует упомянуть о патенте США (Anti-cancer bioactive peptide US 20100145012 A1), выданном на противораковые биоактивные пептиды, выделенные из яда синьцзянского (Китай) паука *Lycosa singoriensis*. При концентрации 40 мкмоль пептид из яда тарантула проявлял цитотоксическое действие против клеток линий Hela, HT1080, HNE1, CNE1 и JB6, при этом максимальная активность проявлялась в отношении линий HT1080 и Hela. Напомним, что линии клеток HT1080 и Hela являются моделями фибросаркомы и рака шейки матки.

#### 10.1.6. Семейство Пауки сумочные (Miturgidae<sup>74</sup>)

Семейство Пауки сумочные – Miturgidae – включает двадцать пять родов с 400 видами. Miturgidae – ночные пауки, они живут на земле и очень умело маскируются. Они имеют важное значение в контроле сельскохозяйственных насекомых-вредителей. Большинство пауков этого семейства прячут свои яйца в мешочках под камнем или другим мусором и охраняют их. В токсикологическом плане наиболее изучены желтые сумочные (мешочные) пауки рода *Cheiracanthium* C.L. Koch, 1839, который был переведен из сем. Clubionidae в сем. Miturgidae в 1997 году.

В России известны 15 видов рода *Cheiracanthium*, а в азиатской части России – по меньшей мере 11 видов. Ареал *Cheiracanthium* охватывает территорию всего Старого Света, некоторые виды пауков известны в Америке, Австралии и Японии. *Cheiracanthium* являются обитателями травостоя и кустарникового яруса. Все они – бродячие охотники, сетей не плетут. Гнездо паука имеет форму трубы. Паук может обитать под камнями или внутри жилых помещений. Желтые мешочные пауки обоего пола довольно невелики, размер тела паука колеблется от 5 до 10 мм. Паук имеет желто-бледный окрас, брюшко паука может иметь разный цвет от желтого до бежевого. Пауки в дневное время скрываются в сплетённых убежищах среди травостоя или кустарников, но могут встречаться и под камнями. Охотятся исключительно ночью. В охотничьем поведении главную роль играют тактильные стимулы. Пауки реагируют на добычу, если она касается их ног, и атакуют резким наскоком. В агроценозах *Cheiracanthium* питаются гусеницами, тлями, цикадками, клещами. В лабораторных условиях *Cheiracanthium inclusum* охотно поедает мух, кузнечиков, пауков, клопов, цикадок, молей и гусениц, но избегают атаковать муравьёв, некоторых жуков и паразитических ос. Некоторые виды пауков привлекает запах бензина. Довольно часто пауки могут проникать в топливную систему автомобилей и строить там свои гнезда.

**Клиника отравления.** Некоторые виды представляют опасность для человека, например *Cheiracanthium punctorium* (встречается в Европе, Южной Сибири), *Cheiracanthium japonicum* (Япония), причём, в отличие от каракурта, опасны не только самки, но и самцы. Довольно часто укус *Cheiracanthium* путают с укусом коричневого паука-отшельника. Укус паука вызывает сильную боль и способен привести к появлению некротической язвы (однако не столь выраженной, как при укусе паука-отшельника). Преимущественно паук нападает только с целью самозащиты. При укусе паука моментально возникает очень сильная жгучая боль в

---

<sup>74</sup> Рассматриваемые в этом разделе пауки родов *Cheiracanthium* и *Trachelas* ранее относились к сем. Clubionidae.

месте укуса, иррадирующая в соответствующий сегмент конечности. Через несколько минут развиваются лимфаденит и лимфангит. Позже на месте укуса возникает отёк, отмечаются нарушения подвижности, могут иметь место нарушения дыхания. Боль держится 10–20 часов, местные симптомы исчезают через 1–2 дня. В 2007 г. в Австрии было много случаев укусов людей *Cheiracanthium punctorium*. Только в одну центральную больницу города Линц с жалобами на укус паука обратились 190 человек, однако подтверждающие это симптомы были обнаружены лишь у 8.

**Химический состав и механизм действия.** Из яда *Cheiracanthium punctorium* выделен основной токсин CpTx1, представляющий собой новый класс двудоменных токсинов с модульной архитектурой, состоящих из двух ноттиновых доменов, каждый из которых соответствует «обычному» токсину. Токсин CpTx1 состоит из 134 аминокислотных остатков (рис. 10.22) и имеет  $M_r$  15.1 кДа. На изолированных нервно-мышечных препаратах мухи и лягушки токсин вызывает сильную и необратимую деполаризацию мышечных волокон, ведущую к контрактуре. Этот эффект не зависел от воздействия на рецепторный аппарат и тормозился двухвалентными катионами. Токсин вызывал лизис клеточных мембран, отчетливо визуализирующийся с помощью конфокальной микроскопии, и повреждал искусственные бислойные мембраны. Токсин CpTx1 обладает сильным инсектицидным (летальным и паралитическим) действием, цитотоксичностью и мембранотропностью. Кроме основного токсина CpTx1, из яда *Cheiracanthium punctorium* выделены другие аналогичные двудоменные токсины CpTx2-4, также обладающие инсектицидной активностью (табл. 10.5).

```

1           10           20           30           40           50
GKTCIERNKECTNDRHGCCRGKIFKDKCTCVKNGKTEKCVCTQKKWAKII
           60           70           80           90           100
ESYIGDIPALPKPVDDKCVPKHADCSKRKDDCCKGGIFKYQCKCYDMYDD
           110          120          130 134
DGEKTDLCGCVSPVENQAIEGALRIAKKLIIGDRW*

```

Рис. 10.22. Полная аминокислотная последовательность двудоменного токсина CpTx1 из яда *Cheiracanthium punctorium*. Первый домен соответствует последовательности 1-64, второй – 65-134 (Vassilevski et al., 2010)

Таблица 10.5

**Летальная и паралитическая активность двудоменных токсинов из яда *Cheiracanthium punctorium* на личинках мясной мухи *Sarcophaga carnaria* (Сачкова, 2014)**

Токсин	Летальная активность $DL_{50}$ , нмоль/г	Паралитическая активность $ED_{50}$ , нмоль/г
CpTx2	>3.3	2.2–3.3
CpTx3	2.2–3.3	1.7–2.2
CpTx4	2.2–3.3	1.7–2.2

Полагают, что двудоменные (или модульные) токсины дополнительно повышают разнообразие компонентов яда пауков за счет комбинации свойств «обычных» токсинов в одной молекуле. У двудоменных пептидов пространственная структура каждого из модулей относится к одному из типичных структурных классов токсинов. Так, известны молекулы, состоящие из двух линейных

(AMP+AMP) или ноттиновых доменов (ICK+ICK), а также из ноттинового и линейного доменов (ICK+AMP<sup>75</sup>). В некоторых случаях удается обнаружить гомологию между аминокислотными последовательностями отдельных доменов и известными однодоменными токсинами. Двудоменность позволяет реализовывать стратегию синергизма на молекулярном уровне. Так, двудоменные цитоинсектотоксины (CIT) из яда паука *Lachesana tarabaei* (семейство Zodariidae) сочетают в себе антимикробную активность, характерную для линейных пептидов, и необычно высокое инсектицидное действие. Полагают, что N-концевой модуль является ответственным за цитолитическую активность, а C-концевой играет роль «усилителя».

*Cheiracanthium japonicum* обитает в Японии. Имеет эпидемиологическое значение в сельскохозяйственных районах обычно в мае – августе. Укус сопровождается острой болью, локальной эритемой, отеками, головной болью, снижением аппетита, лихорадкой. При внутрибрюшинном введении очищенного яда мышам наблюдается нарушение дыхания, вялый паралич, кровоточивость, отеки, некрозы, смерть. Минимальная летальная доза очищенного яда для мышей составляла 10 мкг/20 г. Для домашней мухи средняя смертельная доза (DL<sub>50</sub>) составила 0.069 мкг/на муху. При внутривенном введении кроликам очищенный яд вызвал эритему в дозе 0.7 мкг. Молекулярная масса очищенного токсина составила 63 кДа. Белковая природа яда доказывается его полной инактивацией при нагревании до 60°C в течение 10 мин. Кроме того, хранение при 0°C от 5 до 7 суток также приводило к инактивации токсичной фракции.

На западе США и в Мексике отмечены случаи укусов пауков из рода *Trachelas* (*T. volutus*, *T. mexicanus*, *T. tranquillus*). Укус вызывает местную жгучую боль, гиперемию и отек, удерживающиеся 3–4 дня.

Весьма болезненные укусы вызывают также пауки рода *Clubiona* sp. (*Clubionidae*). Яд токсичен для членистоногих, особенно при введении вблизи нервных узлов. У человека укус *Clubiona* sp. кроме жгучей боли вызывает развитие отека, геморрагического пузыря, лимфаденита и лимфангита. При сильной интоксикации наблюдаются парезы, асфиксия, нарушение сердечной деятельности, иногда коллапс.

#### 10.1.7. Семейство Пауки-эрезиды (*Eresidae*)

Пауки-эрезиды (*Eresidae*) – семейство аранеоморфных пауков из надсемейства *Eresoidea*. Насчитывают около 90 видов, объединяемых в 9 родов. Распространены по всему Старому Свету, наибольшее разнообразие представлено в Африке; один вид известен из Бразилии. Предпочитают солнечные сухие места.

*Eresus kollari* ведёт норный образ жизни, заселяя норы жуков, трещины и пустоты под камнями (рис. 10.23). Покидают укрытие только молодые особи на стадии расселения. Самец в длину до 11 мм, самка до 20 мм. Самка полностью черная, спереди может иметь желтые элементы. У самца черное тельце, а брюшко – главная отличительная деталь – красное или оранжевое с четырьмя или шестью черными точками. Рацион представлен преимущественно насекомыми, также

---

<sup>75</sup> Двудоменные токсины пауков, состоящие из линейного и ноттинового доменов – спайдерины, впервые обнаружены в яде *Oxyopes takobius* и *Oxyopes lineatus* (семейство *Oxyopidae*).





Рис. 10.23. *Eresus kollari* (ранее *Eresus niger* или *Eresus cinnaberinus*) (Wikipedia Commons)

охотятся на многоножек, сольпуг, скорпионов, пауков, мокриц, молодых ящериц. Остатки пищи выбрасывают из норки, либо помещают в специальный отнорок. В неволе способны переносить длительное голодание: половозрелые самцы в среднем около 150 дней, самки – около 185 дней. В природе общая продолжительность жизни самок – 1.5 года, самцов – около 8.5 месяцев; половозрелые стадии живут порядка 100 и 50 дней соответственно. В лабораторных условиях половозрелые самки способны жить до 2.5 лет и более. Достигшие половой зрелости самцы покидают норки и отправляются на поиски самки. Во время ухаживания, которое в некоторых случаях длится несколько часов, самец совершает своеобразный танец и выделяет белковую жидкость, вызывающую у самки каталептическое состояние, после чего с помощью педипальп переносит семенную жидкость в её половые отверстия. Если во время ухаживания поблизости оказывается несколько самцов, между ними завязывается схватка. После осеменения самец до двух месяцев живёт в норке самки. В ходе постэмбрионального развития самцы и самки проходят, соответственно, 7 и 11 нимфальных стадий. До первой линьки нимфы развиваются внутри кокона. После выхода наружу они несколько дней проводят, прикрепившись к спинной стороне брюшка самки и питаясь её гемолимфой. Расселение происходит после третьей линьки, причём потомство редко уходит от норки материнской особи больше чем на 5–10 м.

При укусе пауки *Eresus* глубоко запускают крючки хелицер в кожу, впуская в ранки крупные капли яда. В месте укуса чувствуется резкая мгновенная боль, быстро сменяющаяся чувством онемения в укушенных пальцах. Затруднения в движениях и боль при надавливании в области укуса наблюдаются в течение 2–6 дней.

Экспериментальное изучение действия яда *E. niger* на ганглии брюшной нервной цепочки таракана выявило его деполяризующее действие, сопровождающееся развитием блока синаптической передачи. Нарушение синаптической передачи может быть связано с истощением запасов медиатора в нервных терминалах.

Фосфолипаза А, выделенная из яда *Eresus niger*, представляет собой одиночную полипептидную цепь с  $M_r$  13 кДа и обладает антикоагулянтной активностью.

### 10.1.8. Семейство Пауки блуждающие (Stenidae)

Наиболее изученными представителями сем. Stenidae (бегунов) являются пауки рода *Phoneutria*. Тривиальное название – (бразильские) пауки-солдаты. В 2010 году род был признан как содержащий самых ядовитых представителей семейства, хотя имеет довольно ограниченное распространение. Природный их ареал охватывает тропическую часть Южной и Центральной Америки.

По состоянию на начало 2012 года этот род содержит восемь видов:

- 1) *Phoneutria bahiensis* Simó & Brescovit, 2001 (тропический лес атлантического побережья Бразилии).
- 2) *Phoneutria boliviensis* F.O. Pickard-Cambridge, 1897 (Центральная и Южная Америка).
- 3) *Phoneutria eickstedtae* Martins & Bertani, 2007 (Бразилия).
- 4) *Phoneutria fera* Perty, 1833 (Эквадор, Перу, Бразилия, Суринам, Гайана).
- 5) *Phoneutria keyserlingi* F.O. Pickard-Cambridge, 1897 (тропический лес атлантического побережья Бразилии).
- 6) *Phoneutria nigriventer* Keyserling, 1891 (Бразилия, Северная Аргентина, индусирован в Уругвае).
- 7) *Phoneutria pertyi* F.O. Pickard-Cambridge, 1897 (тропический лес атлантического побережья Бразилии).
- 8) *Phoneutria reidiyi* F.O. Pickard-Cambridge, 1897 (Венесуэла, Перу, Бразилия, Гайана).

Бразильский странствующий паук (*Phoneutria nigriventer*) считается одним из наиболее опасных пауков в мире (рис. 10.24). Он живет в Южной Америке. Паук не создает сети и никогда не останавливается на одном месте, всегда передвигаясь (странствуя) в поисках пищи, из-за чего и получил свое название. В длину достигает около 10 сантиметров. В основном питается насекомыми, небольшими пауками, но иногда и более крупными объектами (птицами или даже ящерицами). Паук предпочитает прятаться в корзинки с фруктами, особенно среди бананов, и поэтому он получил прозвище «банановый паук», хотя этому тривиальному названию отвечают и другие виды пауков.

**Клиническая картина.** В Бразилии эпидемиологическое значение имеют четыре вида пауков рода *Phoneutria*: *P. fera* и *P. reidiyi* в бассейне р. Амазонки и *P. keyserlingi* и *P. nigriventer* в других регионах. В период с 1990 по 1993 гг. из 11392 случаев укусов пауков на долю *Phoneutria* sp. приходилось 42.2%.

Чаще всего укусы *Phoneutria* sp. наблюдаются в период с марта по апрель.

Около половины всех случаев контакта с пауками наблюдается в домах. В течение светового дня были укушены 76.5% пострадавших, при этом укусы приходились в основном на конечности (40.9% – ноги и 34.3% – руки). Основные симптомы отравления включали местную боль (92.1%), отек (33.1%) и были классифицированы как слабое (89.9%), умеренное (8.5%) и тяжелое (0.5%) отравление. Наиболее тяжело протекает отравление детей. У них может развиваться отек легких и известен случай, когда трехлетняя девочка умерла через 9 часов после укуса.



Рис. 10.24. Бразильский странствующий паук *Phoneutria nigriventer* (Wikipedia Commons)

У девятимесячного мальчика наблюдался приапизм<sup>76</sup>. Серотерапия без побочных эффектов применялась в 2.3% случаев.

**Химический состав и механизмы действия.** Сравнение ядопродуктивности самцов и самок паука *Phoneutria nigriventer* показало, что одинаковые по размеру самцы и самки не намного отличались по ядопродуктивности: самцы – 386 мкг и самки – 296 мкг, тогда как ядопродуктивность взрослых самок была значительно выше – 1079 мкг. Токсичность ( $DL_{50}$ ) яда самок для мышей составила 0.63 мкг/кг, тогда как у самцов этот показатель был равен 1.57 мкг/кг. В низких дозах (2–3 мкг/термит) яд самок был неэффективен, но в более высоких дозах яд самок и самцов вызывал у термитов паралич и смерть.

Яд паука *Phoneutria nigriventer* богат токсинами, воздействующими на ионные каналы и нервно-мышечную передачу. Потенциал-управляемые натриевые, кальциевые и калиевые каналы являются мишенями токсинов яда этого паука. Кроме этого, токсины яда *Phoneutria nigriventer* воздействуют на глутаматергическую передачу. Воздействуя на ионные каналы, токсины вызывают деполяризацию мышечных волокон и нервных окончаний в нервно-мышечных синапсах и вегетативной нервной системе, приводя в итоге к высвобождению нейромедиаторов, таких как ацетилхолин и катехоламины. Пептиды, присутствующие в яде, вызывают вазоконстрикцию, увеличение сосудистой проницаемости, активацию си-

---

<sup>76</sup> Постоянные и аномальные эрекции, часто болезненные, осуществляемые только наполнением кавернозных тел полового члена и не сопровождаемые обычным сексуальным желанием.

стемы тканевого калликреина и стимулируют выброс оксида азота (NO). Кроме того, яд вызывает сильную боль и воспаление, активируя рецепторы серотонина, а также высвобождение нейропептидов (вещества P), являющихся триггерами воспаления и острой боли. Эти факты проливают свет на патогенез местных и системных симптомов отравления, включая приапизм, что может привести к импотенции. Кроме того, наблюдаются тахикардия, рвота, диарея, онемение, отек и анафилактический шок. Из яда *Phoneutria nigriventer* выделено и очищено около двух десятков индивидуальных токсинов, для которых установлена первичная структура.

**Фракция PnTx1.** Первая фракция яда, названная PnTx1, при интравентрикулярном введении мышам вызывает нейротоксические симптомы, такие как возбуждение приводящих мышц хвоста, спонотечение и спастические параличи. Эти эффекты связаны с обратимым ингибированием натриевых токов через каналы Nav1.2, Nav1.7, Nav1.4 and Nav1.3. Кинетика ингибирования пика натриевого тока зависит от мембранного потенциала, и сродство PnTx1 к каналу увеличивается при деполяризации мембраны.

Полученный из этой фракции токсин Tx1 (рис. 10.25) ингибирует нейрональные натриевые каналы, проявляя большую аффинность при деполяризации мембранного потенциала. Токсин вызывает симптомы возбуждения с последующим спастическим параличом у мышей. При внутрижелудочковом введении мышам DL<sub>50</sub> составляет 0.05 мкг/кг.

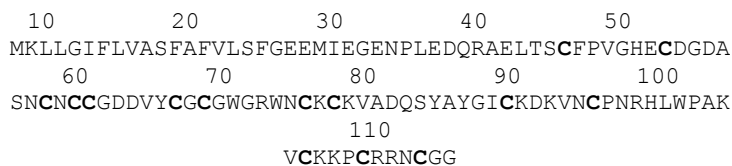


Рис. 10.25. Первичная структура токсина Tx1 из яда *Phoneutria nigriventer*

**Фракция PnTx2.** Токсины Tx2-5 и Tx2-6 (рис. 10.26) из яда паука *Phoneutria nigriventer* вызывают экспериментальный приапизм. Известно, что приапизм является одним из симптомов, наблюдаемых при укусах паука *Phoneutria nigriventer*. Потенциальные осложнения включают ишемию, свертывание крови в пенисе (тромбоз) и повреждение кровеносных сосудов полового члена, что может привести к нарушениями эректильной функции и импотенции. В серьезных случаях ишемия может привести к гангрене, которая может потребовать удаления полового члена.

Установлено, что при внутрибрюшинном введении в дозе 0.85 мг/кг у мышей приапизм является первым симптомом, затем наблюдается пилоэрекция, саливация и тремор. Снижение дозы до 0.3 мг/кг вызывало только приапизм без побочных эффектов. Гистологическое изучение показало патологическое кровенаполнение во всех изученных органах, однако некроза или иных нарушений в тканях пениса обнаружено не было. В легких и сердце наблюдались очаги геморрагии. Физиологические эрекции полового члена реализуются с участием оксида азота (NO). Установлено, что предварительное введение селективного ингибитора – нейрональной NO-синтазы (n-NOS), 7-нитроиндозола (7-NI) – предотвращало симптомы интоксикации токсинами, включая приапизм и летальный отек легкого.

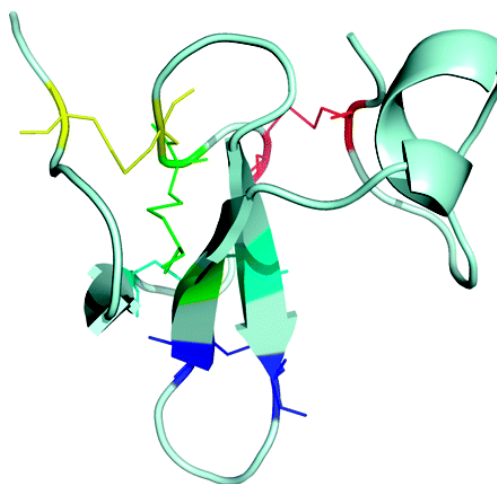


Рис. 10.26. Молекулярное моделирование токсина PnTx2-6 из яда паука *Phoneutria nigriventer*. Это богатый цистеином пептидный токсин, содержащий восемь остатков цистеина, образованные ими дисульфидные мостики выделены разными цветами (Wikipedia Commons)

**Фракция PhTx3.** Фракция PhTx3, блокируя кальциевые каналы, нарушает высвобождение глутамата, а также поглощение кальция и глутамата в синапсосомах. В смертельной концентрации фракция PhTx3 вызывает у грызунов вялый паралич, который может быть следствием торможения высвобождения нейромедиаторов, и смерти от асфиксии.

Из этой фракции были получены шесть токсинов (Tx3-1–Tx3-6), по крайней мере три из них (Tx3-3, Tx3-4 и Tx3-6) блокировали вход кальция в нервных окончаниях, вызванный деполяризацией KCl, что указывало на блокирование потенциал-управляемых кальциевых каналов N- и P/Q-типов и, следовательно, эти токсины относятся к типу  $\omega$ -токсинов. Еще один токсин, Tx3-2, может частично блокировать кальциевые каналы L-типа в культуре клеток опухоли гипофиза крысы GH3. Токсин Tx3-1 взаимодействует с  $Ca^{2+}$ -активируемыми  $K^+$ -каналами. Показано, что Tx3-3 обладает антиноцицептивным действием на моделях невропатической боли, не вызывая побочных эффектов в терапевтических дозах. Токсин Tx3-3 является блокатором P/Q- и R-типов кальциевых каналов, участвующих в ноцицептивных эффектах.

## 10.2. ЯД ПАРАЗИТИФОРМНЫХ КЛЕЩЕЙ (Parasitiformes)

Клещи больше известны как переносчики самых различных заболеваний человека и позвоночных животных, в том числе клещевого энцефалита, болезни Лайма и других, что связано с питанием кровью нередко большого круга хозяев. Менее известны клещи как ядовитые животные. Тем не менее, слюна некоторых из них, вводимая в ранку в момент присасывания к хозяину и обеспечивающая анестезирующий эффект, содержит ядовитые вещества.

К ядовитым относят несколько видов рода *Ixodes* (Ixodidae), в частности чрезвычайно широко распространенный собачий клещ *I. ricinus*, а также *I. holocyclus*. Собачий клещ распространен в европейской части СССР, в Западной Европе, Крыму, на Кавказе и в Северной Африке. Обычные места обитания иксодид – лиственные и смешанные леса, кустарники, пастбища. Если личинки и нимфы



Рис. 10.27. Собачий клещ *Ixodes ricinus* (Wikipedia Commons)

паразитируют на мелких млекопитающих, птицах, ящерицах, то взрослые клещи – на скоте, собаках, зайцах и нередко нападают на человека.

Кроме того, есть указания на ядовитость клещей рода *Ornithodoros*, относящихся к сем. *Argasidae*. Аргазиды распространены в странах с сухим и жарким климатом. В сопредельных с Россией территориях они характерны для Средней Азии и Закавказья, где зарегистрированы

около 20 их видов. В отличие от иксодид, являющихся в основном пастбищными паразитами и подстерегающими свою добычу в открытой природе, аргазиды – преимущественно убежищные формы, обживающие гроты, трещины в скалах, пустующие норы животных, постройки человека, где влажность достаточно высокая. Аргазиды отличаются от иксодид (вместе с которыми относятся к надсемейству *Ixodoidea*) отсутствием на теле щитков; ротовые органы у них спрятаны под передним краем тела; большинство аргазид имеют широкий круг хозяев от рептилий до человека.

Длина клещей обычно составляет 0.2–0.4 мм, очень редко может достигать 3 мм. Туловище цельное или разделено на две части, которые не соответствуют головогруды и брюшку пауков, – граница проходит несколько ближе к передней части тела (рис. 10.27). Обычно имеется 6 пар придатков, из которых 4 задних пары у большинства взрослых особей – ноги (личинки, как правило, шестиногие). Членики ног: тазик, вертлуг, бедро, колено, голень и лапка. Лапка (концевой членик) обычно вооружена коготками и стебельчатыми присосками. Самая передняя пара придатков – хелицеры, они клешневидные (грызущие) или образуют колюще-режущие ротовые структуры. Вторая пара – педипальпы, также входящие в комплекс ротовых органов. У самых примитивных клещей они свободные, но в типичном случае срастаются основаниями и вместе с хелицерами и некоторыми другими частями тела образуют «головку», подвижно причлененную к туловищу. Свободные концы педипальп служат щупиками или хватательными приспособлениями. Обычно имеются 4 простых глазка. У представителей некоторых семейств тело мягкое, с кожистыми хитиновыми покровами, у других оно защищено твердыми щитками или панцирем. Лишь относительно небольшое число видов относится к паразитам или переносчикам заболеваний человека, но и непаразитические формы часто вызывают раздражение кожи. Большинство видов – свободноживущие сапрофаги или хищники. Питаясь разлагающейся органикой, они, подобно земляным червям, играют важную роль в образовании почвенного гумуса. Некоторые клещи питаются соком культурных растений и относятся к вредителям сельского хозяйства.

У представителей надсемейства Argasidae встречается явление омовампиризма, когда голодная особь нападает на сытого «собрата» и питается выпитой им кровью, причем клещи-доноры остаются живыми.

**Ядовитый аппарат.** Колющий хоботок иксодового клеща (рис. 10.28) окружен воротничком – кольцевидной хитиновой пластинкой. Снизу воротничок в средней своей части продолжается вперед в виде длинного, суженного, разделенного бороздой на две половины колющего выроста – гипостома. Гипостом усажен с брюшной стороны несколькими рядами шипов. Продольной бороздой шипы распределяются на две боковые группы. Концы шипов направлены назад, в результате чего при внедрении в кожу хозяина хоботок крепко держится в ней. Спереди по бокам воротничка прикреплены два щупика – пальпы, широкие членистые придатки, едва выдающиеся за край гипостома и имеющие на внутренней поверхности вогнутость, что позволяет им при складывании в спокойном состоянии плотно обхватывать с боков колющий аппарат. При сосании же они отгибаются в сторону под прямым углом, предоставляя сосущему аппарату как можно глубже внедряться в кожу хозяина.

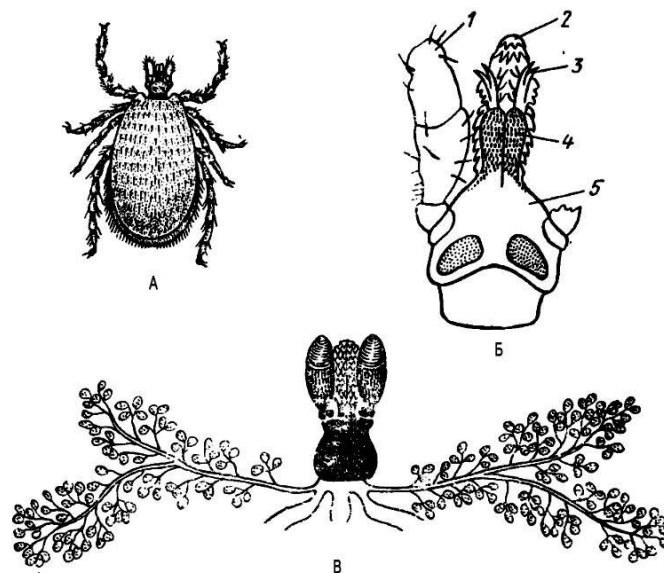


Рис. 10.28. Собачий клещ *Ixodes ricinus*: А – внешний вид; Б – хоботок самки: 1 – пальпы; 2 – гипостом; 3 – конечный членик хелицеры; 4 – футляр хелицер; 5 – воротничок хоботка; В – слюнные железы (Орлов, Гелашвили, 1985)

Дорзальный край воротничка оттянут вперед в парные короткие придатки, загибающиеся своими боками вниз и образующие два трубчатых футляра, внутри которых находится пара свободно движущихся хелицер. Конечный членик хелицер (палец, крючок) очень короток, заострен, изогнут вбок и по наружному краю несет несколько сильных острых зубцов, направленных назад и расположенных в два неравных ряда на особых продольных гребнях. Ротовая полость заключена между футлярами хелицер и гипостомом. Гипостом с внутренней стороны несет продольный желобок. Уже у основания футляров хелицер гипостом срастается с ними, и ротовая полость полностью замыкается, превращаясь в плоскую трубку, куда открывается ротовое отверстие. Тут же немного сзади впадают и протоки

двух слюнных желез (рис. 10.28В). Они лежат в виде гроздьев железистых долек с обеих сторон внутренних органов и у начавших питаться клещей переполнены секретом. Концы желез у иксодид заходят за 4-ю пару кокс. Внутри каждой железы проходит дихотомически ветвящийся проток. Ягодообразные альвеолы (концевые мешочки железы) чередуются с одноклеточными дольками. Протоки железы выстланы внутри хитином, что делает их похожими на трахеи. После прорезания кожи, осуществляемого режущими движениями хелицер, в ранку вводится гипостом. Погружение хоботка в кожу сопровождается интенсивным выделением слюны, которая, затвердевая, образует цементный футляр, прочно фиксирующий хоботок в коже. Такой механизм особенно характерен для иксодовых клещей.

**Клиника отравления.** Изучение реакций тканей кожи в месте укуса клещами *I. ricinus* и *Hyalomma* показало, что слюна клещей обладает ядовитыми свойствами. В сочетании с механическим действием ротовых органов, слюна клеща вызывает некроз эпидермиса. В месте укуса наблюдаются исчезновение эластических волокон и деформация коллагеновых пучков. Воспалительный процесс характеризуется инфильтрацией лимфоцитами и увеличением числа тучных клеток и базофилов. Иксодовые клещи питаются на хозяине в течение нескольких дней кровью и патологическим экссудатом, образующимся в результате взаимодействия токсической слюны клеща с тканями хозяина. Из первичного очага поражения патологические продукты вместе с токсической слюной попадают в кровь и в зависимости от дозировки (множественные укусы) могут вызывать симптомы общего отравления. Состав слюны аргасид и иксодид довольно значительно отличается, что связано с особенностями их питания. У иксодовых клещей, питающихся кровью и продуктами лизиса тканей, слюна должна не только иметь антикоагулирующие свойства, но и обеспечивать гистолизис. Аргасовые клещи питаются цельной кровью, гемолиз и дальнейшее разрушение которой происходит в кишечнике. В целом слюна иксодид является более гетерогенной по сравнению с аргасовыми клещами, однако и у тех, и у других в слюне имеются пока не идентифицированные компоненты, вызывающие повреждение и резкое повышение проницаемости стенок кровеносных сосудов хозяина.

### 10.2.1. Химический состав и механизмы действия яда

Токсическое действие ядовитого секрета различных клещей неодинаково, но некоторые из них, как например *I. holocyclus*, представляют серьезную опасность для человека, домашних и сельскохозяйственных животных. Известно, что укус *I. holocyclus* приводит к развитию вялого паралича, который часто оканчивается смертельным исходом. Следует подчеркнуть, что существует видовая чувствительность к яду этого клеща. Так, лабораторные крысы не чувствительны к 6 питающимся на них клещам, тогда как это количество клещей способно убить собаку массой 15 кг. Мыши отличаются тем, что у них вместо типичного вялого паралича картина отравления развивается очень быстро и смерть наступает от остановки дыхания. Однако в таком виде процесс протекает только у взрослых животных (массой 20–25 г). У молодых мышей массой 4–5 г довольно легко вызвать развитие характерного вялого паралича. Из экстрактов слюнных желез *I. holocyclus* был выделен паралитический токсин с молекулярной массой 40000–60000 и рI 4.5–5.0. Электрофизиологические исследования на изолированном нервно-мышечном препарате мышей, на которых предварительно питались



10 нимф паразита, показали, что токсин вызывает зависимое от температуры ингибирование высвобождения ацетилхолина из нервных окончаний на непрямую стимуляцию. Введение молодым мышам 4-аминопиридина не облегчало течения интоксикации, хотя известно, что этот агент действует положительно при вялых параличах, вызванных другими пресинаптическими токсинами – токсином ботулизма, тайпотоксином и нотоксином.

По-видимому, токсин *I. holocyclus* действует пресинаптически, разобщая процесс деполяризации терминали и механизм секреции медиатора, поскольку спонтанное высвобождение медиатора сохранялось. При тяжелых случаях отравления рекомендуется применение разработанной в Австралии лечебной антисыворотки.

Токсические вещества содержатся и в яйцах иксодовых клещей. Выделенные из яиц различных видов клещей (*Amblyomma hebraeum*, *Boophilus decoloratus*, *B. microplus*, *Rhipicephalu severtsi*) токсические вещества вызывали сходные гистопатологические изменения в тканях экспериментальных животных, что указывает на общность их строения.

Детальное изучение токсина, выделенного из яиц клеща *A. hebraeum*, показало, что это полипептид с молекулярной массой ~ 10 000, токсичный для морских свинок. При подкожном введении морским свинкам очищенного токсина или целого экстракта у животных развивалась гиперестезия, анорексия, конъюнктивиты и ринит. Неволосистые части тела были геперимированы. В тяжелых случаях развивалась геморрагическая диарея, были характерны парезы, охватывающие голосовые мышцы.

Патолого-анатомическое исследование показало наличие локальных некрозов в печени, минерализации и отека слизистой мочевого пузыря и вакуолизацию эпителиальной выстилки. В красной пульпе селезенки наблюдалось скопление нейтрофилов. В легких – умеренный отек, геморрагии, лейкостаз. В мозговой ткани и оболочках отмечены петехиальные кровоизлияния.

Выделенный токсин обладал свойствами ингибитора протеаз, его константа ингибирования по отношению к трипсину составила  $1.6 \times 10^{-6}$  моль, что указывает на неконкурентный тип ингибирования.

Следует отметить, что ингибиторы протеаз характерны для многих ядовитых животных, продуцирующих белковые яды. Такие ингибиторы найдены у змей, насекомых, анемон, в слюнных железах аргасового клеща *Ornithodoros avignyi*. Возможно, ингибиторы защищают белковые токсины от деградации протеиназами тканей жертвы, а также обеспечивают антикоагулирующее действие. Присутствие ингибиторов в яйцах клещей (овоингибиторов) может выполнять также защитную функцию от протеиназ микроорганизмов.

Дальнейшее изучение биологически активных веществ, продуцируемых клещами, поможет лучше понять механизмы оогенеза, эмбриогенеза, метаболизма и взаимоотношений с переносимыми микроорганизмами и вирусами.

\* \* \*

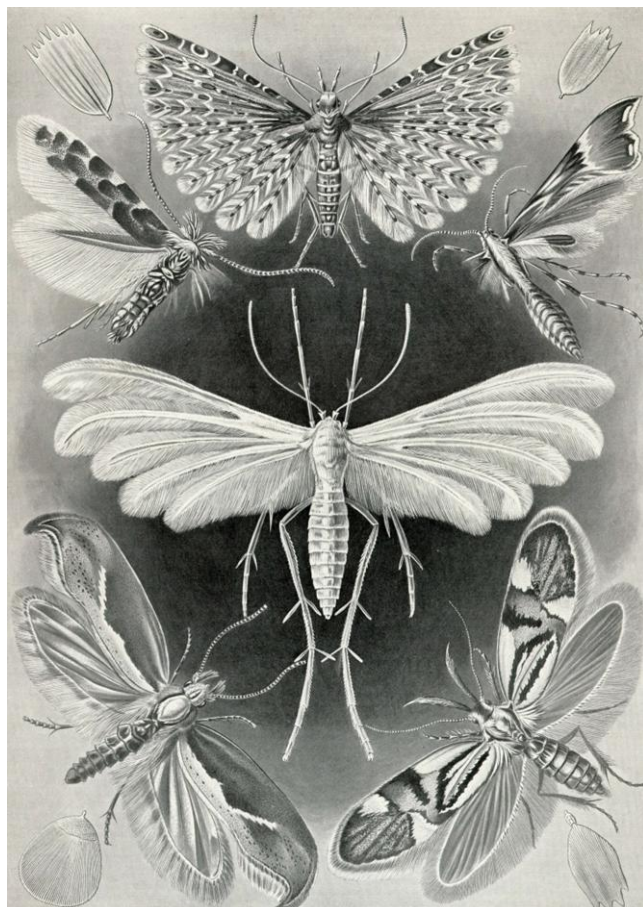
Подведем краткий итог рассмотрению химической природы и механизмов токсического действия яда пауков. Яды пауков – чрезвычайно интересная и перспективная группа биологически активных веществ природного происхождения. Несмотря на недостаточность сведений о структуре токсических компонентов ядов, избирательность их действия на биосистемы уже сейчас интенсивно исполь-

зуются в фундаментальных исследованиях. В первую очередь это относится к яду *Latrodectus*. Установление механизмов поражающего действия яда – необходимый этап для выработки оптимальной тактики лечения этих отравлений. Поэтому несомненную важность и практическую ценность имеют, например, данные об иммунопатологическом звене в механизме отравления ядом *Loxosceles*, что позволяет скорректировать выбор лекарственных средств. Познание строения и механизмов действия компонентов яда пауков открывает интересные перспективы их использования в фундаментальных исследованиях и с практическими целями. Высокая селективность взаимодействия нейротоксинов уже сегодня применяется для исследования структурно-функциональной молекулярной организации биомембран, ионных каналов, процессов синаптической передачи и других физиологических функций. Эти исследования могут оказаться полезными при разработке средств борьбы с дисфункцией ионных каналов – «каналопатии» – актуальным направлением в современной медицине. Антимикробная активность цитолитических полипептидов позволяет рассматривать их как новое перспективное поколение антибиотиков. Наконец, инсектотоксины, содержащиеся в яде пауков, могут стать основой для направленного синтеза биоинсектицидов.

## АКТИВНО-ЯДОВИТЫЕ ЖАЛОНОСНЫЕ НАСЕКОМЫЕ

И выступил против вас Аморрей,  
живший на горе той, и преследовали  
вас так, как делают пчелы, и пора-  
жали вас на Сеире до самой Хормы.

*Втор. 1:44*



Э. Геккель, 1904

**К**ласс Насекомые (Insecta Linnaeus, 1758) входит в надкласс Шестиногие, подтип Трахейнодышащие типа Членистоногие. Название группы происходит от глагола «сечь» (насекать) и представляет собой кальку с французского «insecte» (латинского insectum, ср. греческое ἕντομον с тем же значением), означающего «животное с насечками». Тело насекомых покрыто хитинизированной кутикулой, образующей экзоскелет, и состоит из трёх отделов: головы, груди и брюшка. Во многих группах насекомых второй и третий сегменты груди несут по паре крыльев. У насекомых три пары ног, которые крепятся на грудном отделе. По состоянию на 2013 год описан 1070781 вид насекомых, включая 17203 ископаемых вида. Оценка общей истинной численности насекомых находится в промежутке от 2 до около 8 млн видов. Ежегодно описывается не менее 7000–7500 новых видов. Среди четырёх десятков современных и вымерших отрядов выделяются 5 крупнейших: Жесткокрылые (Coleoptera, 392415 видов), Двукрылые (Diptera, 160591 видов), Чешуекрылые (Lepidoptera, 158570 видов), Перепончатокрылые (Hymenoptera, 155517 видов) и Полужесткокрылые (Hemiptera, 104165 видов).

Насекомые – наиболее многочисленный и высокоорганизованный класс членистоногих, играющий огромную роль в природе. Велика роль насекомых и в экономике человеческого общества, так как многие из них имеют большое народнохозяйственное значение, например насекомые-опылители, медоносная пчела, тутовый и дубовый шелкопряд и др. Напротив, другие насекомые относятся к вредителям сельскохозяйственных культур или переносчикам различных болезней.

Нас будут интересовать ядовитые насекомые, вырабатываемые ими яды и характер воздействия этих ядов на биообъекты. Некоторые из ядов насекомых имеют давнюю историю изучения (пчелиный яд), другие стали предметом пристального внимания только в последнее время. В первую очередь исследованию подвергались наиболее токсичные для человека виды. Важным обстоятельством, лимитирующим изученность того или иного вида, является особенность его биологии (одиночный или общественный образ жизни, плотность популяции), с которой связана возможность получения массовых количеств яда, необходимых для аналитических целей. Отсюда понятно, почему яды пчел, муравьев и общественных ос изучены полнее, чем других групп насекомых.

Ядовитых насекомых можно разделить на несколько групп. Первая из них используется для введения яда специализированный жалящий аппарат (или яйцеклад у наездников). Насекомые второй группы вводят яд в тело жертвы через ротовой аппарат во время укуса. Жалоносные насекомые относятся к отряду перепончатокрылых (Hymenoptera), тогда как виды с «пищеварительными» ядами можно встретить среди двукрылых (Diptera), полужесткокрылых (Hemiptera). Среди чешуекрылых (Lepidoptera) встречаются формы, снабженные примитивным ранящим аппаратом, – в основном это гусеницы бабочек, неспособные активно ввести яд в тело жертвы. Имаго чешуекрылых, как правило, пассивно-ядовитые, причем среди них имеются как первично-ядовитые виды, так и вторично-ядовитые, то есть аккумулирующие в своем организме экзогенные яды. Наконец, у жуков (Coleoptera) представлены как пассивно-ядовитые формы, так и виды, способные выпрыскивать ядовитые вещества, но лишённые ранящего аппарата. Для удобства изложения материала в этой главе рассмотрим жалоносных представителей отряда Hymenoptera, к которым традиционно относят ос, пчел и муравьев.

### 11.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТРЯДА ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫЕ (Hymenoptera)

Перепончатокрылые (Hymenoptera) – один из крупнейших и наиболее развитых в эволюционном плане отрядов насекомых. Группа включает более 155 тысяч видов (вероятно до 300000 видов) из 9100 родов, в том числе общественных насекомых (муравьев, ос, пчёл, шмелей). К отличительным признакам этого отряда можно отнести следующие: из двух пар перепончатых крыльев задние меньше передних, крылья с редкой сетью жилок, редко без жилок (есть и бескрылые формы), на переднем крае заднего крыла расположен ряд крючковидных зацепков, входящих в соответствующую им складку на заднем крае переднего крыла, грызущие или лижущие или только грызущие ротовые органы и полное превращение. Размер варьирует от 0.2 до 135 мм (наездники с яйцекладом), но обычно менее 20 мм. Все перепончатокрылые делятся на два подотряда: Стебельчатобрюхие (Apoicrita) и Сидячебрюхие (Symphyta). Из 155 тысяч видов мировой фауны в Палеарктике встречается около 40000 видов, а в России – около 15000 видов. Крупнейшие по числу описанных видов надсемейства: Ichneumonoidea (более 30000 видов), Apoidea (около 30000 видов), Chalcidoidea (более 20000 видов), Vespoidea (около 20000 видов), Formicoidea (более 12000 видов). Ядовитые перепончатокрылые относятся к подотряду Стебельчатобрюхий (Apoicrita), включающему много надсемейств, в том числе ихневмоноидных наездников (Ichneumonoidea), ос (Vespoidea), пчел (Apoidea), муравьев (Formicoidea) (рис. 11.1). По своим токсинологическим характеристикам эта группа насекомых весьма разнородна и включает в себя как высокотоксичные, так и относительно малоядовитые виды (табл. 11.1). Принимая во внимание, что общественные перепончатокрылые могут оказывать массовые ужаления человека, представляет интерес теоретическая оценка возможности летального исхода в зависимости от количества ужалений (табл. 11.2). Подчеркнем, что речь идет о резорбтивном (общетоксическом действии ядов), без учета аллергической компоненты. В целом, ядовитые (жалоносные перепончатокрылые) представляют не меньшую эпидемиологическую опасность, чем змеи и пауки, традиционно считающиеся ядовитыми животными, о чем можно судить по ситуации в различных регионах США (табл. 11.3).

Таблица 11.1

Сравнительная токсичность яда перепончатокрылых для мышей  
(Schmidt et al., 1980)

Виды	DL <sub>50</sub> , мг/кг	Виды	DL <sub>50</sub> , мг/кг
<i>Pogonomyrmex comanche</i>	0.25	<i>Bombus impatiens</i>	7.2
<i>P. badius</i>	0.42	<i>Paravespula maculifrons</i>	9.0
<i>P. rugosus</i>	0.47	<i>Eciton burehelli</i>	10
<i>P. barbatus</i>	0.62	<i>Paravespula flavopilosa</i>	15
<i>Ectatomma tuberculatum</i>	1.7	<i>Xylocopa virginica</i>	22
<i>Vespa orientalis</i>	2	<i>Polybia chrysothorax</i>	32
<i>Apis mellifera</i>	3.5	<i>Dinoponera gigantea</i>	38
<i>Vespula squamosa</i>	3.5	<i>Dolichovespula maculata</i>	50
<i>Myrmecia pyriformis</i>	5.0	<i>Apoica pallens</i>	59
<i>Paraponera clavata</i>	6.0	<i>Myrmica ruginodis</i>	50–60
<i>Ectatomma quadridens</i>	6.5	<i>Dasymutilla klugii</i>	71
<i>Polistes infuscatus</i>	6.6	<i>Paravespula gertmanica</i>	117.5

Таблица 11.2

**Количество ужалений ядовитыми перепончатокрылыми,  
соответствующее смертельной дозе\* для человека**

Вид	Тривиальное название	DL <sub>50</sub> , мг/кг для мышей	Количество яда (мг), продуцируемое насекомым	Количество ужалений, эквивалентное смертельной дозе для человека
<i>Vespa mandarina</i>	Гигантский шершень	4.6	1.4	164
<i>Pogonomyrmex rugosus</i>	Красные муравьи-жнецы	0.47	0.029	810
<i>Polistes comanche havaho</i>	Бумажная оса	5.0	0.20	1250
<i>Vespula squamosa</i>	Южная желтожилетная оса	3.5	0.01	1750
<i>Apis mellifera</i>	Медоносная пчела	3.5	0.05	3500
<i>Bombus impatiens</i>	Восточный обычный шмель	7.2	0.08	4500
<i>Dolichovespula maculata</i>	Пятнистая оса	50.0	0.38	6600
<i>Paravespula maculifrons</i>	Восточная желтожилетная оса	9.0	0.06	7500
<i>Dasymutilla klugii</i>	Осы-немки (бархатные муравьи)	71.0	0.42	8500

\* Количество яда, соответствующее средней летальной дозе для человека массой 50 кг при условии, что чувствительность мышей и человека к яду одинакова.

Таблица 11.3

**Эпидемиология отравлений ядом перепончатокрылых, змей и пауков  
в различных регионах США**

Регион	Число смертей на 10 <sup>6</sup> человек в год	
	Перепончатокрылые	Змей и пауки
Новая Англия	0.156	0.000
Среднеатлантические штаты	0.072	0.003
Северо-восточные центральные штаты	0.079	0.015
Северо-западные центральные штаты	0.110	0.096
Южноатлантические штаты	0.185	0.303
Юго-восточные центральные штаты	0.287	0.429
Юго-западные центральные штаты	0.260	0.349
Монтана	0.139	0.191
Тихоокеанские штаты	0.149	0.080
США в целом	0.140	0.124



Шершень *Vespa orientalis*



Филант (пчелиный волк)  
*Philanthus triangulum*



Муравей *Ponera coarctata*



Шмель *Bombus terrestris*

Рис. 11.1. Представители жалоносных перепончатокрылых (Wikipedia Commons)

Дальнейшее рассмотрение ядовитых перепончатокрылых целесообразно провести внутри соответствующих надсемейств.

## 11.2. НАДСЕМЕЙСТВО ИХНЕВМОНОИДНЫЕ НАЕЗДНИКИ (Ichneumonoidea, инфраотряд Parasitica)

Ихневмоноидные наездники (Ichneumonoidea) – паразитические насекомые, относящиеся к инфраотряду Parasitica подотряда Стебельчатобрюхих (Aroscita) отряда Перепончатокрылых (Hemiptera). Это одиночные, в большинстве случаев, паразитические насекомые. Личинки паразитируют на других насекомых, которые, в конечном счёте, погибают<sup>77</sup>. Внешний вид насекомых чрезвычайно разнообразен. Размеры варьируют от 3 мм до 13 см. По данным на 2004 год в надсемействе Ichneumonoidea были описаны 63416 таксонов (подвидов, видов, родов, родов, триб и подсемейств). Все они распределяются по двум главным семействам: Braconidae с 48 подсемействами и 17605 валидными видами и Ichneumonidae с 40 подсемействами и 23331 валидными видами. Большинство

<sup>77</sup> «Я не могу убедить себя, что благой и всемогущий Бог мог умышленно создать наездников-ихневмонид с явным намерением, чтобы они питались внутри тела живых гусениц» (из письма Ч. Дарвина (1860 г.) А. Грей).

наездников паразитирует (паразитоиды)<sup>78</sup> на других беспозвоночных, в основном насекомых, откладывая в них свои яйца (эндопаразитизм). Реже наездники являются эктопаразитами, откладывающими свои яйца на поверхности тела хозяина. Однако и в том, и в другом случае перед откладкой яиц наездник парализует свою жертву, вводя в нее яд с помощью своего яйцеклада.

Следует отметить симбиоз наездников, как паразитоидов насекомых, и их жертв – тлей с вирусами. Известно, что многие наездники при заражении насекомых вводят в тела своих жертв «вирусоподобные частицы», способствующие подавлению защитных реакций хозяина, что облегчает развитие личинки паразитоида. Эти частицы, или как их называют поли-ДНК-вирусы (PDV), не содержат специфических вирусных генов и синтезируются в организме наездника. Гены, отвечающие за формирование таких частиц, были приобретены паразитоидами от настоящего вируса, который около 100 миллионов лет назад вошел в геном наездника. Известно, что существуют две группы PDV, приуроченные к двум семействам наездников: браконидам (браковirus) и ихневмонидам (ихновirus). Если природу вируса, вошедшего в геном наездников сем. Braconidae, удалось установить в процессе исследования (вирусы группы нудивирусов), то относительно сем. Ichneumonidae этот вопрос пока остается открытым. Кроме того, обнаружен тройной симбиоз тли, бактерии и вируса-бактериофага APSE, способствующего защите насекомого (тли) от его паразитоида (наездника). Интересным является тот факт, что бактериофаг участвует в регулировании мутуалистических (взаимовыгодных) отношений между симбиотическими бактериями и их хозяевами.

**Бракониды** (Braconidae) – мелкие и средние насекомые, большинство видов имеют размер около 1 см (от 2–5 мм до 10–15), в тропиках до 25 мм. Брюшко удлиненное и может быть искривлено и сегментировано, самки многих видов имеют очень длинный яйцеклад (рис. 11.2).

Крылья с развитым жилкованием и наличием в переднем крыле склеротизированной птеростигмы. Выделяют две группы браконид: эктопаразиты (Braconinae и Doryctinae) и эндопаразиты (большинство других подсемейств), отличающиеся и по биологии, и по строению личинок. Большинство видов – это паразитоиды жуков (Coleoptera), двукрылых (Diptera) и чешуекрылых (Lepidoptera), которым отдают заметное преимущество, но также есть паразиты гемиметаболических (с неполным развитием) насекомых, таких как тли (Heteroptera или Embiidina). Известен паразитизм и на взрослых насекомых (особенно из отрядов Hemiptera и Coleoptera), а представители двух подсемейств образуют галлы растений (Mesostoinae и Doryctinae). Бракониды-эндофаги паразитируют на свободно передвигающихся или временно парализованных хозяевах. В отличие от них, экзофаги парализуют свои жертвы полностью или на длительный срок. К последним относится род *Microbracon* (*Habrobracon*).

**Настоящие наездники, или наездники-ихневмониды** (Ichneumonidae) – одно из крупнейших и наименее изученных семейств насекомых, общая численность видов данного семейства по некоторым оценкам может составлять до 100 тысяч.

---

<sup>78</sup> Паразитоид – организм, который проводит значительную часть своей жизни (в личиночной стадии), проживая на или внутри своего единственного хозяина, которого он постепенно убивает в процессе поедания. Паразитоидов делят на идиобионтов (idiobiont), которые в итоге убивают хозяина (жертву) и почти без исключения живут вне хозяина, и койнобионтов (koinobiont), которые позволяют хозяину продолжать его развитие и часто не убивают вплоть до окукливания или стадии имаго.





Рис. 11.2. Представитель браконид *Atanycolus* sp. (Wikipedia Commons)

В фауне России это самое крупное по числу видов семейство насекомых, включающее, например, только в одной европейской части РФ до 5000 видов. Фауна бывшего СССР оценивалась более чем в 8 тысяч видов ихневмонид. В Великобритании около 1500 видов и 350 родов. В Северной Америке известны около 8000 видов, что больше, чем из какого-либо другого семейства перепончатокрылых насекомых. На стадии личинки – паразиты личинок и куколок многих групп насекомых, в том числе сельскохозяйственных вредителей. Члены семейства Ichneumonidae часто крупнее, чем Braconidae и различаются, прежде всего, деталями жилкования крыльев. Брюшко сильно удлинённое и может быть искривлено и сегментировано, самки многих видов (особенно рода *Megarhyssa*) имеют очень длинный яйцеклад (рис. 11.3).

Обычными хозяевами ихневмонид являются чешуекрылые, перепончатокрылые (пилильщики, осы, наездники, муравьи), двукрылые, жуки, реже сетчатокрылые, верблюдки, ручейники. Есть виды, паразитирующие на пауках и ложноскорпионах. Некоторые ихневмонины заражают других ихневмонид, браконид и тахин, выступая в роли вторичных паразитов. В отличие от браконид, ихневмонины никогда не паразитируют во взрослых насекомых и в нимфах насекомых с неполным превращением. Ихневмонины также никогда не паразитируют в яйцах насекомых. В тех случаях, когда ихневмонины заражают яйцо (некоторые Stenopelmatinae, Diplazontinae, Collyria), их личинки заканчивают развитие в личинке или куколке хозяина. Взрослые ихневмонины – большей частью крылатые свободноживущие насекомые. Как правило, ихневмонид можно встретить на цветках растений, особенно на цветках с открытыми нектарниками, где они питаются нектаром и пыльцой. Наездники нуждаются в ежедневном потреблении воды, в связи с чем они обильнее близ водоемов, в местностях с регулярным выпадением осадков или росы. Многие виды ведут сумеречный или ночной образ жизни.



Рис. 11.3. Самка наездника рогохвоста большого *Rhyssa persuasoria* во время откладки яиц (Wikipedia Commons)

ни. Продолжительность жизни взрослых наездников 1–2 месяца. Некоторые ихневмониды зимуют на стадии имаго, что удлиняет жизнь взрослых особей этих видов до 10 месяцев. Зимовка на стадии имаго свойственна прежде всего наездникам подсемейств Ichneumoninae, а также Cryptinae, некоторым Pimplinae и Orthocentrinae.

### 11.2.1. Ядовитый аппарат

Строение ядовитого аппарата рассмотрим на примере яйцеклада браконид (Braconidae) (рис. 11.4, 11.5). Две сочлененные головки первой яйцекладной пластины  $Lam_1$  соединены одна (а) с тергитом IX, а другая (b) со второй пластиной  $Lam_2$ . От первой пластины начинается эластичный стержень  $Rh_1$  первой створки  $Val_1$ , который идет вначале вперед, а затем загибается назад. Брюшной край створки может быть зазубрен на конце. Вторая яйцекладная пластина  $Lam_2$  довольно велика, она сочленена с нижней головкой первой пластины b. От ее переднего края отходят вторые створки  $Val_2$ , а от заднего – третьи  $Val_3$ . Вторые вздуты у основания  $Vulb$  и слиты в непарную створку  $Val_2$ . Их упругие стержни  $Rh_2$  расходятся в стороны своими основаниями – признак, характерный для Hymenoptera (на рис. 11.4 не показано). Третьи створки  $Val_3$  желобообразны и служат футляром для  $Val_{1,2}$ . Все створки очень длинные и тонкие. С яйцекладом связаны кислая и щелочная железы. Например, у *Microgaster* кислая ядовитая железа состоит из 6 долек, впадающих в общий резервуар, который своим протоком соединен с яйцекладом. Туда же впадает и проток щелочной железы.

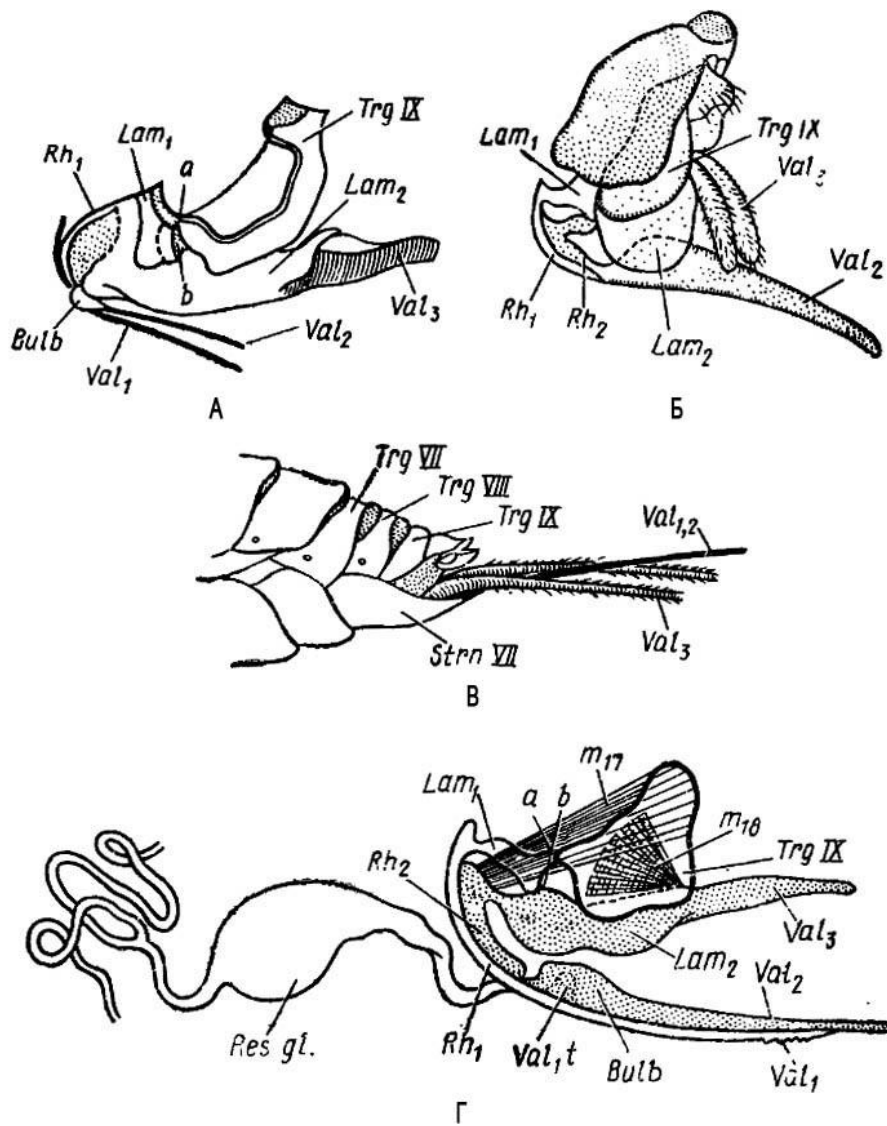


Рис. 11.4. Строение жалящего аппарата перепончатокрылых (Б.Н. Шванвич, 1949): А – бракониды; Б – осы; В – конец брюшка наездника; Г – пчелиные; Lam<sub>1</sub> – треугольная пластинка; Trg IX – квадратная пластинка; Lam<sub>2</sub> – продолговатая пластинка; Val<sub>1</sub> – колющая щетинка; Rh<sub>1</sub> – дуга колющей щетинки; Val<sub>2</sub> – стилет салазок; Val<sub>1,t</sub> – поперечный отросток; Rh<sub>2</sub> – дуга салазок; Bulb – луковица салазок; Res gl. – резервуар кислой (парной) железы; при сокращении мышцы m<sub>18</sub> конец створки Val<sub>1</sub> втянут, при сокращении m<sub>17</sub> – выдвигается

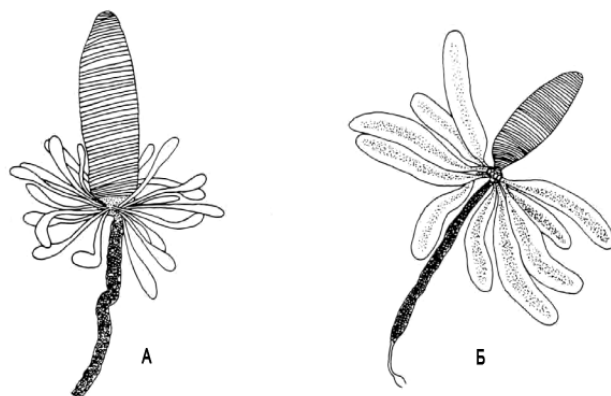


Рис. 11.5. Резервуар, проток и ядовитая железа браконид: А – *Bracon (Rostobracon) urinator*; Б – *Bracon (Glabrobracon) anthracinis* (Peydró et al., 1996)

### 11.2.2. Химический состав и механизмы действия яда

Наиболее полно изучен яд *Microbracon* sp., паразитирующих на гомометаболических насекомых, представленных в основном чешуекрылыми. Ужаление *M. hebetor* и *M. gelechiae* вызывает полный и длительный паралич, наступающий уже через 15 мин. Один наездник *M. hebetor* способен парализовать 1698 личинок огневки (*Plodia* sp.) и теоретически в течение своей жизни может продуцировать количество яда, достаточное для обездвиживания 1.6 млн личинок. Как правило, наездники вводят в тело хозяина избыточное количество яда, чтобы обеспечить необратимый или длительный паралич. Возможно, это имеет приспособительное значение в тех случаях, когда жертва оказывается менее чувствительной к яду, чем обычно. Активность яда очень высока. Так, для обездвиживания гусеницы огневки пчелиной *Galleria mellonella* достаточно разведения яда  $2 \times 10^{-8}$  г/мл. Вместе с тем существует и выраженная видовая специфичность в его действии. Так, например, личинка огневки мельничной *Ephestia kuehniella* остается парализованной в течение нескольких недель, тогда как личинка огневки инжирной *E. figulilella* быстро оправляется от действия яда, а личинка огневки кукурузной *Ostrinia nubilalis* полностью невосприимчивы к действию яда *M. hebetor*. По сравнению с гусеницами чешуекрылых, рабочие особи медоносной пчелы в 20 раз менее чувствительны к яду *M. hebetor*, домашняя муха (*Musca domestica*) – в 100 раз, нимфы саранчи (*Locusta migratoria*) и личинки жука (*Tenebrio molitor*) – более чем в 100000 раз.

Яд *M. hebetor* вызывает вялый паралич у чувствительных к нему видов насекомых (рис. 11.6).

Активные начала яда – белки с молекулярной массой  $\sim 41000$  (*Microbracon* токсин А; А-МТХ) и  $\sim 57000$  (*Microbracon* токсин В; В-МТХ), имеющие субъединичную структуру. Эти белки весьма лабильны и легко денатурируют при хранении и обработке. Целый яд *M. hebetor*, так же как и оба его компонента, вызывают снижение частоты МПКП в нервно-мышечном соединении чешуекрылых и саранчи без изменения их амплитуды. Это указывает на пресинаптический характер действия яда. Точкой приложения действия яда являются только возбуждающие глутаминергические синапсы чешуекрылых, синапсы саранчи гораздо менее

чувствительны. На тормозные синапсы насекомых, холинергические синапсы позвоночных и глутаминергические синапсы пауков и ракообразных яд не действует. Установлено, что яд *M. hebetor* вызывает пресинаптический блок только в возбуждающих нейромышечных синапсах соматической мускулатуры. При этом в больших дозах, применяемых в природе, яд *M. hebetor* вызывает необратимый паралич (рис. 11.7), тогда как малые (экспериментальные) дозы приводят к обратимым эффектам.

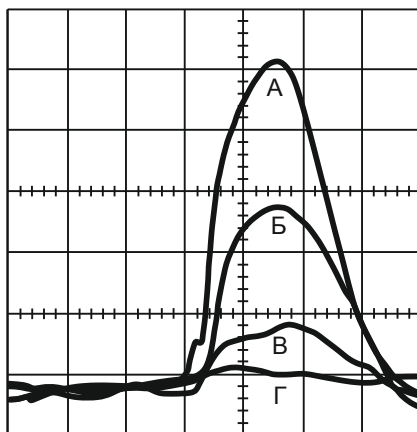


Рис. 11.6. Блокирование ядом *Microbracon hebetor* внеклеточных потенциалов действия мышцы личинки айлантового шелкопряда *Philosamia cynthia*, вызванных стимуляцией брюшной нервной цепочки: А – фон; Б – через 7 мин после добавления яда (эквивалентного четырем ядовитым железам); В – через 9 мин; Г – через 15 мин. Калибровка: по амплитуде – 200 мкВ/деление; по времени – 5 мсек/деление (Ріек, 1966)

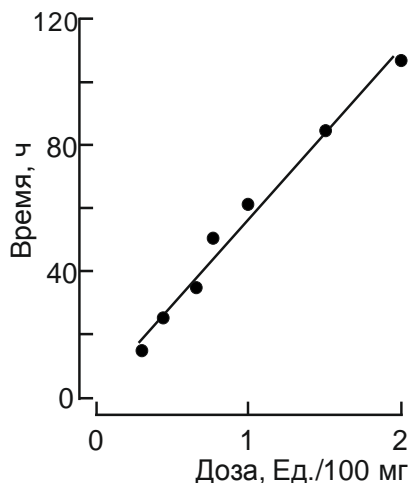


Рис. 11.7. Дозозависимое развитие паралича личинки восковой моли, вызванное токсином *M. hebetor* (В-МТХ,  $M_r$  57 кД). По оси абсцисс отложены дозы в биологических единицах на 100 мг массы личинки, по оси ординат – время 50%-ного восстановления в часах (Ріек, 1990)

Электронно-микроскопическое изучение парализованных ядом *M. hebetor* нервно-мышечных препаратов мышцы ретрактора коготка саранчи показало, что яд может блокировать встраивание везикул в пресинаптическую мембрану и тем самым нарушать процесс высвобождения медиатора. Таким образом, можно считать, что мишенью яда *M. hebetor* является механизм высвобождения медиатора без блокирования входа в нервную терминаль ионов кальция.

Видовая специфичность действия бракониды используется для борьбы с сельскохозяйственными вредителями. Разведение бракониды *Opius concolor*, паразитирующей на личинках оливковой мухи, оказалось эффективным средством против этого вредителя.

### 11.3. НАДСЕМЕЙСТВО ПЧЕЛЫ И СФЕКОИДНЫЕ РОЮЩИЕ ОСЫ (Apoidea, инфраотряд Aculeata)

Apoidea – надсемейство жалящих перепончатокрылых насекомых, принадлежащее подотряду Стебельчатобрюхие (Aroscrita), инфраотряду Жалящие перепончатокрылые (Aculeata), родственное осам и муравьям. По современной классификации Apoidea объединяют пчёл в одну группу (надсемейство) вместе с родственными им сфекоидными осами Sphecidae (сфециды), ранее входившими в состав надсемейства Sphecoidea как часть семейства Роющие осы (Sphecidae) в широком смысле в ранге подсемейства Sphecinae. Теперь они входят в группу сфекоидных ос Spheciformes в составе надсемейства Apoidea. Существуют около 20 тысяч видов пчёл и около 10 тысяч видов сфекоидных, или роющих ос группы Spheciformes. Их можно обнаружить на всех континентах, кроме Антарктиды. Общими для пчелиных и сфекоидных ос являются вздутые плечевые бугры переднеспинки, которые удалены от тегул (а если иногда соприкасаются с ними, то тогда задний край переднеспинки прямой), что отличает их от прочих ос.

Насекомые из секции Anthophila этого надсемейства (Apoidea s. str.<sup>79</sup>) приспособились питаться нектаром и пыльцой, используя нектар главным образом в качестве источника энергии, а пыльцу – для получения белков и других питательных веществ. Для этого имеют длинный хоботок, которым они пользуются для высасывания нектара растений. Усики (или антенны, сязыки) состоят из 13 сегментов у самцов и 12 сегментов у самок. Задняя пара крыльев Apoidea по размеру меньше передней. Первый членик их задних лапок плоский. Волоски тела разветвлённые или чешуевидные. Редуцированное число антенномер у самцов – чрезвычайно редкое явление среди надсемейства пчёл (Apoidea). Почти у 99% видов самцов этого семейства имеется по 13 сегментов. 12-члениковые усики самцов известны только у некоторых видов. Размер пчёл колеблется от 2.1 мм у карликовой пчелы *Trigona minima* до 39 мм у вида *Megachile pluto*, обитающего в Индонезии.

Насекомые (осы) из секции Spheciformes являются, как правило, хищниками, охотящимися за различными насекомыми или клептопаразитами<sup>80</sup>. Первый

---

<sup>79</sup> Sensu stricto (в «узком» смысле) и sensu lato (в широком смысле) – латинские выражения, добавляемые к названию таксона для уточнения его подразумеваемого объёма. Обычно они используются, если есть более-менее общепринятые широкая и узкая трактовки объёма таксона.

<sup>80</sup> Клептопаразиты извлекают пользу, получая корм или другие объекты (гнездо или гнездовой материал), которые они не могут получить самостоятельно, или экономя время и

членик их задних лапок цилиндрический, не уплощённый. Волоски тела простые, не ветвистые. Имеются исключения из общего правила: опылители (пчёлы) – хищники (осы). Например, обнаруженная на Шри-Ланке песочная оса *Krombeinictus nordenae* выкармливает своих личинок цветочной пыльцой, как и пчёлы.

Хищные одиночные осы выкармливают свое потомство парализованными (реже убитыми) насекомыми и пауками. Еще в классических работах Дюфура (1841) и Фабра (1879–1910) было высказано предположение, что роющие и дорожные осы парализуют свою добычу ударом жала в ганглий (или вблизи него) брюшной нервной цепочки. Чаще всего в качестве примера приводится описание охоты песчаной аммофилы (*Ammophila sabulosa*), добычей которой служат гусеницы совок. Вытащив на поверхность извивающуюся гусеницу, аммофила наносит первый удар между головой и первым сегментом тела гусеницы. Оглушив гусеницу таким образом, оса наносит своей жертве серию последовательных ударов жалом, поражая каждый сегмент тела. В результате достигается полная иммобилизация. Другая роющая оса – филант, или пчелиный волк (*Phylanthus triangulum*) – обходится, как правило, только одним ударом, но наносит его в надглоточный ганглий, парализуя, таким образом, ЦНС медоносной пчелы. Дорожные осы (Pompilidae) охотятся на пауков, причем отнюдь небезобидных. Например, каракут является жертвой *Pompilus ciliatus*; тарантулов способны парализовать осы-калигуры *Cryptoheilu sannulatus*, а тропических пауков-птицеядов – осы *Pepsis femoratus*.

**Ядовитый аппарат.** Охота на таких крупных и сильных членистоногих требует и совершенствования жалящего аппарата. У ос строение жала отлично от наездников и обнаруживает большое сходство с жалом пчелиных (рис. 11.4). Механизм работы жала будет рассмотрен на примере пчелы, здесь же отметим, что жало ос длиннее, чем у пчел, саблевидно изогнуто, а у хищных одиночных ос лишено характерных зазубрин. У общественных ос жало может быть зазубрено. Ядовитый аппарат представлен кислыми и щелочной железами.

### 11.3.1. Семейство Песочные осы, пчелиный волк (Crabronidae)

Crabronidae (краброниды) – осы подотряда Стебельчатобрюхие (Aprocrita) отряда Перепончатокрылые (Hymenoptera). Семейство включает около 200 родов и около 8800 видов. Песочные осы гнездятся в земле. Охотятся на насекомых, которых убивают или парализуют, после чего переносят в гнездо, где кормят ими своих личинок. В некоторых трибах и подсемействах наблюдается пищевая специализация. Представители подсемейства Pemphredoninae известны как «охотники на тлей». Большинство видов трибы Gorytini охотятся на различных представителей отряда Hemiptera, особенно на цикадовых Auchenorrhyncha. Филант (*Phylanthus*) известен как «пчелиный волк». Триба Nyssonini включает виды-клептопаразиты. Распространены по всему миру, главным образом в тропиках. В Европе около 600 видов.

Характерный представитель – пчелиный волк, или европейский филант (*Phylanthus triangulum*). При массовом распространении филант наносит большой ущерб псакам, так как для того, чтобы выкормить одну личинку филанта,

---

усилия, требуемые для этого. Однако при этом они рискуют получить отпор от хозяина ворующих ресурсов.

необходимо от четырёх до шести пчёл. Самки крупнее самцов, достигают 8–17 мм в длину. От обычной осы отличается размером головы и ярко-жёлтой окраской (рис. 11.1). Дорсальная поверхность промежуточного сегмента сплошь покрыта волосками. Брюшко желтое. Передний край наличника у самки с двумя заметными зубцами. Филант устраивает гнёзда в земле на южных оголённых склонах оврагов, откосов и канав, норки уходят вертикально вниз на глубину до 1 м. На усиках самки живут и размножаются стрептомицеты, чьи антибиотики в дальнейшем защищают расплод осы от почвенных микроорганизмов. Самцы питаются растительной пищей. Самки охотятся на пчёл. Обнаружив насекомое с характерной окраской, самка останавливается с подветренной стороны и, если чувствует запах пчелы, то нападет на неё в полёте. Филант наносит пчеле прицельный удар жалом в надглоточный ганглий и парализует ее. После этого самка филанта, приземлившись где-нибудь и прочно обхватив пчелу лапками, надавливает на брюшко пчелы и съедает вытекшую из зобика пчелы каплю нектара (для личинок пчелиного волка нектар ядовит, поскольку они не способны переваривать углеводы и нуждаются в белковой пище). Затем филант относит пчелу в гнездо, где использует для выкармливания личинок. Эта оса обладает поистине удивительной памятью. Она способна находить норку, запоминая расположение разных предметов вокруг неё. Перед тем как улететь, многие осы кружатся над гнездом, запоминая основные вехи на пути к нему. Если пчелиного волка отнести от норки на значительное расстояние, то он вернётся к ней самым кратчайшим путём.

#### 11.3.1.1. Химический состав и механизмы действия яда

Исследования яда филанта были начаты в 60-е годы прошлого века. Первые результаты показали, что яд оказывает действие на нейромышечную передачу у насекомых. Известно, что поражающее действие яда максимально при его введении в ганглий, и парализующий эффект ослабевает при введении яда в гемолимфу. Это явление может быть связано либо с затруднением диффузии яда, либо с инактивирующим действием гемолимфы. В пользу последнего предположения говорят, в частности, эксперименты с филантом, чувствительность которого к собственному яду была максимальной при введении в ганглий и резко ослабевала при инъекции в гемолимфу. Интересно, что самки филантов иногда выкармливают свое потомство парализованными самцами. Из этого можно заключить, что удар жалом в ганглий (или в непосредственной близости от него) является более естественным. Заметим, что некоторые примитивные осы, например бетилиды (*Bethylidae*), наносят своим жертвам множественные укусы без определенной системы, поэтому нельзя исключить и периферическое действие яда.

Целый яд филанта блокирует как возбуждающие, так и тормозные синапсы насекомых (рис. 11.8). Блокада возбуждающих синапсов включает в себя два механизма: пресинаптический и постсинаптический. Пресинаптический компонент действия яда филанта проявляется в снижении частоты МПКП, наблюдаемом на нервно-мышечных препаратах саранчи и медоносной пчелы. Однако электронно-микроскопическое изучение парализованных нервных терминалей этих объектов выявило определенные различия. У саранчи отмечено значительное истощение числа синаптических везикул в пресинаптическом окончании, тогда как в нервных терминалях пчелы, обработанных ядом филанта, количество везикул не



отличалось существенно от контрольных значений. В последнее время было установлено, что под действием яда филанта на 50% блокируется обратный захват глутамата в аминергических синапсах саранчи.

На постсинаптическом уровне целый яд филанта неконкурентно блокирует возбуждающее действие глутамата на нервно-мышечный препарат саранчи. Яд филанта содержит, как минимум, три токсина, два из которых охарактеризованы химически: это  $\delta$ - и  $\beta$ -филантотоксины, хотя обычно сообщается о четырех токсинах, выделенных из яда филанта: *филантотоксинах*  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\delta$ . Есть сведения, что паралитическим действием на ЦНС таракана обладает только  $\alpha$ -филантотоксин, тогда как три других токсина проявляют периферическое действие. Относительная активность филантотоксинов по некоторым данным такова:  $\beta : \gamma : \delta = 1 : 30 : 100$ .

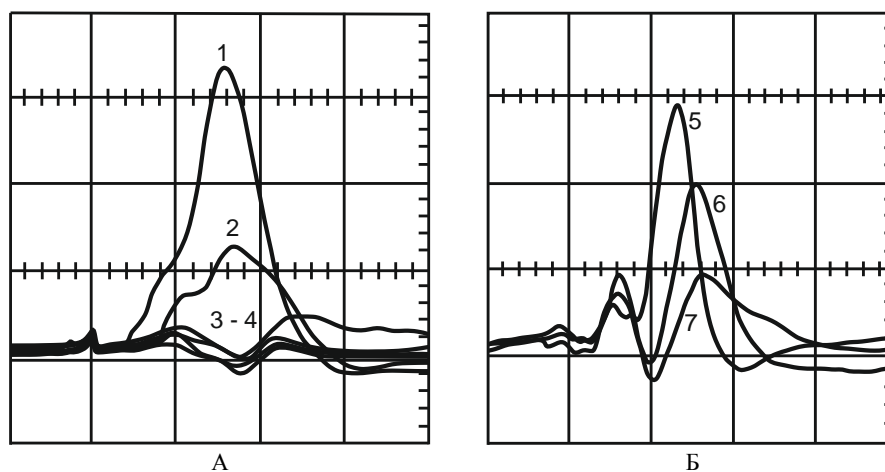


Рис. 11.8. Влияние яда филанта *Philantus triangulum* на нервно-мышечную передачу у саранчи (Рiek, 1966): А – регистрация ПД нерва и мышцы быстрой мышечной системы ноги саранчи; 1 – фон; 2 – через 15 с после инъекции 50 мкл раствора яда, эквивалентного 1 ядовитой железе; 3–4 – через 30 с и 4 мин соответственно; Б – тот же препарат; 5 – через 36 мин после отмывания яда физиологическим раствором; 6 – через 1 мин. после повторного введения яда (0.5 ядовитой железы); 7 – через 2 мин Калибровка: 1 деление сетки 1 мВ, 5 мс

В настоящее время достаточно подробно изучены два полиаминных токсина, выделенных из яда филанта, которые блокируют глутаматергическую передачу. Один из них,  $\delta$ -филантотоксин ( $\delta$ -РТХ), в настоящее время называемый филантотоксин-4.3.3 (РТХ-4.3.3)<sup>81</sup>, ответственен за описанные выше пре- и постсинаптические эффекты. Второй токсин, названный  $\beta$ -филантотоксин ( $\beta$ -РТХ), потенцирует эффекты  $\delta$ -РТХ на интактных рабочих пчелах и является антагонистом ионофоретически вызванных глутаматных потенциалов в мышцах насекомых. Синтетический аналог РТХ-4.3.3 проявляет около половины активности природного токсина, что может быть связано с тем, что природный токсин является одним из двух энантиомеров, присутствующих в синтетическом продукте.

<sup>81</sup> Для синтетических аналогов часто встречается обозначение филантотоксин-433.

**δ-Филантотоксин** (рис. 11.9) имеет молекулярную формулу  $C_{23}H_{41}N_5O_3$  и молекулярную массу 435.6 Да.

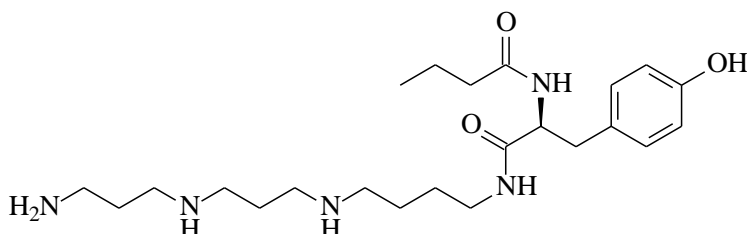


Рис. 11.9. Структура δ-филантотоксина

δ-Филантотоксин (δ-РТХ) блокирует постсинаптическую передачу в возбуждающих синапсах мышцы саранчи и наиболее эффективно воспроизводит постсинаптическое действие целого яда. δ-РТХ, вероятно, укорачивает время жизни открытых глутаматом ионных каналов субсинаптической мембраны, одновременно увеличивая интервал между последовательными открытиями. Показано, что δ-РТХ угнетает ионофоретический потенциал и ток в активированном глутаматном рецепторе. Скорость восстановления после воздействия токсина снижается при пролонгированном применении L-глутамата и повторном ионофоретическом применении этой аминокислоты или повторной нервной стимуляции в присутствии δ-РТХ. Эти данные согласуются с представлением о блокировании этим токсином глутаматного канала. Таким образом, предполагается, что δ-РТХ на постсинаптическом уровне блокирует открытые ионные каналы глутаматергического рецепторно-ионофорного комплекса и ингибирует обратный захват глутамата. Филантотоксин-4.3.3 и ряд его структурных аналогов влияют на глутаматергическую передачу не только в мышцах насекомых, но и гиппокампе крысы, а также на холинергическую передачу в ЦНС насекомых. Однако в последнем случае филантотоксины примерно в 100 раз менее активны. Известно, что бесконкурентные антагонисты глутаматных рецепторов, в том числе и филантотоксины, для своего действия требуют предварительного перехода ионного канала рецептора к открытому состоянию, после связывания со специфическим участком внутри канала эти вещества механически блокируют прохождение ионов сквозь него. Таким образом, эффект этих антагонистов (кривая «доза – эффект») зависит от степени предварительной активации рецепторов в исследуемой ткани. В свою очередь, реактивация рецепторов после их связывания происходит только под действием агониста, который способен вызвать открытие ионного канала, поэтому восстановление деятельности рецепторов после воздействия таких антагонистов происходит, как правило, медленнее, чем для антагонистов других классов.

Синтетические аналоги филантотоксина-433 (PhTX-433), такие как PhTX-343 (рис. 11.10), обладают неконкурентным антагонизмом в отношении ионотропных рецепторов, включая Ах-рецепторы. Это низкомолекулярные соединения, имеющие гидрофобную группу, соединенную с полиаминным хвостом. При физиологическом рН они имеют положительный заряд и поэтому связываются с поверхностями, несущими анионные группы. Показано, что с Ах-рецептором *Torpedo californica* высокоаффинно могут связываться две молекулы PhTX-343.

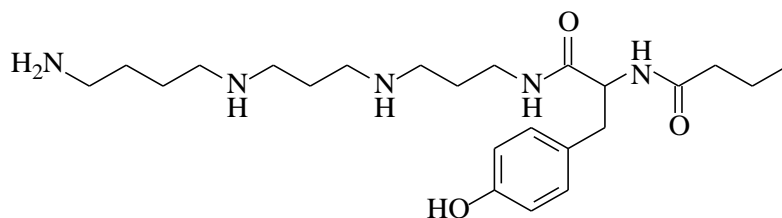


Рис. 11.10. Филантотоксин PhTx-343 – синтетический аналог природного филантотоксина-433

**β-Филантотоксин** является полиаминным блокатором глутаматергической передачи в нервно-мышечной системе насекомых. Масс- и ЯМР-спектральным анализом была установлена его структура (рис. 11.11):

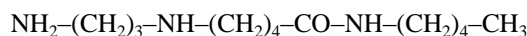


Рис. 11.11. Структура β-филантотоксина (Kits, Piek, 1986)

Токсин тормозит вызванные инофоретическим подведением глутамата потенциалы, однако его активность составляет около 1% от аналогичной активности δ-PhTx. Блокирование β-филантотоксином глутаматных потенциалов в мышцах саранчи является дозозависимым: 50% блокирования наблюдается при концентрации 2 мкг/мл (рис. 11.12). При этом эффект зависел от частоты стимуляции: блок не наблюдался если интервал между стимулами был 30 с или более. Полагают, что блокирующий эффект β-филантотоксина может быть связан с десенситизацией глутаматного рецептора или ее пролонгированием. Имеются противоречивые сведения о взаимодействии β-филантотоксина с лектином конкавалином А, который вызывает десенситизацию<sup>82</sup> глутаматных рецепторов.

Сравнение фармакологических эффектов δ-РТХ и β-РТХ показало, что оба токсина угнетают глутаматные потенциалы независимо от предварительной обработки конкавалином А. δ-РТХ вызывает неконкурентный вызванный активацией блок открытого канала. β-РТХ также вызывает неконкурентный блок, но не вызванный активацией. δ-РТХ оказывает небольшой эффект на время открытия канала в постсинаптической мембране. β-РТХ вызывает небольшое увеличение времени закрытия канала. β-РТХ изменяет кинетику комплекса катионного канала глутаматного рецептора во внесинаптической мембране мышечного волокна саранчи, уменьшая длительность времени открытого состояния канала. Это объясняет эффект на постсинаптические глутаматные потенциалы, выражающийся в снижении амплитуды и уменьшении постоянной времени. β-РТХ усиливает действие δ-РТХ. Предположение, что этот синергизм может вызвать торможение восстановления после десенситизации, вызванной β-РТХ, представляется обоснованным. Возможно, что β-РТХ, уменьшая вероятность открытия канала, может предотвратить вызванное активацией разблокирование каналов, заблокированных δ-РТХ, но это нуждается в экспериментальной проверке *in vitro*.

<sup>82</sup> Рецептор, подвергнутый длительному воздействию лиганда, значительно уменьшает свою чувствительность – это явление известно как десенситизация.

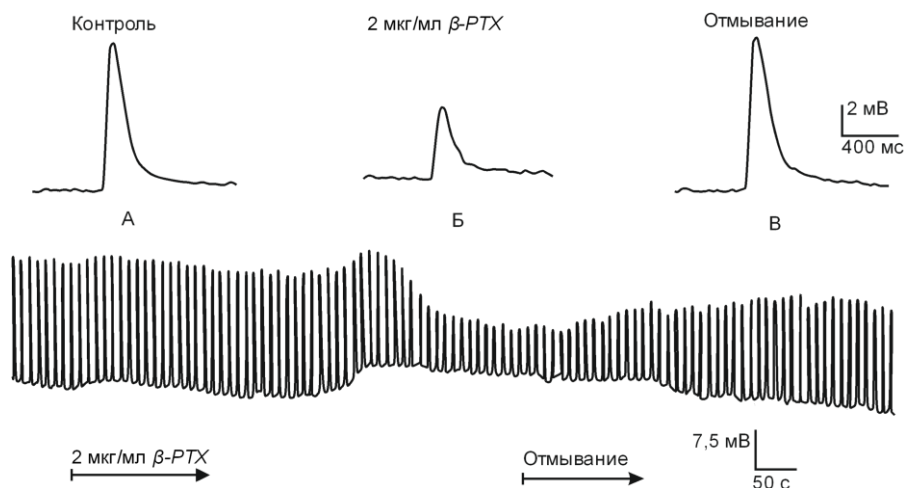


Рис. 11.12. Влияние  $\beta$ -филантотоксина в концентрации 2 мкг/мл на ионофоретически вызванные глутаматные потенциалы в мышце саранчи: А – контроль, Б – уменьшение на 50% амплитуды глутаматного потенциала через 5–8 мин после воздействия  $\beta$ -филантотоксина, В – восстановление после отмывания (Kits, Piek, 1986)

Следует отметить, что подобно токсинам пауков филантотоксины взаимодействуют с ионными каналами, находящимися в открытом состоянии. Высокие концентрации глутамата, присутствующего в яде филанта, способствуют реализации его блокирующего действия в нейромышечном соединении насекомых. Аналогично, ацетилхолин, также присутствующий в яде филанта, активирует холинергические синапсы ЦНС насекомых и создает предпосылки для их блокирования филантотоксинами.

В отличие от необратимого пресинаптического блокирования, вызываемого кининами, полиаминоподобные токсины пауков и филантотоксины являются обратимыми антагонистами. Тем не менее они рассматриваются как перспективные аналоги инсектицидов и новых нейроактивных лекарственных средств.

В последнее время возрос интерес к филантотоксинам (природным и синтетическим) в связи с актуальностью изучения глутаматергической передачи не только у беспозвоночных, но и у позвоночных, особенно человека. Известно, что основные возбуждающие синапсы в ЦНС позвоночных – глутаматергические. По чувствительности к агонистам в семействе глутаматных ионотропных рецепторов выделяют AMPA, NMDA и каинатные рецепторы, которые различаются по функциональным и фармакологическим характеристикам. С момента открытия глутаматергической нейротрансмиссии найдено и синтезировано множество лигандов, взаимодействующих с ионотропными глутаматными рецепторами. Эти соединения являются незаменимыми фармакологическими инструментами для изучения вопросов строения, функционирования и физиологической роли глутаматных рецепторов. С другой стороны, эти вещества могут быть использованы в качестве агентов для коррекции патологических состояний, связанных с нарушением глутаматергической передачи. Особое внимание уделяется неконкурентным антагонистам – блокаторам ионных каналов, способным уменьшать последствия гиперактивации глутаматных рецепторов. Некоторые из них успешно прошли

клинические испытания и в настоящее время широко применяются для лечения слабоумия, болезни Паркинсона и в качестве анальгетиков. Однако практическое использование большинства известных блокаторов ионных каналов ограничено или неприемлемо вследствие побочных эффектов, проявляющихся, например, в двигательных и психических расстройствах. Для объяснения причин побочных эффектов и разработки новых безопасных препаратов необходимо детальное понимание строения и функционирования глутаматных рецепторов, а также изучение молекулярных детерминант, обеспечивающих взаимодействие с антагонистами. В этом отношении перспективными являются синтетические производные филантотоксина-433, позволяющие изучить блокирующую активность этих соединений с ограниченной конформационной гибкостью поликатионного «хвоста» и различным строением гидрофобной группировки «головы». Показано, что избирательные каналоблокаторы AMPA-рецепторов имеют вытянутый поликатионный хвост, в то время как для угнетения NMDA-рецепторов критичным является строение группировки «головы». Самыми активными блокаторами AMPA- и NMDA-рецепторов являются производные филантотоксина-433, имеющие наиболее гибкую длинную полиметиленовую цепь. Строение группировки «головы» молекулы важно в случае блокады NMDA-рецепторов и оказывает незначительный эффект на блокаду AMPA-рецепторов. Наиболее активными блокаторами AMPA- и NMDA-рецепторов были производные филантотоксина-433 с наибольшим количеством атомов азота, максимальной длиной и гибкостью полиметиленовой цепи. Ограничение конформационной гибкости хвостовой части молекулы путем введения гетероциклов в большинстве случаев сопровождалось потерей активности блокаторов как на AMPA-, так и на NMDA-рецепторах. Строение группировки головы (ее стерические размеры в пределах изученных соединений) незначительно влияло на активность веществ на AMPA-рецепторах и сильно сказывалось на блокаде NMDA-рецепторов. Это позволяет сделать предположение о различиях в строении вестигулярных ионных каналов AMPA- и NMDA-рецепторов. Дальнейшее исследование глутаматных рецепторов с помощью новых гомологических рядов токсинов позволит более четко идентифицировать и фармакологически охарактеризовать сайты связывания производных филантотоксина-433 в ионной поре глутаматных рецепторов.

В заключение отметим, что одиночные роющие и дорожные осы не представляют серьезной опасности для человека, их укусы несут, как правило, случайный характер, например пчеловодов, защищающих пчелу от нападения филантов. В месте укуса ощущается небольшая боль, гораздо слабее, чем от укуса пчелы; развивается эритема, бесследно исчезающая через 1–2 дня. Пчеловоды безбоязненно берут филанта в руки, так как его сравнительно тонкое жало обычно не прокалывает кожу на ладонях.

### **11.3.2. Семейство Настоящие осы, складчатокрылые осы (Vespidae)**

Настоящие осы, складчатокрылые осы (Vespidae) – семейство перепончатокрылых насекомых. Ранее складчатокрылые осы подразделялись на 3 самостоятельных семейства: общественных, или «бумажных» ос (Vespidae), цветочных ос (Masaridae) и одиночных складчатокрылых ос (Eumenidae). В настоящее время большинство специалистов объединяет всех складчатокрылых ос в единое сем.

Vespidae с подсем. Euparagiinae, Masarinae, Eumeninae, Stenogastrinae, Vespinae и Polistinae. В мировой фауне насчитываются более 4800 видов (260 родов, 6 подсемейств), в Палеарктике более 1000 видов, в России около 150 видов из 31 рода. В покое передние крылья складываются вдоль спины. Окраска брюшка часто из чередующихся чёрных и жёлтых полос.

Среди настоящих ос есть как одиночно живущие виды, так и формы, ведущие общественный образ жизни (имеющие плодовых и бесплодных самок – рабочих) и строящие сложные гнёзда из бумаги (общественные, или бумажные осы). Подсемейства Polistinae и Vespinae состоят из общественных видов, в то время как Eumeninae, Euparagiinae и Masarinae – это одиночные осы; Stenogastrinae включает разнообразные формы, переходные от одиночных к социальным видам.

Хищники питаются (и выкармливают личинок) убитыми насекомыми (одиночные осы) или пыльцой (цветочные осы), некоторые виды питаются также мелкими грызунами, гекконами и мелкими птицами (вероятно падалью).

Бумажные, или общественные осы – монофилетическая группа подсемейств из семейства настоящих ос (Vespidae), представители которых используют для строительства своих гнёзд бумагу, которую делают сами, пережевывая и смачивая клейкой слюной волокна древесины. Включает два из пяти подсемейств настоящих ос: Polistinae и Vespinae (в последнее входят и шершни). Второе название – «общественные осы» – отражает социальный образ жизни, так как все они живут колониями, насчитывающими от нескольких десятков до нескольких сотен и даже тысяч ос. Летом колония состоит из матки, откладывающей яйца, и рабочих ос, выполняющих основные функции по обеспечению жизнедеятельности гнезда: добычу корма для личинок, защиту колонии от врагов. Бумажными осами также называют род Polistes.

Всего насчитывается чуть больше 1000 видов бумажных ос. Распространены по всему свету, в России их около 30 видов, наибольшее же их разнообразие сосредоточено в Юго-Восточной Азии и Южной Америке. Взрослые осы кормятся нектаром цветов, выделениями тлей, соком фруктов. Личинок выкармливают насекомыми – мухами, муравьями, пчёлами, гусеницами, предварительно пережевывая их. Материал для строительства гнезд осы добывают преимущественно из старых деревьев, пней и древесных материалов, что обуславливает преимущественно серый цвет гнезд. Осы, пятась назад, соскребают челюстями частички волокон древесины. На соскребаемое место оса предварительно выпускает капельку слюны, которая размягчает древесину. Собранный комочек древесных волокон, оса переносит его к месту строительства гнезда. Здесь комочек повторно пережевывается осой и обильно смачивается слюной. Далее оса садится на край ячейки гнезда и прижав комочек к стенке гнезда, пятась назад раскатывает его в полоску. Затем, взяв полоску краями челюстей, начинает растягивать ее в длину. В дальнейшем такие полоски прикрепляются одна к другой, формируя бумажную стенку. Сооружение гнезда происходит в несколько этапов. Весной самка на выбранной ею основе сооружает так называемый стебелек, на конце которого делает две ячейки. У основания стебелька сооружается внешняя оболочка, постепенно расширяемая и углубляемая, формой напоминающую вначале чашу, а позднее сферу. В сферической оболочке оставляется входное отверстие для осы. Вокруг первой сферической оболочки строится вторая большего размера. Таким образом происходит увеличение размеров гнезда. Далее возле первых двух ячеек самка сооружает другие, образуя соты. При увеличении числа сот самка убирает внутреннюю

защитную оболочку. Чем крупнее разрастается гнездо, тем больше старых защитных оболочек и ячеек внутри него уничтожается. Соты внутри гнезда располагаются горизонтально и заняты ячейками только на одной нижней стороне. Далее с ростом размеров гнезда увеличивается и число его «этажей». Порой к концу летнего сезона в старых гнездах могут находиться до десятка «этажей». Бумажные осы могут сооружать «многоэтажные» соты, окружая их оболочкой, защищающей потомство от влияния колебаний температуры и влажности. Оболочка гнезда позволяет поддерживать внутри гнезда практически постоянную температуру около 30°C. Главная роль в постройке гнезда всё же принадлежит рабочим особям. В гнездах общественных ос может паразитировать целый ряд насекомых: наездники, осы-немки, осы-блестянки, мухи-журчалки. Все они паразитируют на личинках и куколках. Порой встречаются личинки жуков-кожедодов и настоящих мух, которые питаются остатками пищи, шкурками и трупами личинок и имаго ос. Существуют среди бумажных ос также и паразитирующие виды, которые гнезд не строят и сами паразитируют в гнездах других видов.

Единственный вид шершней, который выносит сухой климат – это восточный шершень<sup>83</sup> *Vespa orientalis*. Интересно, что пигмент ксантоптерин, присутствующий в светлой полосе брюшка насекомых, поглощает солнечный свет и преобразует его в электричество. Видимо по этой причине эти шершни более активны в солнечные дни. Восточный шершень живёт в полусухих субтропиках Азии, на юге Европы, также обитает в Северной Африке и на берегах Аденского залива. Восточный шершень распространён в южной Европе, в северной Африке, в Азии. Интродуцирован на Мадагаскар.

Наиболее полно изучены яды ос, ведущих общественный образ жизни, поскольку у них облегчается процедура получения яда.

### 11.3.2.1. Ядовитый аппарат

Ядовитая железа, например *Vespa orientalis*, обычного для Средней Азии, состоит из двух кислых желез, секретирующих яд в ядовитый мешочек. Кроме того, имеется одна щелочная железа, выделяющая свой секрет непосредственно в проток, соединяющий ядовитый мешочек с жалом (рис. 11.13). Токсичность экстрактов

---

<sup>83</sup>В научной латыни род шершней называется словом *Vespa*, что и значит «оса», а *Vespa* (научное название наиболее обычного рода ос) с учётом уменьшительно-ласкательного суффикса должно было бы переводиться как «осишка». Несмотря на довольно чёткую систематическую классификацию, в реальной жизни иногда возникает некоторая путаница в различии между шершнями и другими представителями общественных ос, в частности настоящими осами, являющимися членами того же семейства. В целом, однако, настоящие осы мельче шершней и обладают ярко-жёлтой и чёрной окраской, тогда как жёлтый цвет шершней обычно более тёмный. Некоторых больших ос иногда называют шершнями, в особенности осу пятнистую (*Dolichovespula maculata*), обитающую в Северной Америке. В английском языке её принято называть шершнем (bald-faced hornet), как и настоящих шершней, несмотря на чёрный цвет и окраску цвета слоновой кости. Вероятно название шершень используется для этой и некоторых других родственных видов ос в первую очередь из-за их привычки к созданию надземных, а не подземных гнёзд (подобно настоящим шершням). В качестве другого примера можно привести австралийского шершня (*Abispa ephippium*), который фактически является одним из видов одиночной осы.



Рис. 11.13. Жало осы с капелькой яда на кончике (Wikipedia Commons)

ядовитых мешочков рабочих особей *V. orientalis* зависит от стадии онтогенеза. Для мышей  $DL_{50}$  яда закономерно снижается на преимагинальной стадии (от 1800 до 400 мг/кг), достигая 45 мг/кг в первые дни стадии имаго. Токсичность яда маток на 30–50% ниже, чем у рабочих особей. Важное значение в поддержании токсичности яда имеет наличие белка в пищевом рационе.

### 11.3.2.2. Клиника отравлений

Клинике ужаления осами посвящена обширная литература. Перечень наиболее часто встречающихся клинических признаков ужаления осами приведен в табл. 11.4. Ведущими местными признаками поражения являются острая боль в месте ужаления и локальная отечно-воспалительная реакция с признаками лимфангоита и лимфаденита. Иногда развиваются гигантские отеки, захватывающие не только пораженную конечность, но и прилегающую часть туловища.

Общие проявления отравления при ужалениях осами складываются из четырех основных синдромов: 1) кожного – сыпь типа крапивницы; 2) циркуляторного – анафилактический шок; 3) отечного – отек Квинке; 4) астматического – удушье и экспираторная одышка. Таким образом, наиболее тяжелые местные и общие реакции на яд имеют аллергическую природу, что требует применения не только соответствующей патогенетической, но и специфической десенсибилизирующей терапии.

Американский энтомолог Дж. Шмидт предложил шкалу оценки силы ужалений жалящих перепончатокрылых в зависимости от силы действия их яда и испытываемых человеком болевых ощущений – шкалу Шмидта, или шкалу силы ужалений Шмидта (англ. Schmidt Sting Pain Index). По этой 4-балльной шкале низший, 1 балл присвоен одиночным пчелам, прежде всего Halictidae, реагирующим на запах пота человека. Баллом 1.2 оценивается болезненность ужалений огненными муравьями рода *Solenopsis* и прежде всего красным огненным муравьем *Solenopsis invicta*. Ужаления медоносной пчелой и шершнем оцениваются 2 баллами. Высшая степень шкалы силы ужалений 4+ балла присвоена крупным тропическим муравьям *Paraponera clavata*, ужаления которых чрезвычайно болезненны.



Таблица 11.4

## Симптомы отравления ядом ос (Баркаган, 1977)

Симптомы	Встречаемость, %
Боль в месте ужаления	86.8
Отечно-воспалительная реакция на яд	75
Общее недомогание	63.2
Зуд и крапивница	50
Отек Квинке вдали от места ужаления	47.1
Повышение температуры тела	45.6
Сухость во рту	44.1
Головная боль	27.9
Сердцебиение	26.5
Головокружение и потемнение в глазах	25
Одышка и чувство стеснения в грудной клетке	25
Тошнота	22.1
Рвота	8.8
Отек языка, зева, гортани	13.2
Острые боли в суставах (артралгический синдром)	10.3
Боли в эпигастрии	7.4
Судороги	4.4
Непроизвольное мочеиспускание и дефекация	2.8

## 11.3.2.3. Химический состав и механизмы действия яда

Яд ос – сложная химически гетерогенная система, в которой идентифицированы ферменты, токсические полипептиды, физиологически активные биогенные амины и ацетилхолин. По набору ферментов и биогенных аминов яд шершня является одним из наиболее богатых среди ядов перепончатокрылых. В состав ферментативных белков входят фосфолипазы А<sub>2</sub> и В, гиалуронидаза, поли- и дисахаридазы; кислая, нейтральная и щелочная ДНК-азы, протеазы.

**Фосфолипазы.** Фосфолипаза А<sub>2</sub> из яда среднеазиатского шершня имеет молекулярную массу ~ 16000, в отличие от фосфолипазы А<sub>2</sub> яда пчелы она богаче гидрофобными аминокислотами, что объясняет способность молекулы этого фермента образовывать димеры.

По своей фосфолипазной активности целый яд шершня превосходит другие животные яды. Кроме фосфолипазы А<sub>2</sub>, из яда шершня была выделена белковая фракция, специфически катализирующая реакцию гидролиза *l*-лизолецитина, то есть обладающая выраженной лизофосфолипазной активностью<sup>84</sup> и являющаяся пресинаптическим токсином (*ориентотоксином*), механизм действия которого будет рассмотрен ниже. N-концевая аминокислотная последовательность карбоксиметилированного образца ориентотоксина, определенная автоматической деградацией по Эдману, была гомологична N-концевой последовательности фосфолипазы А<sub>2</sub> из того же яда, но резко отличалась от аналогичной последовательности известных пресинаптических нейротоксинов из ядов змей. В свою очередь, анализ N-концевой аминокислотной последовательности показал существенные отличия фосфолипазы А<sub>2</sub> из яда шершня и пчелы (рис. 11.14).

<sup>84</sup> Старое название – фосфолипаза В.

<i>A. mellifera</i>	I-I-Y-P-G-T-L-W-C-G-H-G-N-K-S-
<i>V. orientalis</i>	F-N-P-C-P-Y-S-D-D-T-V-K-M-I-I-
Ориентотоксин	F-N-P-C-X-Y-S-D-X-T-V-K-M-I-I-

Рис. 11.14. Сравнение N-концевой последовательности первичной структуры фосфолипазы A<sub>2</sub> из ядов *A. mellifera*, *V. orientalis* и ориентотоксина

Молекулярная масса ориентотоксина по данным аминокислотного состава равна 18000, молекула состоит из 150–160 аминокислотных остатков, в числе которых 5 остатков цистеина.

**Резорбтивные токсические эффекты яда ос.** Широкий спектр гидролитических ферментов яда ос обеспечивает его выраженные цитотоксические свойства, наблюдаемые на препаратах скелетной мускулатуры, почек, а также на гепатоцитах, эритроцитах (табл. 11.5) и митохондриях. Так, например, гемолитическая активность яда шершня (*V. orientalis*) достигает своего максимума на 4–5 сутки стадии имаго. Снижение гемолитического действия яда под влиянием ингибиторов протеаз указывает, что протеазы яда могут усиливать его прямое гемолитическое действие. Следует отметить, что корреляция между гемолитической и летальной активностью ядов отсутствует (табл. 11.5).

В сублетальных дозах (0.2 DL<sub>50</sub>) яд шершня вызывает у кошек выраженную и длительную (до 300 мин) гипергликемию. Гипергликемический фактор яда, очевидно, имеет белковую природу, так как плохо диализируется и инактивируется при нагревании до 100°C.

Среди физиологически активных веществ яда шершня следует указать гистамин, адреналин, норадреналин, дофамин, серотонин и ацетилхолин. Сочетание

Таблица 11.5

**Гемолитическая активность яда некоторых жалоносных перепончатокрылых в отношении отмых эритроцитов мыши (Schmidt et al., 1980)**

Вид перепончатокрылых	Таксон	Гемолитическая активность, ед. /мг	DL <sub>50</sub> , в/б мышам, мг/кг	Болезненность ужаления, баллы по Шмидту
<i>Polistes infuscatus</i>	Общественные осы	12000	6.6	3
<i>Vespula squamosa</i>	Общественные осы	1500	3.5	2
<i>Vespula pensylvanica</i>	Общественные осы	570	11	2
<i>Pogonomyrmex badius</i>	Муравьи	480	0.42	2–3
<i>Xylocopa virginica</i>	Одиночные осы	25	22	1
<i>Paraponera clavata</i>	Муравьи	10	6	4
<i>Dasymutilla lepeletierii</i>	Одиночные осы	4	50–100	2–3

\* Одна гемолитическая единица соответствует количеству яда, вызывающему 50%-ный гемолиз 1 мл эритроцитарной суспензии при 37°C в течение 30 мин при длине волны 545 нм.

гистамина и ацетилхолина обеспечивает очень сильный болевой (аллогенный) местный эффект яда. Присутствие в яде биогенных аминов и ацетилхолина во многом объясняет его действие на сердечно-сосудистую систему. Характерными эффектами яда при его внутривенном введении собакам являются падение АД и периферического сопротивления, увеличение сердечного выброса и стимуляция дыхания.

Среди других ос следует указать *Vespula (Dolichovespula) maculata*, *V. maculifrons*, *Ropolidia revolutionalis*, *Polistes humilis*, *P. comanche*, химический состав яда которых также стал предметом изучения в последнее время. В ядах *V. maculata* и *V. maculifrons* обнаружены характерные для ядов ос гистамин, дофамин, норадреналин, а также гистидиндекарбоксилаза, ранее у ос неизвестная. Кроме того, в яде *V. maculata* присутствует серотонин, а в яде *V. maculifrons* – кининоподобные пептиды. В обоих ядах отсутствуют ацетилхолин и адреналин. У ос *R. revolutionalis*, распространенных от Индии до Австралии, и *P. humilis*, обычных в юго-восточной Австралии, найдены гистамин, серотонин, фосфолипаза А и гиалуронидаза, у *P. gallicus* яд обладает ДНК-азной активностью. Поскольку при УФ-облучении нативная и одноцепочечная ДНК расщеплялись ядом одинаково, можно заключить, что ДНК-аза *P. gallicus* относится к эндонуклеазам, впрочем так же, как и у осы *V. orientalis*. У обитающей в Северной Америке осы *Polistes comanche* обнаружен гемолитический белок – *полистин*, отличающийся по своим характеристикам от гемолитических белков других перепончатокрылых, в частности мелиттина из яда пчелы *A. mellifera* и барбатозина из яда муравья *Pogonomyrmex barbatus*. Молекулярная масса полистина ~ 26000, что гораздо больше, чем у мелиттина пчелиного яда (2840), даже если учесть его агрегацию в тетрамер (11360). Различия в химической структуре полистина и мелиттина обуславливают и специфику их гемолитического действия (табл. 11.6).

Таблица 11.6

**Чувствительность отмытых эритроцитов различных животных к яду *Polistes comanche*, *Vespa orientalis* и мелиттину (Bernheimer et al., 1982)**

Виды	Гемолитические ед./мг сухой массы		
	<i>Polistes comanche</i>	<i>Vespa orientalis</i>	<i>Apis mellifera</i> (мелиттин)
Собака	330	300	330
Овца	<10	<10	63
Кролик	330	200	135
Лошадь	150	28	250
Человек	560	830	220
Мышь	1000	435	200
Крыса	250	200	240
Кошка	230	68	220
Морская свинка	440	790	530
Бык	<10	<10	80
Коза	<10	<10	80

Среди пептидных компонентов яда ос наибольшее значение имеют кининоподобные пептиды, пептиды, дегранулирующие тучные клетки, и нейротоксические полипептиды.

**Кинины.** Первые кинины были выделены из яда общественных ос *Paravespula vulgaris* в начале 50-х годов. В настоящее время известно целое семейство кининов, которые имеют большое структурное сходство с брадикининами или конъюгированы с ними (рис. 11.15).

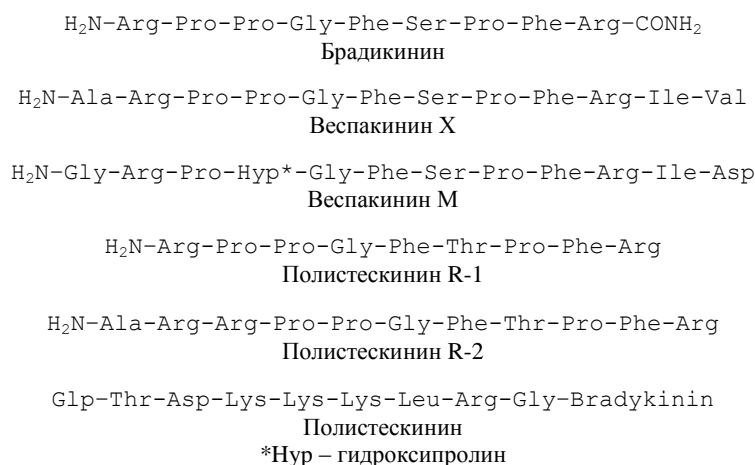


Рис. 11.15. Первичная структура некоторых кининов из яда ос (Schmidt, 1982)

Брадикинин – нанопептид, образующийся в сыворотке млекопитающих при инкубировании ее с трипсином или обработке змеиными ядами. Он обладает выраженным гипотензивным действием и вызывает сокращение гладкой (не сосудистой) мускулатуры млекопитающих. Брадикинин, видимо, присутствует в ЦНС млекопитающих. Хотя в ЦНС функции его не ясны, брадикинин считается мозговым нейропептидом. В периферической нервной системе позвоночных брадикинин деполяризует нервные клетки в симпатических ганглиях и может вызвать высвобождение катехоламинов из деполяризованных нервных терминалей. Кинины – гипотензивные, алгогенные пептиды, вызывающие повышение сосудистой проницаемости и обратимое сокращение гладкой (несосудистой) мускулатуры. Это важный патогенетический фактор, ответственный за развитие общих и местных симптомов отравления у позвоночных. Первыми изученными природными гликопептидными дериватами брадикинина были веспулакинины 1 и 2, представляющие собой, соответственно, гептадекапептид и пентадекапептид (рис. 11.16):

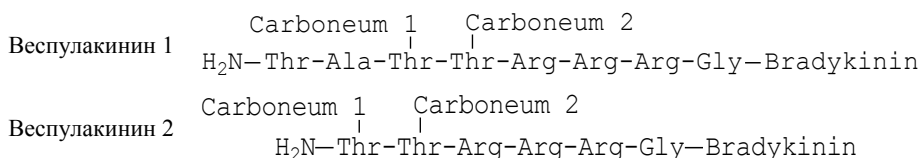


Рис. 11.16. Веспулакинины из яда ос

Углеводы соединены, видимо, с остатками треонина в N-концевой части пептида, тогда как его C-концевой фрагмент является брадикинином. Углевод 1 состоит из 1–2 молекул N-ацетилгалактозамина и 1 молекулы галактозы; углевод 2 – из 2–3 молекул N-ацетилгалактозамина и 2 молекул галактозы. По своей структуре веспулакинины близки с полистескинином, выделенным из смеси яда ос *P. annularis*, *P. fuscatus*, *P. exalamans*. Веспулакинины – мощные гипотензивные агенты – примерно в два раза более сильные, чем брадикинин, и так же, как последний, быстро инактивируются в легких. Веспулакинины, по-видимому, первые известные вазоактивные гликопептиды природного происхождения.

Нейротоксические брадикининоподобные пептиды были выделены из яда одиночной осы *Megascolia flavirons*, которая, в частности, охотится на личинок жука-носорога *Oryctes nasicornis*, нанося удары жалом в ганглии, что вообще характерно для жалоносных одиночных ос. Экспериментальное изучение четырех фракций яда *Megascolia flavirons* выявило блокирующее действие на передачу возбуждения в гигантском нейроне шестого брюшного ганглия таракана. Первые из двух изученных фракций содержали кинины: одна фракция – это Тре-6-брадикинин, а другая фракция была представлена Тре-6-брадикинин-Лиз-Ала. Другие две фракции содержали пептиды большей молекулярной массы (7 и 70 кДа соответственно), но не обладали кининоподобными свойствами. Экспериментальное изучение наиболее активного Тре-6-брадикинина показало, что токсин необратимо блокирует синаптическую передачу в ЦНС беспозвоночных на пресинаптическом уровне, возможно уменьшая высвобождение медиатора (рис. 11.17).

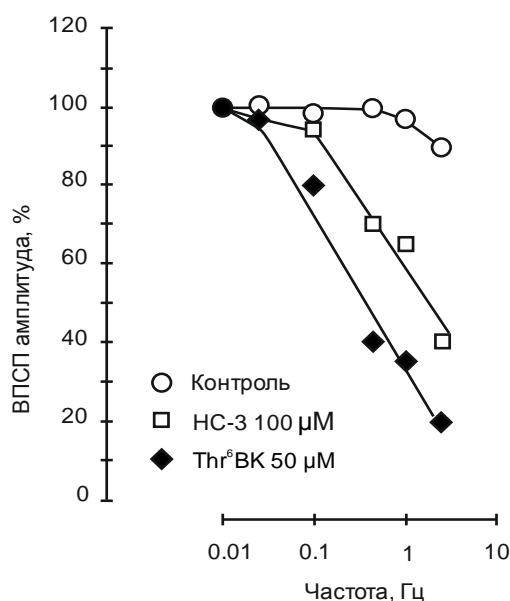


Рис. 11.17. Влияние Тре-6-брадикинина (Thр<sup>6</sup>ВК) на передачу возбуждения с церкального нерва на гигантский нейрон таракана в сравнении с эффектом гемихолина-3<sup>85</sup> (НС-3)

<sup>85</sup> Блокирует обратный захват холина в холинергическом синапсе.

Блокирующий эффект (снижение амплитуды ВПСП) усиливался при повышении частоты стимуляции вплоть до полного истощения запасов медиатора. Полагают, что нейротоксические кинины из яда ос и муравьев вызывают в ЦНС насекомых пресинаптический блок холинергической передачи, приводя к необратимому истощению запасов медиатора, вероятно за счет ингибирования обратного захвата холина.

**МCD-пептиды.** Пептиды, дегранулирующие тучные клетки (mast cell degranulating peptide) – МСD-пептиды в яде ос, были обнаружены только в 1979 г., тогда как МСD-пептид из пчелиного яда был выделен гораздо раньше, в 1966 г. МСD-Пептиды ос были названы *мастопаран* (из яда *Vespula lewisii*) и *мастопаран-Х* (*Vespa xanthoptera*) (рис. 11.18):

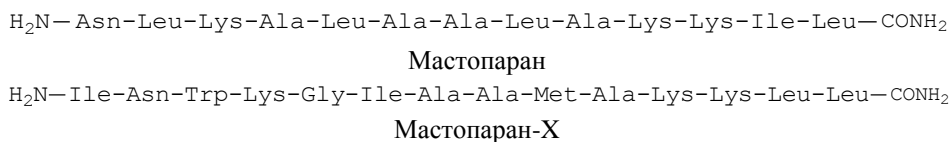


Рис. 11.18. Первичная структура мастопаранов из яда ос

Для получения мастопарана были использованы 5000 гомогенизированных ядовитых мешочков ос *V. lewisii*. В концентрации 0.5 мкг/мл мастопаран вызывает дегрануляцию суспензии тучных клеток крысы и высвобождение из них гистамина. Гистаминлибераторное действие мастопарана-Х сходно с действием его аналога. Мастопараны лишены кининоподобных свойств. В высоких концентрациях мастопараны гемолизуют эритроциты и незначительно индуцируют высвобождение серотонина из тромбоцитов. При хранении в водном растворе при доступе воздуха биологическая активность мастопарана-Х снижается, вероятно, за счет окисления остатка метионина. Мастопараны – первые МСD-пептиды, обнаруженные у ос.

**Нейротоксины.** В яде некоторых видов ос обнаружены и охарактеризованы нейротоксины. Так, изучение нейротоксина Е из яда *Vespa insularis* показало, что он гиперполяризует постсинаптическую мембрану за счет увеличения ее хлорной проводимости. Другой нейротоксин – *мандаротоксин* – выделен из яда крупного шершня *V. mandarina*, обитающего в Юго-Восточной Азии, ужаления которого могут быть смертельными даже для человека. Азиатский гигантский шершень (*Vespa mandarina*) – самый крупный в отряде жалоносных перепончатокрылых насекомых (рис. 11.19). В отличие от ос и пчел, общая длина его тела может достигать почти 5 см при размахе крыльев около 7 см и жале до 6 мм. Это самый крупный шершень из 22 их видов, известных в мире, и 7 видов, обитающих в нашем Приморье. Опасность ужаления этого шершня связана с большим количеством яда (до 20 мг), содержащегося в его ядовитом пузырьке. При ужалении в рану попадает до 2 мг яда, что в 2.5 раза больше, чем при ужалении пчелы. Пострадавшие сравнивают ужаление *Vespa mandarina* с укусом толстой раскаленной иглой.



Рис. 11.19. Гигантский шершень *Vespa mandarina* (Wikipedia Commons)

Мандаротоксин имеет молекулярную массу  $\sim 20000$  с рI 9.1. Молекула термолabile и обладает основными свойствами, обусловленными большим содержанием в ней остатков лизина. Глюкозамин и галактозамин не были обнаружены в аминокислотном составе. Токсин лишен гемолитической и ферментативной активности и является типичным нейротоксином. В низких дозах он вызывает необратимое снижение амплитуды ВПСР в мионевральном синапсе беспозвоночных без изменения сопротивления постсинаптической мембраны, что указывает на пресинаптический характер его действия (рис. 11.20).

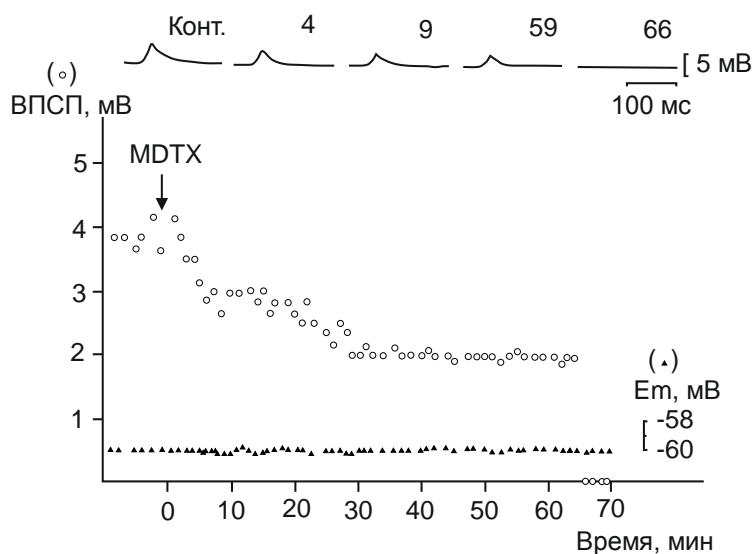


Рис. 11.20. Влияние мандаротоксина на нервно-мышечное соединение ходильной ноги омара. По оси ординат отложена амплитуда ВПСР (○) и значение потенциала покоя (▲) в мышце. По оси абсцисс – время после добавления 0.1 мкг мандаротоксина (отмечено стрелкой). Верхняя панель: ВПСР при трех последовательных стимулах (12 Гц) на возбуждающий нерв. Цифры над записью ВПСР – время после добавления мандаротоксина (мин) (Abe et al., 1982)

Внутриклеточная регистрация электрической активности пресинаптического окончания показала, что под действием мандаротоксина прогрессивно снижается амплитуда пресинаптического ПД и максимальная скорость его нарастания. Механизм высвобождения медиатора при этом не повреждался. По своему блокирующему действию на ПД электрогенной мембраны мандаротоксин ( $10^{-6}$  моль/л) сопоставим с эффективностью ТТХ. Однако имеются различия: в частности, мандаротоксин действует необратимо; кроме того, у личинок насекомых он блокирует ТТХ-устойчивые ионные каналы.

Исследование нейротоксических свойств *ориентотоксина* (*V. orientalis*) на нервно-мышечном препарате лягушки показало, что этот токсин обладает достаточно сильным блокирующим действием. Начиная от концентрации  $1.8 \cdot 10^{-8}$  М, наблюдается постепенное снижение амплитуды вызванных потенциалов концевой пластинки (рис. 11.21). Способность блокировать как вызванное, так и спонтанное выделение медиатора при действии относительно низких концентраций токсина без фазы усиления процесса секреции отличает ориентотоксин от других известных пресинаптических нейротоксинов, выделенных из ядов различных животных.

При сопоставлении эффектов ориентотоксина и мандаротоксина обнаруживаются некоторые различия в проявлении нейротоксического действия, правда надо иметь в виду, что сравниваемые результаты были получены на разных экспериментальных животных (лягушках и омарах). Во-первых, ориентотоксин активнее мандаротоксина. На пресинаптическом уровне ориентотоксин нарушает процесс нейросекреции, тогда как мандаротоксин предположительно блокирует  $\text{Na}^+$ -каналы нервной терминали. Наконец, ориентотоксин, в отличие от мандаротоксина, снижает уровень мембранного потенциала мышечных волокон.



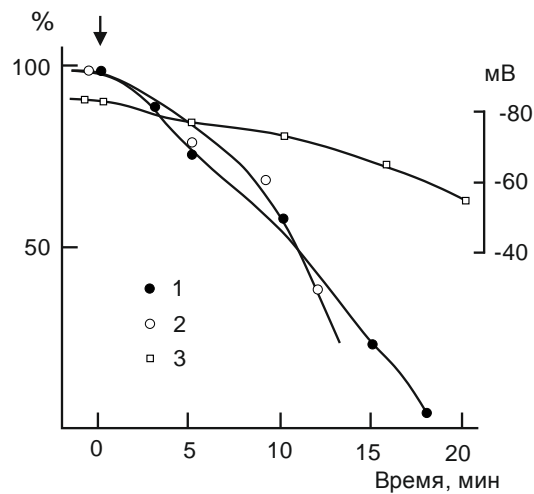


Рис. 11.21. Кинетика пресинаптических изменений в нервно-мышечном препарате лягушки, вызванных действием  $1.8 \cdot 10^{-8}$  М ориентотоксина: 1 – квантовый состав потенциалов концевой пластинки; 2 – частота спонтанных миниатюрных потенциалов концевой пластинки; 3 – мембранный потенциал мышечного волокна. Стрелкой указан момент добавления ориентотоксина (Туйчибаев и др., 1984)

Кроме нейротоксинов, яды ос содержат полипептиды, представляющие терапевтический интерес для неврологии. Так, из яда бразильских общественных ос *Polybia paulista* выделена низкомолекулярная фракция, которая в дозах 70, 210 и 350 мкг/животное при предварительном (за 10 мин) внутривенном введении в мозг крысам дозозависимым образом защищала ( $ED_{50}$   $314.75 \pm 0.08$  мкг/животное) от судорожного действия, вызванного последующим подкожным введением судорожного агента пентилентеразола в дозе 105 мг/кг. Кроме того, эта фракция снижала уровень тревоги при нахождении экспериментальных животных в лабиринте (анксиолитическое действие). Существенно, что противосудорожное действие токсинов *Polybia paulista* хотя и сопровождалось седацией, но значительно менее выраженной, чем при применении диазепама.

### 11.3.3. Семейство Пчелы настоящие (Apidae)

Пчёлы настоящие (Apidae) – семейство пчёл подотряда Стебельчатобрюхие отряда Перепончатокрылые насекомые. Включает около 170 родов и более 5000 видов. К этому семейству относятся одиночные (например пчелы-плотники, Хулосора), общественные (например шмели, *Vombus* и медоносные пчелы, *Apis*), а также паразитические формы. Согласно принятой в настоящее время классификации, к семейству Apidae относятся все длинноязычковые пчелы, кроме тех, что принадлежат к семейству Megachilidae. Самки гнездостроящих видов собирают пыльцу главным образом на волоски, расположенные на задних ногах (у мегахилид собирающий аппарат расположен на нижней поверхности брюшка). Гнезда строят в почве, в древесине или сооружают свободные постройки. Например, шмели могут строить гнезда под сухими листьями, мхом, травой, в норах мышей, в дуплах деревьев и других укрытиях; пчёлы-плотники гнездятся в мертвой

древесине. Некоторые виды пчел из семейства Apidae ведут сумеречный образ жизни. Пчелы – важнейшие опылители цветковых растений и поставщики пищевого меда. Представители сем. Apidae – это всем известная медоносная пчела, шмели, а также по новой классификации семейство включает все роды из бывших семейств пчёл Anthophoridae (Nomadinae и Xylocopinae) и Stenoplectridae.

Яд, вырабатываемый рабочими особями медоносной пчелы (*Apis mellifera Linnaeus, 1758*) – один из первых объектов зоотоксикологических исследований. Несмотря на то, что человечество с древнейших времен использовало такой важный продукт пчеловодства как пчелиный яд с лечебными целями, строго научные сведения о его химическом составе стали появляться только в 50-е годы прошлого столетия. В настоящее время пчелиный яд – один из наиболее подробно изученных объектов зоотоксикологии.

### 11.3.3.1. Ядовитый аппарат

Ядовитый аппарат состоит из сложноустроенного жала, а также кислой и щелочной желез. Как и у всех перепончатокрылых, ядовитые железы пчел являются гомологами придаточных желез женского полового аппарата. В пределах надсемейства Apoidea соотношение размеров обеих желез может быть различным. Исходные железы имели, по всей видимости, приблизительно равную длину и обе были неразветвленные (у Megachile). В дальнейшем то одна, то другая из них испытывали изменения как за счет удлинения, так и за счет дополнительного ветвления при одновременном уменьшении другой. У медоносной пчелы, в частности, щелочная железа значительно короче кислой. У шмеля кислая железа более разветвлена (рис. 11.22).

Считается, что эффект ужаления обусловлен поступлением в рану смеси секретов обеих желез. Вместе с ядом пчела вводит в жертву смесь изоамилацетата, изоамилпропионата и изоамилбутирата, являющихся аттрактантами и привлекающими к данному объекту других пчел.

Строение жалящего аппарата пчел сходно со строением у других перепончатокрылых (см. рис. 11.4Г). От переднего конца треугольной пластины Lam<sub>1</sub> отходит эластичный стержень, образующий дугу колющей щетинки Rh<sub>1</sub> и непосредственно переходящий в саму колющую щетинку Val<sub>1</sub>. Дистальная часть ее зазубрена. От продолговатой пластинки отходит эластичная дуга салазок Rh<sub>2</sub>, которая идет параллельно Rh<sub>1</sub> и тесно с ними соприкасается. Парные дуги салазок переходят в салазки жала, представленные у пчел слившимися непарными образованиями и заканчивающимися заостренным стилетом салазок Val<sub>2</sub>. По особым выступам на вентральной поверхности салазок, как по рельсам, скользят парные колющие щетинки Val<sub>1</sub>. Проток ядовитого пузырька открывается в основание луковицы салазок Bulb. В проксимальной части каждой колющей щетинки Val<sub>1</sub> имеются поперечные отростки Val<sub>1t</sub>, расположенные внутри луковицы, и при движении они служат поршнями, проталкивающими секрет через канал, образованный между Val<sub>1</sub> и Val<sub>2</sub>. При ужалении пчела круто изгибает конец брюшка книзу и наносит удар жалом, в результате чего стержень жала, состоящий из непарного стилета Val<sub>2</sub> и парных колющих щетинок Val<sub>1</sub>, погружается в покровы тела жертвы. Вслед за этим начинаются поочередные движения колющих щетинок за счет согласованных сокращений мышц m<sub>18</sub> и m<sub>17</sub>. При сокращении m<sub>18</sub> квадратная пластинка Trg IX давит на треугольную пластинку Lam<sub>1</sub>, заставляя ее вращаться

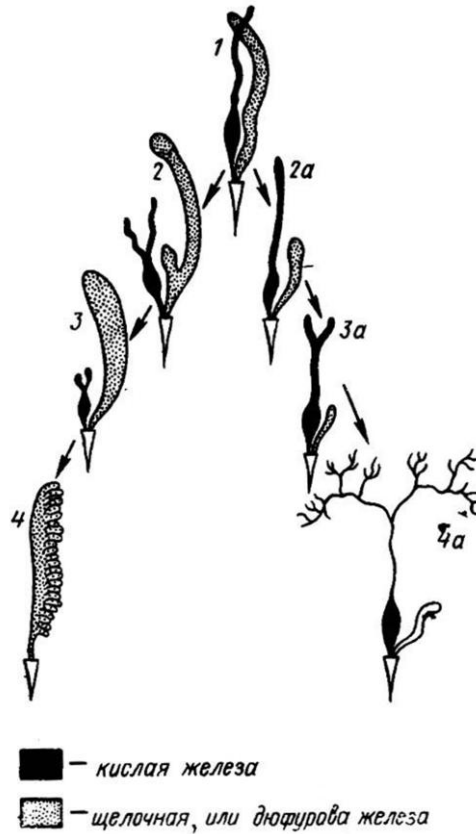


Рис. 11.22. Эволюция ядовитых желез у перепончатокрылых (Павловский, 1963): 1 – мегахила *Megachile sericans*; 2 – галикт *Halictus sexcinctus*; 3 – андрена *Andrena hatorfiana*; 4 – пчела-подалирий *Podalirius quadrifasciata*; 2а – осмия *Osmia pinulosa*; 3а – пчела медоносная *Apis mellifera*; 4а – шмель *Bombyx distinguendus*

вокруг точки сочленения *b* и тем самым выдвигает колющую щетинку за салазки жала. При сокращении  $m_{17}$  пластинка  $Lam_1$  поворачивается вокруг точки *b* в обратную сторону и втягивает колющую щетинку назад. Зазубрины на колющих щетинках фиксируют их в эластичной коже млекопитающих, поэтому сокращение  $m_{17}$  ведет не к втягиванию валию  $Val_1$ , а к дальнейшему углублению стилета в кожу. Так, последовательно вонзая правую и левую щетинки и подтягивая в промежутках весь стержень жала, пчела все глубже погружает жало в тело жертвы. Сразу же после ужаления пчела инстинктивно пытается улететь, однако жало вместе с ядовитыми железами и последним ганглием брюшной нервной цепочки остается в коже и продолжает работать автоматически. Пчела, потерявшая жало, погибает. Каков же биологический смысл этого явления? Полагают, что наличие зазубрин на колющих щетинках не может играть решающей роли, так как у общественных ос также имеются зазубрины на жале, но они не отрывают его при ужалении млекопитающих. По-видимому легкость, с какой пчела отрывает свой жалящий аппарат, не является примитивным признаком. Скорее это прогрессивное приспособление, позволяющее целью гибели отдельных особей повысить эффективность ужаления, что является полезным для пчелиной семьи в целом.

### 11.3.3.2. Клиника отравления

Отравление может протекать в виде интоксикаций, вызванных множественными ужалениями пчел, а также носить аллергический характер. Аллергические реакции на пчелиный яд наблюдаются у 0.5–2% людей. У сенсibilизированных индивидуумов резкая реакция вплоть до анафилактического шока может развиваться в ответ на одно ужаление. Так же как и при ужалениях осами, профилактические меры сводятся к повышению титра иммуноглобулинов G путем иммунизации экстрактом из тела пчел или очищенным ядом. В последнем случае лучшие результаты получаются при использовании не нативного яда, а его нерастворимой формы, получаемой при иммобилизации белков яда на высокомолекулярном носителе, например полимеризованном глутаральдегиде. В случае развития тяжелых аллергических состояний применяется противошоковая терапия квалифицированным медицинским персоналом. Множественные ужаления пчелами наблюдаются, как правило, вблизи ульев, когда по тем или иным причинам провоцируется инстинкт защиты гнезда. Не последнюю роль могут играть резкие запахи (духи, одеколон и т.д.), действующие на пчел как аттрактанты. Клиническая картина зависит от количества ужалений, их локализации, функционального состояния организма. Как правило, на первый план выступают местные симптомы: резкая боль, отеки. Последние особенно опасны при поражении слизистых оболочек рта и дыхательных путей, так как могут привести к асфиксии. При попадании массивных доз яда в организм наблюдаются поражения внутренних органов, особенно почек, участвующих в выведении яда и токсических метаболитов из организма. В литературе описаны случаи, когда для восстановления функции почек приходилось применять неоднократный гемодиализ. Первая помощь сводится к удалению жала из кожных покровов; рекомендуется промыть пораженный участок кожи раствором этилового или нашатырного спирта. Хороший эффект дают противогистаминные препараты, однако в тяжелых случаях необходимо обращаться за медицинской помощью.

### 11.3.3.3. Химический состав и механизмы действия яда

Общеизвестно, что ужаление даже одной пчелы весьма болезненно, а множественные ужаления (нападение роя и т.д.) могут привести к смертельному исходу. С другой стороны, пчелиный яд, так же как и яд ос, – сильный аллерген, и это еще в большей степени осложняет клиническую картину отравления. Расшифровка химического состава пчелиного яда во многом способствовала пониманию его поражающего действия. Биологически активные вещества, входящие в состав пчелиного яда, принято делить на несколько групп.

Первая из них – это белки с ферментативными свойствами, среди которых наибольшее патогенетическое значение имеют фосфолипаза A<sub>2</sub>, гиалуронидаза и кислая фосфатаза. Следующую группу составляют токсические полипептиды: мелиттин, апамин, MCD-пептид, тертиапин, секапин. В качестве минорных компонентов присутствуют гистаминсодержащие пента- и тетрапептиды, например прокамин. Третья группа включает биогенные амины – гистамин и в незначительных количествах дофамин и норадреналин. Сравнительно недавно в пчелином яде были обнаружены α-глюкозидаза, фосфомоноэстераза, β-галактозидаза и некоторые другие ферменты. Однако следует учитывать, что ферментный состав яда

существенно зависит от способа его получения – электростимуляцией или экстракцией из ядовитых пузырьков. В последнем случае могут быть загрязнения.

Химический состав яда изменяется с возрастом пчелы. Так, наибольшее количество мелиттина секретируется на 10-й день, а гистамина – на 35–40-й день. Уровень гиалуронидазы существенно не меняется в интервале 2–40 дней жизни. По-видимому, наличие механизма секреции мелиттина в первые дни жизни рабочей пчелы отражает ее биологическую специализацию – охрану гнезда от беспозвоночных, так как их ужаление проходит без аутомии жала. У пчел-фуражиров на склоне их жизни вырабатывается больше гистамина – аллогенного агента, направленного против позвоночных, так как их ужаление приводит к гибели пчелы. Таким образом, биологическая целесообразность выработки у молодых пчел мелиттина в первые дни жизни позволяет этим особям затем принести пользу в качестве фуражиров, а некоторым из них погибнуть, защищая гнездо.

**Фосфолипаза A<sub>2</sub>** пчелиного яда состоит из 129 аминокислотных остатков, ее молекулярная масса 14629 Да (рис. 11.23). Молекула может быть ковалентно связана с остатками углеводов (глюкозамина или ацетилглюкозамина и маннозы). В молекуле 12 остатков цистеина, однако отсутствие сульфгидрильных групп указывает на то, что все остатки цистеина взаимосвязаны дисульфидными мостиками. Содержание фосфолипазы в яде пчелы составляет 12%, это щелочной фермент с pI = 10. Фосфолипаза A<sub>2</sub> гидролизует фосфолипиды с образованием цитоликта лизолецитина, который лизирует мембраны многих клеток, в том числе эритроциты, тучные клетки, вызывая соответствующие патологические эффекты. Поэтому фосфолипазу A<sub>2</sub> иногда называют «непрямым» гемолизином.

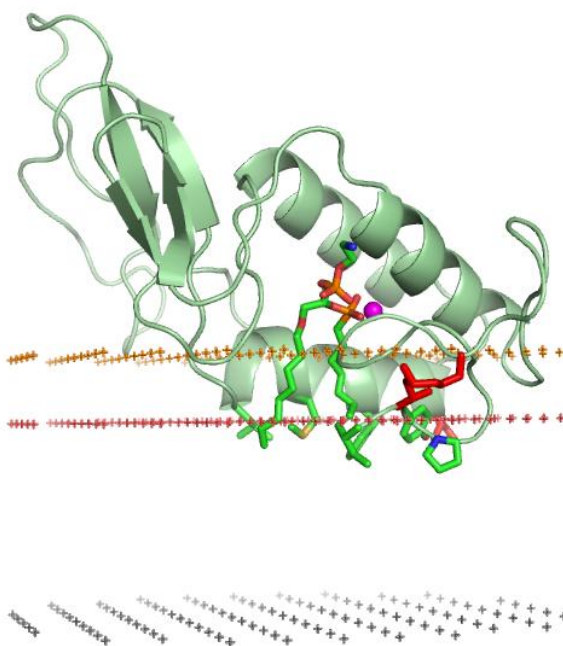


Рис. 11.23. Фосфолипаза A<sub>2</sub> пчелиного яда во внеклеточном пространстве вблизи липидного бислоя. Полярные группы фосфолипидов находятся между жёлтой и красной плоскостями. Неполярные ацильные цепи – между красной и чёрной плоскостями (Wikipedia Commons)

Так же, как и некоторые другие фосфолипазы животных ядов (например, яда кобры), фосфолипаза A<sub>2</sub> пчелиного яда обладает нейротропными свойствами и нарушает процесс высвобождения медиаторов из пресинаптических терминалей. В составе целого яда она действует синергично с цитотоксическими компонентами (например мелиттином), модифицируя клеточные мембраны.

**Гиалуронидаза** пчелиного яда по своим свойствам сходна с ферментами, полученными из других источников, однако оптимум pH для нее лежит в более кислой области (pH 4–5). Фермент катализирует гидролиз гиалуроновой кислоты (компонента основного вещества соединительной ткани), чем способствует распространению других биологически активных веществ яда в организме. Гиалуронидаза пчелиного яда – гликопротеин, в ее состав входят манноза, галактоза и фукоза в соотношении 4:1:1. Углеводная субъединица связана с белком N-гликозидным мостиком через аспарагин и N-ацетилглюкозамин. Молекулярная масса фермента (по разным источникам) 35000–53000 Да.

**Кислая фосфатаза** содержится в пчелином яде в небольшом количестве, но так же, как и фосфолипаза, и гиалуронидаза, играет важную роль в антигенных свойствах яда. Молекулярная масса кислой фосфатазы – 49000 Да.

**Мелиттин** – основной компонент пчелиного яда, содержание его в целом яде достигает 50%. Это сильный цитолитический полипептид, состоящий из 26 аминокислотных остатков. Мелиттин является амфифильным α-спиральным пептидом. У разных видов пчел существуют некоторые различия в первичной структуре мелиттина (табл. 11.7), однако в целом N-концевая последовательность между позициями 1–20 имеет гидрофобный характер, а C-концевой сегмент между позициями 21–26 – гидрофильный. Молекула мелиттина не имеет серосодержащих аминокислот и, следовательно, лишена дисульфидных связей.

Таблица 11.7

Первичная структура мелиттинов некоторых видов пчел

Вид пчелы	Первичная структура мелиттина
<i>A. mellifera</i>	H <sub>2</sub> N-GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-CONH <sub>2</sub>
<i>A. cerana</i>	H <sub>2</sub> N-GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-CONH <sub>2</sub>
<i>A. dorsata</i>	H <sub>2</sub> N-GIGAILKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-CONH <sub>2</sub>
<i>A. florea</i>	H <sub>2</sub> N-GIGAILKVLATGLPTLISWIKNKRKQ-CONH <sub>2</sub>

Мелиттин способен убивать клетки прокариотических организмов, а также лизировать все форменные элементы крови и клетки различных тканей эукариот. Отметим, что мелиттиноподобные пептиды, обладающие антимикробным действием, в то же время, по сравнению с цекропин<sup>86</sup>-подобными пептидами,

<sup>86</sup> Впервые антимикробные пептиды цекропины (англ. cecropin) были выделены из геволимфы гусениц шелкопряда *Hyalophora cecropia*. Антимикробные пептиды действуют на заряженную отрицательно внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий. На поверхности этой мембраны находятся катионы магния, которые нейтрализуют отрицательный заряд на поверхности мембраны. Антимикробные пептиды вытесняют эти ионы и ли-

являются более активными гемолитиками. Цитолитическая активность мелиттина связана с его способностью формировать в мембранах поры с использованием амфифильной  $\alpha$ -спирали, образуемой двумя участками молекулы (остатками 1–10 и 13–26). В зависимости от вида жирно-кислотных остатков, включенных в фосфолипиды, образующие бислой, а также от его фазового состояния и соотношения концентраций пептид:липид, мелиттин связывается либо преимущественно параллельно плоскости мембраны, не образуя при этом поры, либо в перпендикулярной ориентации с образованием в дальнейшем трансмембранных пор. В последнем случае молекулы мелиттина собираются вместе посредством взаимодействия «спираль–спираль». Амфипатическая структура мелиттина обеспечивает эффективность его взаимодействия с фосфолипидами биомембран. Гидрофобная часть молекулы «заякоревает» ее в липидной мембране, тогда как гидрофильный сегмент остается в липидно-водной фазе. При этом гидрофильная сторона спиралей направлена внутрь поры, а гидрофобная экспонирована в гидрофобную часть липидного бислоя. Диаметр пор, формируемых мелиттином, зависит от его концентрации и составляет 1–1.3 и 2.5–3 нм при соотношениях молярных концентраций токсин:липид 0.01 и 0.04 соответственно. Примерно 6–7 и 10–15 спиралей необходимы для образования пор с такими диаметрами. Такого рода поры, в которых внутренняя полость сформирована только белковыми мономерами, принято называть «бочкообразными». В более поздних исследованиях показано, что мелиттин, скорее всего, способен образовывать так называемые тороидальные поры, при формировании которых происходит инвагинация внешнего монослоя бислойной мембраны так, что гидрофильные головки липидного бислоя участвуют в формировании поры и оказываются направлены внутрь нее (рис. 11.24). Участие липидов мембраны в формировании тороидальных пор приводит к тому, что поры, образованные 4–8 мономерами мелиттина, имеют внутренний диаметр 3.5–4.5 нм и внешний диаметр 7–8 нм.

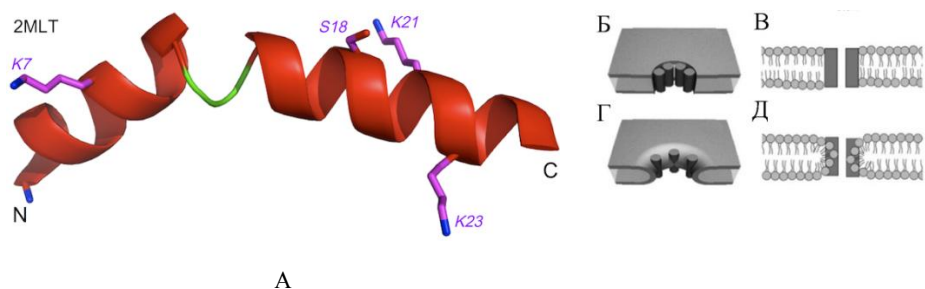


Рис. 11.24. Мелиттин. А – Ribbon-изображение мелиттина (Wikipedia Commons). Б–Д – пора, образованная  $\alpha$ -порообразующим полипептидом мелиттином и липидами; схематичное изображение «бочкообразной» поры в липидном бислое; Б – вид сверху; В – вид сбоку; схематичное изображение тороидальной поры: Г – вид сверху; Д – вид сбоку. Мономеры белка изображены в виде темных цилиндров (Б, Г) и в виде темных прямоугольников (В, Д) (Андреева-Ковалевская и др., 2008)

бо прочно связываются с отрицательно заряженным липополисахаридом, либо нейтрализуют отрицательный заряд на поверхности мембраны, нарушают ее структуру и проникают внутрь периплазматического пространства.

В нативном яде содержится 90% мелиттина с молекулярной массой 2840 со свободной  $\text{NH}_2$ -группой и 10% – в виде  $\text{N}_1$ -формил-мелиттина. В растворах с низкой ионной силой он присутствует в виде мономера, в растворах с высокой ионной силой – тетрамера. Подобным образом мелиттин взаимодействует с мембранами многих клеток, вызывая широкий спектр физиологических реакций. Среди них наиболее известны уже упоминавшийся прямой гемолиз отмытых эритроцитов, высвобождение гистамина из тучных клеток и др. Модифицирующее действие мелиттина на фосфолипидный матрикс ведет к увеличению текучести мембраны и тем самым изменяет активность мембраносвязанных ферментов, например АТФазы эритроцитов, гуанилатциклазы и др. Так, обработка мелиттином микросомальной фракции печени крысы приводит к увеличению активности только мембраносвязанной формы гуанилатциклазы (рис. 11.25). Специфика действия мелиттина заключается в том, что в данных методических условиях он практически не оказывает влияния на растворимую форму фермента.

Установление этого факта во многом проливает свет на физиологические эффекты мелиттина, поскольку циклические нуклеотиды (цАМФ и цГМФ) являются теми посредниками, с помощью которых воздействия на мембрану клетки трансформируются в изменение внутриклеточного метаболизма. Физиологические свойства мелиттина во многом определяются своеобразием его химической структуры.

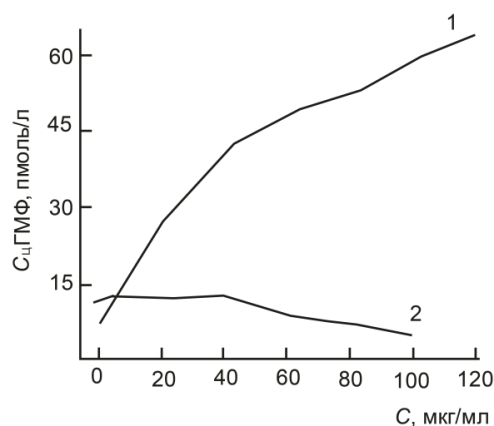


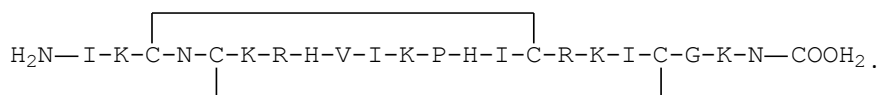
Рис. 11.25. Влияние мелиттина из яда пчелы *Apis mellifera* на активность гуанилатциклазы в микросомальной (1) и растворимой (2) фракциях печени крысы (Lad, Shier, 1979)

В ряде лабораторий проведен синтез мелиттина, а также изучены основные стадии биосинтеза мелиттина в ядовитой железе пчелы.

Следует отметить ведущиеся исследования по адресной доставке мелиттина в патологическую ткань. Так, создана гибридная молекула синтетического интерферона – альфа-пептоферона и мелиттина, в которой сочетаются «адресные» свойства пептоферона к клеточным рецепторам и функциональные – цитотоксические свойства мелиттина. Изучение рецепторной и цитотоксической активностей синтезированного гибридного пептида дало следующие результаты: во-первых, он обладал способностью к специфическому связыванию с мышинными тимоцитами и, во-вторых, по тесту с трипановым синим оказал токсическое действие на эти клетки, в концентрационном отношении сравнимое с аналогичным эффектом мелиттина.



**MCD-пептид** – пептид, дегранулирующий тучные клетки, состоит из 22 аминокислотных остатков и имеет две дисульфидные связи. В молекуле 7 основных аминокислот, и при pH = 12 MCD-пептид в 10–100 раз (на разных объектах) активнее мелиттина высвобождает гистамин из тучных клеток. Последовательность аминокислот в MCD-пептиде имеет следующий вид:



При использовании в дозах больших, чем необходимо для дегрануляции тучных клеток, MCD-пептид оказывает противовоспалительное действие, причем его активность на экспериментальных моделях воспаления превышает в 100 раз действие гидрокортизона. Подобное различие в свойствах молекулы пептида представляет большой интерес. Следует отметить, что противовоспалительное действие пчелиного яда вначале связывали с действием так называемого пептида 401, который после установления его аминокислотной последовательности оказался идентичным MCD-пептиду. Химическая модификация остатков лизина, гистидина и аргинина показала, что они играют различную роль в обеспечении гистаминлибераторного и противовоспалительного действия пептида. Так, дегрануляция тучных клеток связана с активностью остатков лизина, а противовоспалительное действие – с наличием остатков аргинина и лизина.

**Апамин** – октадекапептид пчелиного яда с молекулярной массой 2027.34 Да, обладающий нейротропными свойствами. В сухом пчелином яде содержится 2–3% апамина. Он, по-видимому, – один из самых маленьких полипептидных нейротоксинов природного происхождения. Апамин имеет следующую первичную структуру (рис. 11.26):

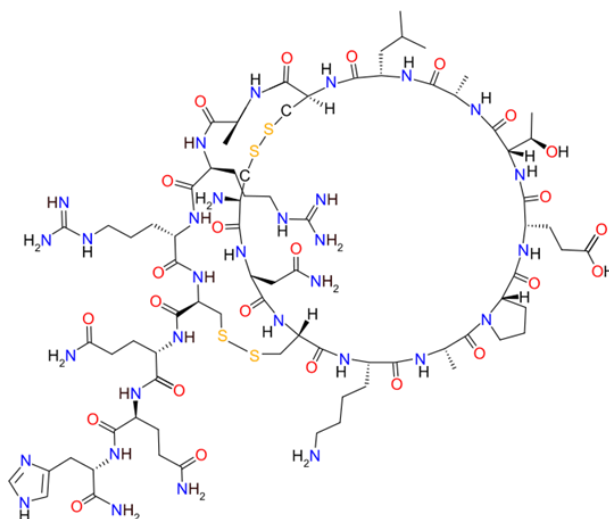
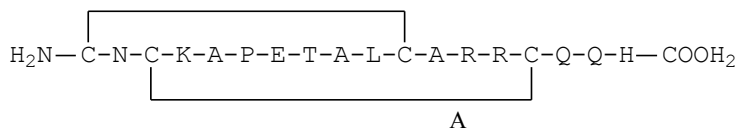


Рис. 11.26. Первичная (А) и пространственная (Б) структуры апамина

Токсичность апамина при внутривенном введении мышам невысока –  $DL_{50}$  4 мг/кг. Однако при введении в желудочки мозга его токсичность может возрасти в 1000–10000 раз. Центральное нейротропное действие апамина выражается в развитии длительного (до 48 ч) тремора, охватывающего произвольную мускулатуру тела. При введении летальных доз смерть наступает в условиях генерализованных судорог, охватывающих и дыхательную мускулатуру. Электрофизиологические наблюдения показали, что апамин вызывает у спинальных кошек увеличение амплитуды моносинаптических разгибательных и полисинаптических сгибательных рефлексов.

Токсичность апамина обусловлена несколькими аминокислотными остатками: Цис-1, Лиз-4, Арг-13, Арг-14 и Гис-18. Именно эти аминокислоты участвуют в связывании апамина с  $Ca^{2+}$ -активируемыми  $K^+$ -каналами малой проводимости (SK-каналы<sup>87</sup>) в центральной нервной системе. Эти каналы отвечают за следовую гиперполяризацию, следующую за потенциалом действия. Из известных типов SK-каналов апамин блокирует только каналы SK2 и SK3, тогда как каналы SK1 являются нечувствительными к апамину. SK-каналы присутствуют в различных возбудимых и невозбудимых клетках, включая клетки ЦНС, миоциты кишечника, эндотелиальные клетки и гепатоциты. В этих же структурах обнаружены участки связывания апамина, но их нет в гигантском аксоне кальмара. Использование меченого  $^{125}I$ -апамина позволило идентифицировать белковый олигомерный компонент  $Ca^{2+}$ -зависимого калиевого канала, молекулярная масса которого за вычетом молекулярной массы апамина составила около 28 кДа. Белок канала состоит из 438 аминокислот, содержит 4 трансмембранных домена, участок связывания ионов  $Ca^{2+}$ , участок фосфорилирования протеинкиназой С и не имеет последовательностей, гомологичных известным ионным каналам и рецепторам. Блокирование  $Ca^{2+}$ -зависимого калиевого канала вызывает два заметных изменения ПД нервных окончаний. Во-первых, увеличение длительности ПД, сопровождающееся усилением входящего  $Ca^{2+}$ -тока; во-вторых, исчезновение следовой гиперполяризации в течение нескольких миллисекунд после ПД. Первый эффект объясняется выключением быстрого  $Ca^{2+}$ -зависимого калиевого тока, второй – медленного. Используя антитела к апамин-связывающему белку в ряде препаратов, включая синапсомы мозга, клонировали кодирующий его ген.

Специфичность взаимодействия апамина с SK-каналами используется в биомедицинских исследованиях при изучения электрических свойств SK-каналов и их роли в следовой гиперполяризации, развивающейся сразу же после потенциала действия. Апамин представляет интерес и в неврологии, поскольку известно, что блокаторы SK-каналов рассматриваются как терапевтические агенты при болезни Паркинсона, сопровождающейся истощением запасов дофамина. В то же время при блокировании SK-каналов активируются дофаминергические нейроны среднего мозга. Таким образом, апамин может опосредованно увеличивать содержание дофамина. SK-каналы рассматриваются также как мишени при лечении эпилепсии, эмоциональных расстройств, шизофрении. Недавние исследования показали, что SK-каналы не только регулируют следовую гиперполяризацию, но и влияют на синаптическую пластичность<sup>88</sup>. Полагают, что апамин может влиять на

---

<sup>87</sup> Выделяют  $Ca^{2+}$ -активируемые  $K^+$ -каналы большой и малой проводимости. Каналы большой проводимости (BK-каналы) имеют проводимость более 200 пСм, каналы малой проводимости (SK-каналы) – менее 100 пСм.

<sup>88</sup> Синаптическая пластичность – это возможность изменения силы синапса (изменения трансмембранного потенциала) в ответ на активацию постсинаптических рецепторов. Она

эти процессы путем ингибирования SK-каналов. Показано, что апамин повышает способность к обучению и улучшает память у крыс и мышей, что открывает перспективу его использования при лечении расстройства памяти и когнитивной дисфункции. Ограничением является токсичность апамина, снижающая широту его терапевтического эффекта.

**Минорные компоненты пчелиного яда.** К ним относятся тертиапин, секапин, прокамин, кардиопеп – минорные полипептидные компоненты пчелиного яда, выделение и идентификация которых затрудняются их малым количеством в целом яде. Тем не менее, структура некоторых из этих полипептидов установлена. Так, *тертиапин* (рис. 11.27) представляет собой полипептид, состоящий из 21 остатка аминокислот.



Рис. 11.27. Первичная структура тертиапина (Овчинников и др., 1980)

Расположение дисульфидных связей предполагается между остатками Цис3 и Цис14, Цис5 и Цис18. Тертиапин обладает выраженным пресинаптическим действием на нервно-мышечный препарат лягушки (рис. 11.28). Уже через 5–10 мин после добавления тертиапина наблюдается снижение частоты МПКП, которое не устраняется отмыванием. Одновременное снижение квантового состава потенциала концевой пластинки, то есть вызванного нервным импульсом, под влиянием тертиапина было выражено гораздо слабее (рис. 11.28). Особенностью тертиапина является независимость его пресинаптического действия от содержания кальция в среде. Тертиапин ингибирует  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающий белок кальмодулин, регулирующий активность большого числа  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых ферментов (например фосфоэстеразы). При связывании двух молекул тертиапина с одной молекулой кальмодулина последний полностью теряет способность активировать ферменты. Поскольку кальмодулин участвует в процессах выделения нейромедиаторов, пресинаптическое блокирующее действие тертиапина может быть связано с ингибированием кальмодулина.

*Секапин* при введении мышам в дозе 80 мг/кг вызывает седативный эффект, гипотермию и пилоэрекцию.

Среди других минорных компонентов пчелиного яда можно указать гистамин-содержащий пептид *прокамин* – Ала–Гли–Глн–Глн–гистамин и *кардиопеп* – компонент пчелиного яда, вызывающий усиление деятельности сердца.

**Шмели (Триба *Vombini*, *Bombus Latreille*, 1802)** – род перепончатокрылых насекомых из семейства настоящих пчёл (*Apidae*), во многих отношениях близкий медоносным пчёлам, но в отличие от *Apis mellifera* семья шмелей существует только один сезон. Они составляют около половины всех пчелиных средневропейской зоны. Известны около 300 видов шмелей, обитающих в Северной

---

считается основным механизмом, с помощью которого реализуется феномен памяти и обучения. Этот механизм характерен для всех организмов, обладающих нервной системой и способных хотя бы ненадолго чему-либо научиться. После выброса нейротрансмиттера в синаптическую щель он активирует рецепторы постсинаптической клетки, что приводит к передаче нервного импульса или его ослаблению (в зависимости от природы рецепторов и нейротрансмиттера). По продолжительности действия выделяют кратковременную и долговременную пластичность, по характеру – депрессию и потенциацию; таким образом, существуют четыре вида синаптической пластичности.

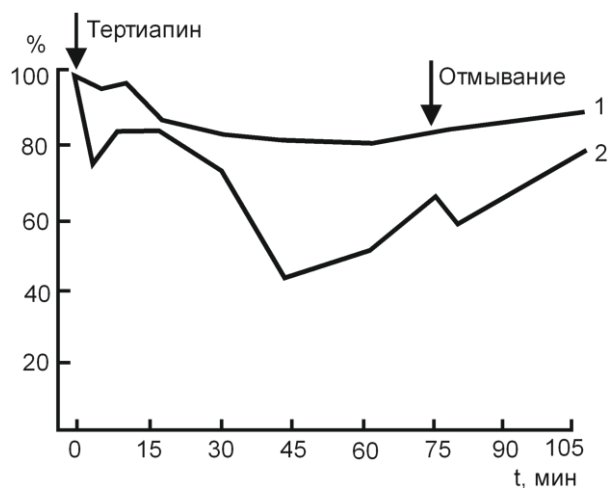
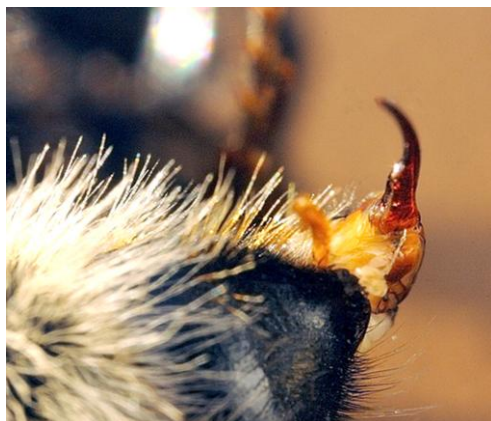


Рис. 11.28. Влияние тертиапина (5 мкг/мл) из яда пчелы *Apis mellifera* на квантовый состав ПКП (1) и частоту МПКП (2) нервно-мышечного препарата лягушки (Овчинников и др., 1980); стрелками показаны моменты добавления в среду тертиапина и его отмывания физиологическим раствором

Евразии, Северной Америке, Северной Африке, а также в горах некоторых других регионов. Средних и крупных размеров перепончатокрылые: самка длиной от 13 до 28, а самец – от 7 до 24 мм. Шмели – одни из самых холодостойких насекомых: они способны, быстро и часто сокращая мышцы груди, ускоренно разогреть своё тело до необходимых 40°C. Это позволяет им вылетать рано утром и собирать первый нектар, когда воздух ещё недостаточно прогрелся. К тому же быстрое повышение температуры тела даёт шмелям определённое конкурентное преимущество перед другими видами насекомых. Шмели – общественные насекомые. У них имеется разделение самок на более крупных плодящих маток и мелких бесплодных рабочих, выполняющих все основные работы в гнезде. Обычно в крупных шмелиных гнёздах бывает 100–200 особей. Гнездо устраивают в почве, подстилке, дуплах, брошенных гнёздах грызунов или птиц. Шмелям принадлежит значительная роль в опылении различных растений. Шмели имеют хозяйственное значение как опылители. Для опыления овощей в теплицах и оранжереях могут быть использованы шмелиные семьи. Ядовитый аппарат характерен для перепончатокрылых и представлен кислой и щелочной железами, ядовитым мешочком и жалом, которое лишено зазубрин (рис. 11.29).

Имеются данные о присутствии в яде шмелей фосфолипаз А и В, гистамина, ацетилхолина и серотонина, то есть компонентов, обычно встречаемых в яде перепончатокрылых. Но основными компонентами яда шмелей являются бомболитины, фосфолипаза А<sub>2</sub>, а также сериновые протеазы и ингибиторы сериновых протеаз. Бомболитины – это пять структурно родственных гептадекапептидов, богатых гидрофобными аминокислотами; были обнаружены в яде шмеля *Megabombus pennsylvanicus* и получили название бомболитинов (рис. 11.30).



А



Б

Рис. 11.29. Ядовитый аппарат *Bombus terrestris*:

А – жало и ядовитый мешочек;  
Б – препарированный ядовитый аппарат  
(Wikipedia Commons)

Бомболитин I	I-K-I-T-T-M-L-A-K-L-G-K-V-L-A-H-V-NH <sub>2</sub>
Бомболитин II	S-K-I-T-D-I-L-A-K-L-G-K-V-L-A-H-V-NH <sub>2</sub>
Бомболитин III	I-K-I-M-D-I-L-A-K-L-G-K-V-L-A-H-V-NH <sub>2</sub>
Бомболитин IV	I-N-I-K-D-I-L-A-K-L-V-K-V-L-G-H-V-NH <sub>2</sub>
Бомболитин V	I-N-V-L-G-I-L-G-L-L-G-K-A-L-S-H-L-NH <sub>2</sub>

Рис. 11.30. Бомболитины из яда шмеля

Наиболее близки по первичной структуре бомболитины I–III. Они лизируют эритроциты и липосомы, высвобождают гистамин из перитонеальных тучных клеток. Бомболитин V эффективнее мелиттина лизирует эритроциты морской свинки (ED<sub>50</sub> 0.7 мкг/мл) и в 6 раз эффективнее мастопарана в отношении дегрануляции тучных клеток, что делает его одним из наиболее мощных MCD-пептидов (EC<sub>50</sub> 2 мкг/мл). Бомболитины являются уникальным структурным классом пептидов, поскольку они имеют те же биологические характеристики, что и мелиттин из пчелиного яда, мастопаран из яда ос, крабролин из яда шершней, но в

то же время отличаются от них по аминокислотной последовательности. Возможно, этот феномен объясняется их общей амфифильной<sup>89</sup> природой.

Выделенный из яда *Bombus terrestris* ингибитор сериновых протеаз (Vt-KTI) действует подобно ингибитору плазмина. Vt-KTI состоит из 58 аминокислотных остатков и подобен ингибиторам Кунитц-типа из змеиных ядов. Рекомбинантный Vt-KTI также имел характеристики, близкие к трипсиновым ингибиторам Кунитц-типа. Vt-KTI не ингибировал фактор Ха, тромбин или тканевой активатор плазминогена. Однако Vt-KTI оказывал сильное ингибирующее действие на плазмин, демонстрируя тем самым свою антифибринолитическую активность.

Яд *Bombus morrisoni* в концентрациях 0,5, 1 и 2 мкг/мл на изолированном перфузируемом сердце жабы вызывал брадикардию и увеличение P–R интервала в течение 30 мин по данным ЭКГ. Более высокие дозы приводили к остановке сердца. Яд также вызывал увеличение R-зубца, свидетельствующее о положительном инотропном эффекте. Применение кальциевого блокатора верапамила купировало действие яда. Яд шмеля вызывал также депрессию сегмента S–T, что свидетельствовало о симптомах ишемии и инфаркта миокарда. Однако применение атропина и никотина ослабляло токсические эффекты яда. В экспериментах на кошках и крысах яд земляного шмеля *Bombus terrestris* в дозе 100 мкг/кг при внутривенном введении вызывал гипотензивную реакцию, которая блокировалась атропином и димедролом. В более высоких дозах (500 мкг/кг) яд вызывает нарушения в деятельности сердца.

#### 11.3.4. Семейство Ампулициды (Ampulicidae)

Ampulicidae – семейство ос подотряда Стебельчатобрюхие отряда Перепончатокрылые насекомые. Включает около 6 родов и около 200 видов<sup>90</sup>. Многие имеют блестящую, зелёную или синюю окраску. Наиболее изученным представителем семейства является изумрудная тараканья оса (*Ampulex compressa*) (рис. 11.31).

Встречается в тропических регионах Южной Азии, Африки и на некоторых островах Тихого океана. В 1941 году была завезена на Гавайские острова. Гнездится в полых ветвях. Охотится на тараканов, которых частично парализует и тащит в гнездо, где откладывает на добычу своё яйцо. Для этого жалит таракана (рис. 11.32), после чего он сохраняет способность к передвижению, но не может двигаться самостоятельно. Поскольку таракан не является парализованным, оса захватывает добычу за усики и приводит таракана в гнездо как покорную собаку на поводке, несмотря на заметные различия в размерах<sup>91</sup>. Там оса откладывает на брюшке таракана яйца, запечатывает гнездо и оставляет там послушную добычу.

---

<sup>89</sup> Амфифильность (иначе дифильность) – свойство молекул веществ (как правило органических), обладающих одновременно лиофильными (в частности гидрофильными) и лиофобными (гидрофобными) свойствами. Белки (полипептиды) обладают амфифильными свойствами, так как обычно в их состав входят аминокислоты с гидрофильными и гидрофобными радикалами.

<sup>90</sup> Ранее входило в состав семейства Sphecidae (надсемейства Sphecoidea) в ранге подсемейства.

<sup>91</sup> В работе «Gal R., Libersat F. A parasitoid wasp manipulates the drive for walking of its cockroach prey // Curr. Biol. 2008. Vol. 18. P. 877–882» есть ссылка на фильм, доступный онлайн: [http://www.cell.com/current-biology/supplemental/S0960-9822\(08\)00611-8](http://www.cell.com/current-biology/supplemental/S0960-9822(08)00611-8).



Рис. 11.31. Изумрудная тараканья оса *Ampulex compressa* (Wikipedia Commons)



Рис. 11.32. Нападение изумрудной тараканьей осы *Ampulex compressa* на таракана *Periplaneta americana* (Gal et al., 2005)

Период от момента откладки яиц до окукливания длится около 8 дней, все это время таракан должен оставаться живым, но неподвижным. Появившиеся личинки используют таракана в качестве пищи, а затем окукливаются. Личинки осы питаются тараканом в течение 5 дней, при этом живая жертва не оказывает никакого сопротивления. Через некоторое время из норки выходит новое поколение ос.

Уникальность яда паразитоидной осы *Ampulex compressa*, с помощью которого она манипулирует поведением жертвы, не могла не заинтересовать исследовате-

лей. Действительно, оса не только не парализует, но и оставляет живой добычу, в то же время обеспечивая ее полную пассивность и пригодность для выкармливания потомства.

Оса дважды жалит таракана, сначала в грудной отдел, а затем в голову. Первое ужаление в торакальную область вызывает преходящий паралич передних ног, который длится несколько минут. Этот паралич обусловлен постсинаптическим блокирующим действием компонента яда на центральную холинергическую синаптическую передачу. Ужаление в грудной отдел временно парализует у тараканов передние ноги, что облегчает второе ужаление, которое должно быть более точным и прицельным. Предполагается, что яд вводится непосредственно в головной ганглий с помощью биосенсоров, расположенный на жале. Методами автордиографии показано, что компоненты яда обнаруживаются в головном мозге таракана в надглоточном и подглоточном ганглиях. Длина жала осы составляет около 2.5 мм, чего достаточно, чтобы поразить головные ганглии, которые находятся на глубине 1–2 мм в головной капсуле (рис. 11.33). Введение цельного яда в подглоточный ганглий угнетало локомоцию интактного таракана.

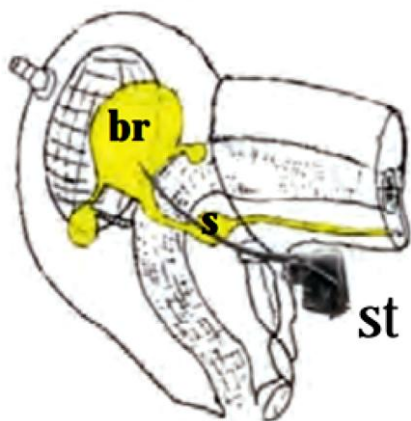


Рис. 11.33. Схема ужаления осой *Ampulex compressa* таракана *Periplaneta americana* в голову (вид сбоку): жало (st) достаточной длины ( $2.5 \pm 0.2$  мм), чтобы поразить надглоточный (br) и подглоточный (s) ганглии. Масштаб 0.5 мм (Gal, 2010)

По-видимому сенсоры жала способны отличить мозговую ткань от окружающих тканей. Во всяком случае, у декапитированных тараканов длительность ужаления возросла не менее чем в 15 раз по сравнению с тараканами с интактным мозгом (рис. 11.34).

Второе ужаление вызывает более продолжительный эффект и отвечает за поздние поведенческие изменения. Поскольку целью осы является обеспечение живой едой своих новорожденных личинок, поведенческие изменения добычи призваны облегчить манипулирование поведением жертвы. Таракан, ужаленный осой в головной мозг, сначала демонстрирует активный груминг, длящийся около 30 минут, а затем у него развивается длительная гипокинезия, продолжающаяся в течение 3–7 дней, во время которой он теряет способность к целенаправленным поведенческим актам, но способен к пассивному передвижению (рис. 11.35).



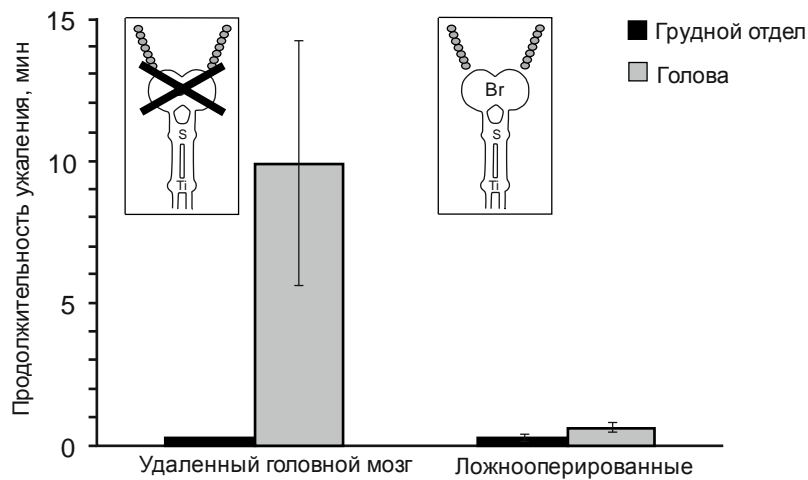


Рис. 11.34. Длительность процесса ужаления в головной мозг и грудной отдел тараканов с интактным и удаленным головным мозгом. У декапитированных тараканов длительность ужаления (нащупывания жалом мозгового вещества) значительно больше при ужалении в голову по сравнению с ужалением в торакс. У тараканов с интактным мозгом эти различия статистически незначимы (Gal et al., 2008)

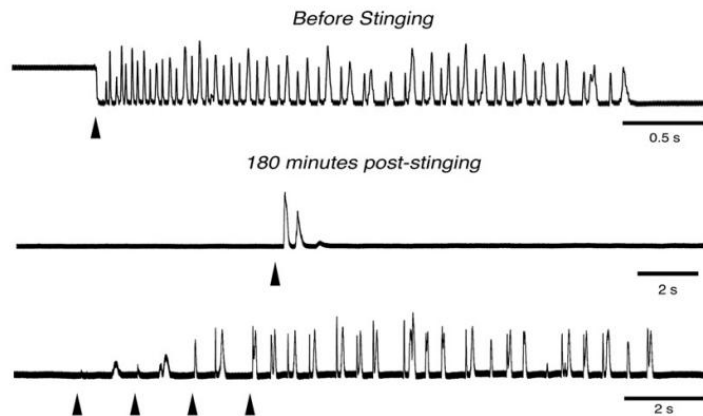


Рис. 11.35. Запись двигательной активности передней ноги таракана до и после ужаления осой *Ampulex compressa*. Верхний трек: двигательная активность в ответ на одиночный тактильный стимул (отмечен стрелкой). Средней трек: спустя 180 мин после ужаления (отсутствие активности на одиночный стимул). Нижний трек: пассивная активность на серию стимулов (оса ведет за собой за усики таракана) (Gal, Libersat, 2008)

Кроме того, оглушенные тараканы живут дольше, теряют меньше воды и потребляют меньше кислорода. Дофамин, содержащийся в яде, по-видимому, вызывает поведенческий груминг. Предполагается, что гипокинезия является следствием влияния яда на аминергические нейроны, расположенные в головном ганглии, которые контролируют грудную нервную цепочку, отвечающую за локомоцию. Показано, что при оглушении таракана повреждается активность

идентифицированных октопаминергических<sup>92</sup> нейронов в торакальном ганглии и, таким образом, модулируется поведение и локомоция таракана. Введение ужаленному таракану агонистов октопамина возвращало способность ему передвигаться по собственной воле. Напротив, введение таракану антагониста октопамина «зомбировало» его, лишая способности к целенаправленному перемещению.

Взаимодействие *Ampulex compressa* с тараканом *Periplaneta americana* не ограничивается нейрхимической модуляцией поведения. Из *P. americana* были выделены грамотрицательные бактерии *Serratia marcescens*<sup>93</sup>, которые являются мощными энтомопатогенами, способными убить личинки насекомых. Впрочем, эти бактерии широко распространены и известны как загрязнители продовольствия и оппортунистические человеческие патогены. Установлено, что личинки *A. compressa* пропитывают своих хозяев тараканов большим количеством ротового секрета, содержащего смесь  $\gamma$ -лактонов и изокумаринов. Эти вещества эффективно тормозят рост *Serratia marcescens*, а также грамположительных бактерий *Staphylococcus hyicus*. По-видимому наличие противомикробных препаратов в личиночной секрети обеспечивает эффективную защиту от непредсказуемого спектра микробов, с которыми могут столкнуться личинки *A. compressa* во время их развития в таракане.

### 11.3.5. Семейство Муравьи (Formicidae)

Муравьи<sup>94</sup> (Formicidae) – семейство насекомых из надсемейства Vespoidea, или выделяется в отдельный таксон надсемейства Муравьиные (Formicoidea) отряда

---

<sup>92</sup> Октопамин ( $\beta$ ,4-дигидроксибензиламин) является эндогенным биогенным амином, тесно связанным с норадреналином и оказывающим влияние на адренергические и дофаминергические системы. Он содержится в составе многих растений, в том числе горьком апельсине. Октопамин был впервые обнаружен в 1948 году в слюнных железах осьминога. Октопамин выступает в качестве медиатора, нейрогормона и нейромодулятора у беспозвоночных. Широко используется у насекомых, ракообразных (крабов, омаров, раков) и пауков при энергозатратной деятельности, такой как полет, яйцекладка и прыжки. Октопамин выступает в качестве эквивалента норадреналина у насекомых и участвует в регулировании агрессии у беспозвоночных, вызывая видоспецифические эффекты.

<sup>93</sup> Род *Serratia* – наиболее старый в семействе Enterobacteriaceae, относится к подвижным энтеробактериям, отдельные штаммы могут образовывать капсулу. Интерес к изучению этих бактерий подтолкнула их способность к продукции пигмента (продигиозина) розово-красного или фуксинового цвета, не диффундирующего в питательную среду. В средневековье появление «кровавых» пятен на продуктах считали дьявольским наваждением. Серрации обнаруживаются в почве, воде, пищевых продуктах, а также в различных клинических материалах. Установлена их активная роль в возникновении внутрибольничных инфекций, в этиологии пневмоний, эндокардитов, отитов, менингитов, инфекций мочевыводящих путей и даже инфарктов миокарда. Род *Serratia* включает 11 видов. Некоторые виды являются фитопатогенами. Наибольшее значение в патологии человека имеет вид *S. marcescens*. Он же является типовым. Серрации характеризуются высоким уровнем устойчивости к используемым в клинике антибиотикам, не уступая в этом синегнойной палочке.

<sup>94</sup> Русское слово муравей восходит к праславянскому \*mъrovъ(jь), которое продолжает праиндоевропейское \*m̥ogwis/\*m̥ogmis (к тому же источнику восходят лат. formica и др. – греч. μύρμηξ). При этом фонетически закономерной формой в русском была бы «моровой». Современная форма получилась из контаминации со словом мурава.

Перепончатокрылые. Являются общественными насекомыми, образующими 3 касты: самки, самцы и рабочие особи. В мире насчитываются более 12000 видов, распространённых преимущественно в тропиках. В Палеарктике около 1150 видов, в России обитает около 300 видов. Самки и самцы крылатые, рабочие особи – бескрылые. У муравьёв некоторых подсемейств (мирмицины, понерины и других) имеется развитое жало. Муравьи – наиболее эволюционно продвинутое семейство насекомых с точки зрения этологии, экологии и физиологии. Их семьи представляют собой сложные социальные группы с разделением труда и развитыми системами коммуникации и самоорганизации, позволяющими особям координировать свои действия при выполнении задач, которые не по силам одному индивиду. Некоторые виды муравьёв обладают развитым «языком» и способны передавать сложную информацию. Кроме того, многие виды муравьёв поддерживают высокоразвитые симбиотические отношения с другими насекомыми, грибами, бактериями и растениями. Преимущества, предоставляемые муравьям кооперацией, привели к тому, что на сегодняшний день они являются доминирующей по численности группой членистоногих. Так, на 1 км<sup>2</sup> саванны в Кот-д'Ивуаре (Африка) обитает почти 2 млрд особей муравьёв, образующих примерно 740 тысяч колоний. Вместе с термитами (ещё одной крупной группой общественных насекомых) муравьи составляют треть общей биомассы наземных животных в тропическом лесу бассейна Амазонки. Таким образом, при средней популяционной плотности 800 млн муравьёв и 100 млн термитов на 1 км<sup>2</sup> они в сумме весят лишь вдвое меньше, чем все прочие сухопутные животные этого дождевого леса. В областях с умеренным климатом их меньше. На площади 8 км<sup>2</sup> во Флориде обнаружены 76 видов муравьёв из 30 родов, а на площади 5.5 км<sup>2</sup> в Мичигане – 87 видов из 23 родов. По данным филогенетического анализа муравьи произошли от каких-то веслоногих ос в середине мелового периода, примерно 110–130 млн лет назад, вероятно, на территории бывшего суперконтинента Лавразии. Ближайшие к муравьям семейства – настоящие осы и сколии. Семейство муравьёв включает 21 современное и 5 ископаемых подсемейств (26 с учётом *Argmaniidae* в статусе *Argmaniinae*), 54 трибы, 378 родов, 12470 видов и 4515 подвидов.

Трудность классификации муравьёв связана с двумя феноменами: наличием видов-двойников и гибридов. Существует довольно много видов, практически не различимых по внешнему виду. Таким образом, вид, описанный по анатомическим признакам небольшого числа особей, нередко разделяют на два или более самостоятельных, изолированных друг от друга репродуктивно. Отличить их друг от друга можно по генетическим или ферментным особенностям. И напротив, два близкородственных вида муравьёв, которые легко различимы по внешним признакам, в местах совместного обитания нередко скрещиваются и дают гибридные формы. При плодовитости таких гибридов делается вывод о том, что виды не самостоятельные, а являются лишь различными расами одного вида, так как потомство от скрещивания разных видов не плодовито. Размеры представителей семейства разнообразны – от 1 до 30–50 мм и более. У рабочих муравьёв многих видов на конце брюшка присутствует видоизменённый яйцеклад в форме жала, который используется для добывания пищи, а также защиты гнезда или нападения (например у мирмицин, понерин и др.). У примитивных форм подсемейства мирмицины жало редуцировано, а у эволюционно продвинутых форм – видоизменено. Основу

яда многих нежалящих видов составляет муравьиная кислота. Такие муравьи выбрызгивают секрет на расстоянии до нескольких сантиметров, одновременно выделяя «феромоны тревоги». Наиболее токсичен яд некоторых жалящих видов, имеющий, как и большинство ядов животных, сложный состав. Жалоносные муравьи, относящиеся к сем. Мугмисидеи и Понеридеи, обладают довольно сильным ядом и в некоторых районах земного шара представляют серьезную эпидемиологическую проблему, в том числе роды *Solenopsis*, *Pogonopemphex*, *Mutecia*, *Dinoponega*. Так, муравей *Paraponera clavata*, живущий в Центральной и Южной Америке, наносит, как считается, самое болезненное ужаление среди насекомых, которое обычно не смертельно для человека. Однако по шкале Шмидта это ужаление имеет самый высокий рейтинг. Ужаление муравья вида *Mutecia pilosula* (Австралия) может быть смертельным, поэтому для него было создано противоядие. Огненные муравьи *Solenopsis* имеют уникальный яд, в состав которого входит алкалоид пиперидин. Их ужаления болезненны и могут вызывать сильную аллергическую реакцию у высокочувствительных людей и анафилактический шок.

#### 11.3.5.1. Ядовитый аппарат

Ядовитый аппарат жалоносных муравьев построен по схеме, общей для перепончатокрылых. Неветвящиеся кислые железы имеют форму простых трубочек, постепенно суживающихся и впадающих отдельно в ампулу, которая представляет собой большой мускульный резервуар; щелочная, или дюфурова крупная железа веретенообразной формы также впадает в ампулу. Жало обычно тонкое и короткое. У муравьев, лишенных жала (например рода *Formica*), кислые ядовитые железы представлены двумя трубочками, сливающимися перед впадением в ампулу. Щелочная железа массивная, ее проток открывается рядом с выводным протоком ампулы. При сокращении мышечных стенок ампулы ядовитый секрет может выбрасываться на расстояние нескольких сантиметров. Из дюфуровой железы при этом выделяются сигнальные химические вещества, например феромоны тревоги – углеводороды, метилкетоны и др.

#### 11.3.5.2. Химический состав и механизмы действия яда

Среди биологически активных веществ, входящих в состав яда, в настоящее время идентифицированы органические кислоты (например муравьиная, уксусная, изовалериановая, пропионовая), гетероциклические соединения, полипептиды, ферменты, биогенные амины и некоторые другие соединения.

**Род *Solenopsis*.** Родиной красного огненного муравья *Solenopsis invicta* является Южная Америка. Его распространение началось в 30-е годы прошлого века, когда несколько колоний этого обитателя Южной Америки были завезены морским путем из Бразилии в порт Мобил (Алабама, США), где он быстро прижился, размножился и начал завоевывать южные штаты США. Начав свое вторжение с Алабамы, огненные муравьи расселились практически во все юж-

ные штаты США от Техаса до Мэриленда. С 1990-х годов их отмечают в Калифорнии (на западе США) и в Нью-Мексико (на юго-западе США), куда они попали, возможно, через суда, заходившие в порты Калифорнии. Сходными путями эти муравьи случайно были завезены в Австралию в 2001 году. В сентябре 2004 года красные огненные муравьи зафиксированы на острове Тайвань, где ещё с десяток лет назад появился другой огненный муравей – *Solenopsis geminata*. В Китае интродукция огненных муравьёв официально была признана в январе 2005 года, хотя сообщения в прессе появлялись с середины 2004 года. Указывались провинция Гуандун и Гонконг. В июле 2005 года колония огненных муравьёв впервые была отмечена на Филиппинах. Современный инвазийный ареал: США, Мексика, о-ва Карибского бассейна, Австралия, Малайзия, Сингапур, Тайвань, Филиппины, Китай (Гуандун, Макао). В США огненный муравей распространён в штатах на территории около 117.4 млн га: Алабама, Арканзас, Аризона, Виргиния, Джорджия, Калифорния, Кентукки, Луизиана, Мэриленд, Миссисипи, Оклахома, Северная Каролина, Теннесси, Техас, Нью-Мексико, Флорида, Южная Каролина. На юге США кроме трех эндемических видов *S. geminata*, *S. xyloni*, *S. aurea* в настоящее время серьезное внимание уделяют вселенцам: уже упоминавшемуся *S. invicta*, а также *S. richteri*, широко расселившимся за последние годы на побережье Мексиканского залива (рис. 11.36). Эпидемиологическое значение имеет и гибрид *S. invicta* × *richteri*.



Рис. 11.36. Распространение муравьев *Solenopsis invicta* на юге США (Wikipedia Commons)

*Solenopsis invicta* (рис. 11.37) – мелкие (2–4 мм) рыжевато-коричневые муравьи (самцы чёрные). Рабочие особи полиморфны, ширина головы варьирует от 0.5 до 1.5 мм. Стебелёк, соединяющий грудку с брюшком, двучлениковый (петиоль + постпетиоль). У самок и рабочих – 10-члениковые усики с двучлениковой булавой на конце.



А



Б



Г



В

Рис. 11.37. Муравьей *Solenopsis invicta*:  
 А – красные огненные муравьи *S. invicta*; Б – голова рабочей особи;  
 В – рабочая особь;  
 Г – самец (Wikipedia Commons)

Строят земляные муравейники с холмиками высотой и диаметром до 50 см (рис. 11.38). В гнёздах обнаружены многочисленные мирмекофилы, например клещи *Gaeolaelaps invictianus*.

Общий ущерб, наносимый *Solenopsis invicta* в США, составляет около 5 млрд долларов ежегодно, с учётом затрат на медицинское обслуживание ужаленных муравьями, ветеринарный контроль домашних животных, уничтожение муравейников и химическую обработку территорий. Являясь агрессивными хищниками, огненные муравьи контролируют многих вредителей сельского хозяйства, в том числе вредителей сахарного тростника, риса и зерновых культур.



Рис. 11.38. Типичная колония (муравейник) огненных муравьев под бетонными блоками (Wikipedia Commons)

Укусы и ужаления огненных муравьёв негативно воздействуют на домашних животных и представителей дикой фауны, в том числе изменяют поведение и морфологию ящериц. Также красные огненные муравьи могут вытеснять местные виды муравьёв. Например, в южных штатах США они почти вытеснили своих родственников, местных огненных муравьёв *Solenopsis xyloni* и *Solenopsis geminata*. Ужаления *Solenopsis* наблюдаются довольно часто. Степень воздействия по шкале Шмидта оценивается в 1.2 балла и сходна с воздействием огня (отсюда, кстати, и название насекомого – огненный муравей). Достаточно сказать, что только с апреля по октябрь 1979 г. в штате Джорджия на долю *S. invicta* пришлось 49% (116 человек) всех ужалений перепончатокрылыми. Яд обладает дермато-некротическим действием. У людей, ужаленных огненными муравьями, часто наблюдается аллергическая реакция, покраснение кожи, сильные отеки и волдыри, а также тошнота, рвота, головокружение и реакции вплоть до анафилактического шока, иногда со смертельным исходом (рис. 11.39).



Рис. 11.39. Последствия укусов и ужалений красным огненным муравьём на ноге человека (Wikipedia Commons)

Возникающая после ужаления пустула через несколько дней заживает с образованием рубца. Содержимое пустулы, как правило, стерильно, что связывают с бактерицидными свойствами яда. Тяжесть поражения этим ядом в сочетании с высокой частотой ужалений предопределили интенсивность изучения его химического состава и механизмов токсического действия.

Активным началом яда является транс-2-метил-6-н-ундецилпиперидин, названный *соленопсином А* (рис. 11.40):

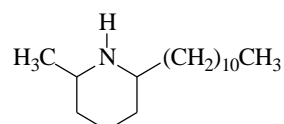


Рис. 11.40. Соленопсин А из яда муравьев *Solenopsis* sp.

При попадании в ткани человека при ужалении яд огненных муравьев вызывает химический ожог, сходный с термическим. Обладает цитотоксическим, гемолитическим, нейротоксическим, некротическим и инсектицидным действием. Блокирует возбуждающее действие ацетилхолина. Вызывает высвобождение гистамина из тучных клеток. Кроме этого, соленопсин способен убивать плесневые грибы и ряд микробов, в том числе стрептококки и стафилококки.

Соленопсин А обладает действием на сердечно-сосудистую систему. Причем этот эффект присущ как природному транс-изомеру (собственно соленопсину А), так и его синтетическому цис-изомеру (изосоленопсину А). В опытах на наркотизированных галламином крысах рацемические смеси синтетических соленопсина А и изосоленопсина А вызвали падение АД и урежение сердечного ритма, причем изосоленопсин А был несколько более активным. Так, для получения одинаковых по выраженности гипотензивных эффектов требовалось 30 мг/кг соленопсина А и 15 мг/кг изосоленопсина А соответственно. Кроме того, соленопсин А вызывал снижение сократительной способности сердца (dP/dt) и остановку сердца, работа которого не восстанавливалась после отмывания физиологическим раствором (рис. 11.41).

У бодрствующих животных внутривенное введение соленопсина А в дозе 30 мг/кг вызывало судорожные припадки, остановку дыхания и смерть. Эти данные подтверждают, что кардио-респираторная недостаточность, наблюдаемая при ужалении *S. invicta*, может быть одной из причин летальных исходов у людей.

В последнее время показано, что алкалоидный экстракт из *S. invicta* является мощным ингибитором изоформ NO-синтазы<sup>95</sup> (nNOS, iNOS, eNOS). Возможно, что ингибирование nNOS алкалоидами яда может лежать в основе патогенетических механизмов нейротоксических или системных токсических эффектов

<sup>95</sup> Синтазы оксида азота, NO-синтазы (англ. NO-synthase, NOS) – группа ферментов, катализирующих образование оксида азота и цитруллина из аргинина, кислорода и NADPH. Различают нейрональную NO-синтазу (nNOS), индуцируемую NO-синтазу (iNOS) и эндотелиальную NO-синтазу (eNOS). Оксид азота играет важную роль в организме млекопитающих, он вырабатывается фагоцитами в процессе борьбы с бактериями, но также участвует и в нейротрансмиссии, регулировке кровообращения, других аспектах функционирования разных органов и тканей.



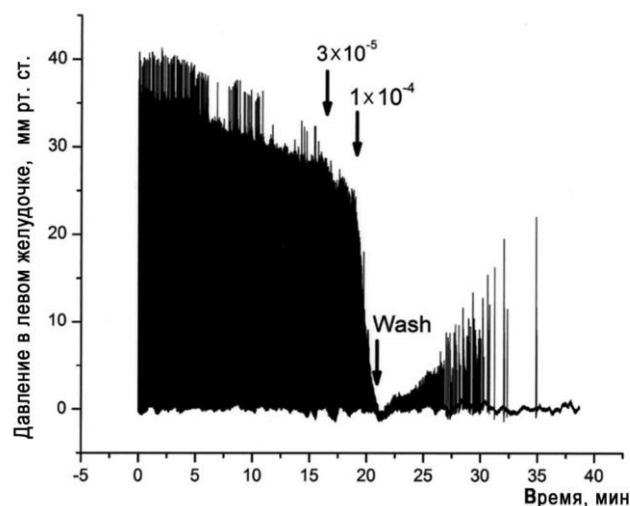


Рис. 11.41. Изменение давления в левом желудочке префузируемого сердца крысы при пошаговом увеличении концентрации вводимого в перфузат соленопсина А ( $3 \times 10^{-5}$  М и  $1 \times 10^{-4}$  М, на рисунке отмечены стрелками). Второе введение вызывает полную остановку сердца, не устраняемую отмыванием физиологическим раствором

отравления человека после множественных ужалений. Установлено также, что природный и синтетический соленопсин является мощным ингибитором фосфатидилинозит-3-киназы<sup>96</sup>, что может лежать в основе его влияния на ангиогенез. Показано, что соленопсин А обладает антиангиогенной активностью, нарушая, в частности, ангиогенез *in vivo* в эмбрионах *Brachydanio rerio*.

Выделенные 2,6-диалкилпиперидины обладают нейротоксическим действием, они блокируют возбуждающее действие ацетилхолина в нервно-мышечном синапсе. Их блокирующее действие является неконкурентным; видимо они разобщают связь между воздействием ацетилхолина на рецептор и увеличением ионной проводимости субсинаптической мембраны.

Соленопсин А вызывает высвобождение гистамина из тучных клеток, однако механизм действия его отличен от дегранулирующего эффекта других известных гистаминлибераторов, в том числе соединения 48/80 и MCD-пептида пчелиного яда. Соленопсин А, так же как и детергент Тритон X-100, вызывает высвобождение не только гистамина, но и фермента лактатдегидрогеназы. Все это указывает, что под его действием происходит неспецифическое высвобождение гистамина по литическому механизму.

<sup>96</sup> Фосфатидилинозит-3-киназа (PI3K, phosphatidylinositol-3-kinase) является одним из важнейших регуляторных белков, находящихся на пересечении различных сигнальных путей и контролирующих ключевые функции клетки. Обнаруженная у PI3K двойная ферментативная активность (липид- и протеинкиназная), как и способность PI3K активировать целый ряд сигнальных белков, включая некоторые онкобелки, определяют принципиальное значение PI3K в регуляции таких функций клетки, как рост и выживаемость, старение, опухолевая трансформация.

В последнее время из яда *S. invicta* удалось выделить минорную белковую фракцию, содержание которой не превышало в целом яде 0.1%. Фракционирование этих белков позволило изолировать три иммуноспецифических компонента, с которыми связывают развитие аллергических реакций при ужалениях соленопсидами.

Высокие темпы распространения *Solenopsis invicta* во многом объясняются некоторыми особенностями его биологии. Во-первых, сильный яд *S. invicta* обеспечивает ему конкурентные преимущества. Во-вторых, он, как и многие другие муравьи, очень быстро привыкает к любым инсектицидам. В-третьих, колонии *S. invicta* имеют достаточно глубокие подземные ходы, и в случае раскапывания гнезда, например для того, чтобы залить его жидким азотом, царица с частью рабочих муравьев успевают уйти по ним в другое место. Ну и, в-четвертых, *S. invicta* обладает сильным иммунитетом ко многим инфекционным заболеваниям – именно поэтому попытки борьбы с огненным муравьем при помощи одноклеточных паразитов микроспоридий, которые часто за несколько дней полностью уничтожают муравьиные колонии, положительных результатов не дали. Надежда на успех пришла с неожиданной стороны. Наблюдения энтомологов показали, что распространение *S. invicta* в некоторых местностях южного побережья США было остановлено другим вселенцем из Южной Америки *Nylanderia fulva*, известным как бешеные муравьи Рэсбери<sup>97</sup>. Нелицеприятный эпитет «бешеные» эти муравьи приобрели из-за того, что в поисках пищи рабочие муравьи этого вида перемещаются весьма хаотично, постоянно петляя, возвращаясь назад и резко изменяя свой курс. Такое движение напоминает перемещение млекопитающих, пораженных смертельным вирусом бешенства. Следует отметить, что в Южной Америке оба вида обитают симпатрически, конкурируя за территорию. Выяснилось, что рабочие муравьи *Nylanderia fulva* атакуют *S. invicta*, несмотря на реальную угрозу быть пораженными их ядом. Более того, ужаленные соленопсидами бешеные муравьи изгибались, чтобы достать ртом до брюшка, где находятся железы, продуцирующие муравьиную кислоту. При помощи микроскопа было установлено, что взяв из железы челюстями немного муравьиной кислоты, муравьи *Nylanderia fulva* начинали размазывать ее по телу, по-видимому нейтрализуя таким образом яд соленопсида. После этого бешеные муравьи Рэсбери вновь атакуют соленопсилов, оттесняя их за счет численного превосходства от спорной добычи. Если у рабочих муравьев *Nylanderia fulva* заклеить «кислотные» железы на брюшке и вновь заставить атаковать соленопсилов, около половины из них погибает. Напротив, у интактных бешеных муравьев Рэсбери выживаемость достигала 98%. Действительно ли муравьиная кислота является антитодом против соленопсина – не ясно.

**Род Pogonomirmex.** Мелкие муравьи рыжевато-красного и бурого цвета (длина 4–10 мм), внешне похожи на мирмик (*Myrmicica*) и муравьев-жнецов (*Messor*) (рис. 11.42). Собирают семена растений, поэтому их называют американскими муравьями-жнецами. Под головой находится похожий на бороду псаммофор для переноски частичек песчаного грунта. От греческого слова (*pogon* = борода) произошло и название этого рода.

---

<sup>97</sup> По имени описавшего их в США ученого Т. Рэсбери. Бешеные муравьи Рэсбери печально знамениты тем, что активно выводят из строя различные электрические приборы, перегрызая проводку.

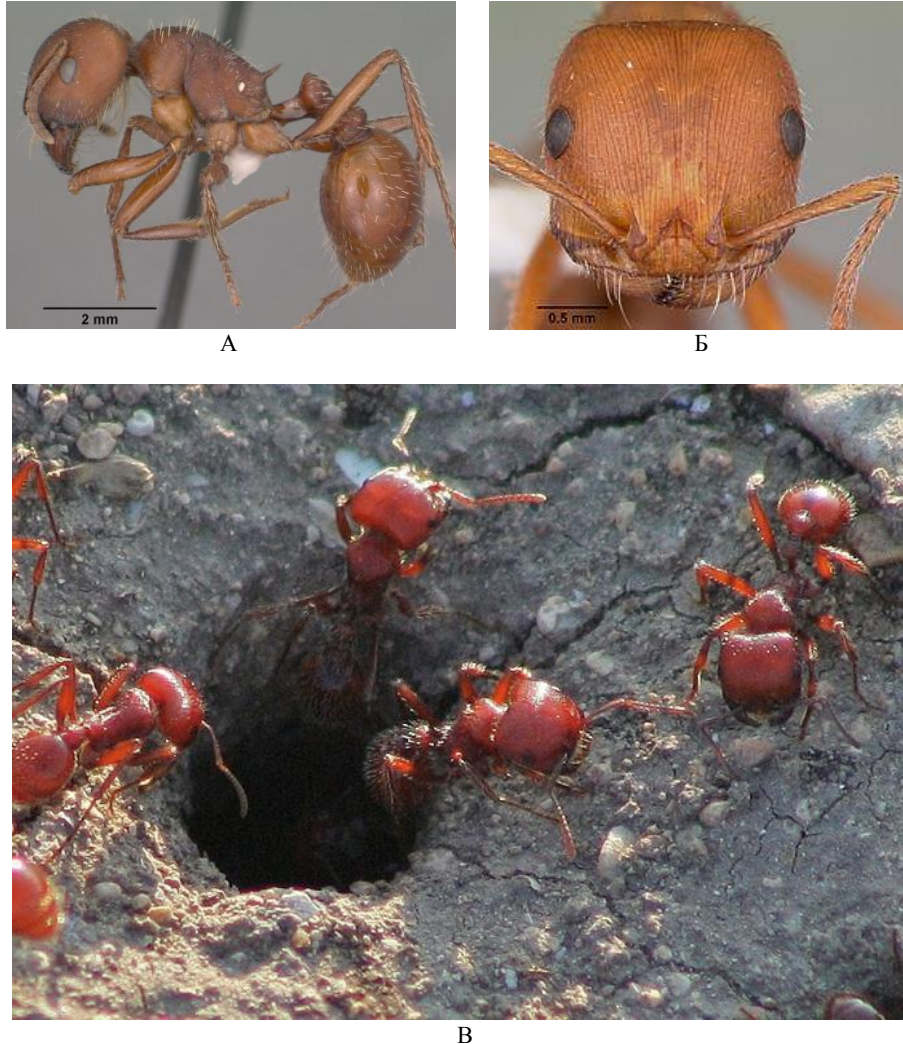


Рис. 11.42. Муравьи Pogonomirme: А – *P. barbatus*; Б – *P. comanche* (голова); В – *P. barbatus* у входа в гнездо (Wikipedia Commons)

Обитают в пустынях Северной Америки и иных районах с аридным климатом. Эти муравьи копают очень глубокие гнезда со многими подземными камерами, в которых они держат семена для выкармливания своего потомства. Пространство вокруг гнезд Pogonomirme может быть совершенно лишено растительности, что легко увидеть на расстоянии. Естественными врагами муравьев-жнецов являются жабовидные (рогатые) ящерицы *Phrynosoma coronatum* и хищные песочные осы *Stureadon*. Муравьи-жнецы обладают сильным жалом и ядом. Сила ужаления красного американского муравья-жнеца (*P. barbatus*) равна 3 баллам по шкале Шмидта, что больше, чем у шершня и медоносной пчелы. Матки вида *P. owyheeii* являются рекордсменами среди насекомых по продолжительности жизни: 14–30 лет.

Яд *Pogonomirmex* обладает видоспецичностью. Например, токсичность яда *P. maricopa* для ящерицы *Ph. coronatum*, питающейся этими муравьями, составила  $DL_{50}$  162 мг/кг, что значительно ниже, чем токсичность яда для мышей ( $DL_{50}$  0.12 мг/кг), что, кстати сказать, значительно меньше чем у пчелиного яда (2.8 мг/кг) и сопоставимо с токсичностью яда кобры.

В то же время токсичность этого яда для другого вида ящериц, не являющихся естественными хищниками муравьев *Sceloporus jarrovii*, была значительно выше –  $DL_{50}$  28 мг/кг. Это можно объяснить развитием устойчивости у *Ph. coronatum* к яду муравьев, составляющих ее обычный рацион. Среднее значение токсичности ( $DL_{50}$ ), определенное для 20 видов *Pogonomyrmex* spp., при ведении млекопитающим (мышам) составило 0.66 мг/кг. В то же время паралитическая доза яда *P. badius* для личинок *Sarcophaga* и *Galleria* равна, соответственно, 58 и 103 мг/кг, то есть значительно выше, чем для позвоночных. Этот факт становится понятным, если предположить, что яд предназначен для защиты муравьев в первую очередь от позвоночных (например ящерицы *Ph. coronatum*). Следует подчеркнуть, что один муравей при ужалении выделяет микроскопическое количество яда, не представляющее угрозы для крупных животных и тем более для людей. Однако оценки показывают, что млекопитающему массой 2 кг достаточно внутривенно ввести количество яда, эквивалентное 12 ужалениям, чтобы была достигнута доза, равная  $DL_{50}$ . Во всяком случае, ужаление *Pogonomyrmex* sp. вызывает у человека сильную боль, которая длится до 4 часов. Большая токсичность этого яда для позвоночных связана, возможно, с особенностями биологии муравьев. *Pogonomyrmex* живут большими колониями и, в отличие от других видов муравьев, предпочитают растительную пищу. Поэтому свой яд они в основном используют не для охоты на других беспозвоночных, а для защиты от врагов, среди которых особенно много ящериц и птиц.

Симптомы отравления рассмотрим на примере яда *P. badius* – одного из самых токсичных среди насекомых. Его  $DL_{50}$  для мышей при внутрибрюшинном введении составляет всего 0.42 мг/кг (0.42 мкг/г) массы животного. У отравленных мышей наблюдаются периферическая вазодилатация, экзофтальм, лакримация, пилоэрекция. Стадия повышенной чувствительности к звуковым раздражениям сменяется фазой депрессии. Развивается цианоз слизистых, дыхание становится затрудненным, нерегулярным. В терминальной фазе на фоне резкого угнетения дыхания наблюдаются клонические судороги и смерть.

Как отмечалось, яды *P. badius* и *P. barbatus* обладают видоспецифическим действием, которое может проявляться не только *in vivo*, но и *in vitro*. Так, отмытые эритроциты мыши полностью гемолизируются ядом в концентрации 8 мкг/мл, тогда как для достижения 70% гемолиза эритроцитов быка необходима концентрация яда, равная 60 мкг/мл (рис. 11.43).

Из яда *P. barbatus* выделен гемолитический полипептид барбатозин, состоящий из 34 аминокислотных остатков, среди которых 6 остатков гистидина. Изоэлектрическая точка барбатозина лежит при  $pH = 10$ , причем барбатозин не образует комплекс с гепарином. Этим барбатозин существенно отличается от других гемолитических полипептидов насекомых, например мелиттина пчелиного яда, в котором нет гистидина и, кроме того, он образует комплексы с гепарином. Комплексообразующие свойства гепарина обычно привлекаются для объяснения различий в токсических дозировках ядов при подкожном и внутривенном (или внутрибрюшинном) введении. Предполагается, что при подкожном введении активные компоненты ядов вызывают дегрануляцию тучных клеток эпидермиса и

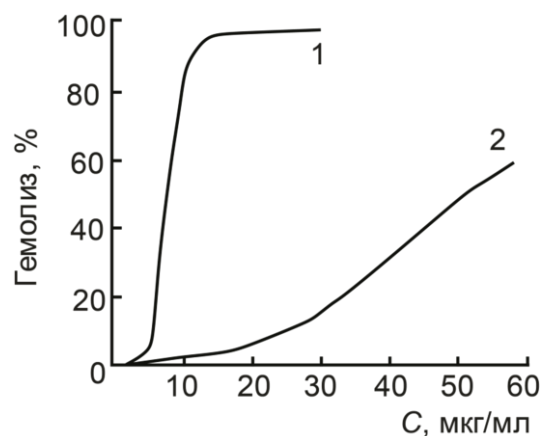


Рис. 11.43. Гемолитическое действие яда *P. badius* на отмытые эритроциты мыши (1) и быка (2) (Schmidt, Blum, 1978)

высвобождение из них гепарина, который, в свою очередь, инактивирует токсины путем комплексообразования. Так, отношение токсичности при внутривенном и подкожном способах введения составляет для яда гадюки Рассела 50:1, для пчелиного яда 20:1, для яда муравья *P. badius* 29:1. Однако первые два яда инактивируются гепарином, тогда как яд *P. badius* не образует с ним комплекс. Яд *P. badius* характеризуется и своеобразным химическим составом. В яде обнаружены фосфолипазы А и В, гиалуронидаза, кислая фосфатаза, несколько эстераз и липаза, не характерная для насекомых. Свободные аминокислоты и гистамин содержатся в низких концентрациях, тогда как серотонин, кининоподобные пептиды, щелочная фосфатаза и протеазы отсутствуют.

**Род *Murgessia*.** Широко распространенный в Южной Австралии муравей-бульдог *M. pyriformis* способен наносить укусы более болезненные, чем пчелы. Кожная реакция характеризуется эритемой, переходящей в отек, ощущениями боли, зуда, удерживающимися иногда в течение нескольких дней. Химический анализ яда показал наличие в нем гистамина, фосфолипазы А, гиалуронидазы, гистаминлибераторов, гемолизинов и фактора, вызывающего сокращение гладкой мускулатуры, но не кининовой природы. Токсичность яда *M. pyriformis* для мышей составляет 5 мг/кг при внутрибрюшинном введении. Непосредственно после введения яда животные становились возбужденными и агрессивными, однако уже через 2 мин у 85% мышей наблюдается выраженная депрессия, сохраняющаяся вплоть до момента смерти. Инкубация изолированных гладкомышечных препаратов матки крысы и сосудов уха кролика с ядом *M. pyriformis* вызывает их сокращение, а обработка ядом изолированных тучных клеток крысы приводит к высвобождению из них гистамина.

**Род *Paraponera*.** *Paraponera clavata* (Fabricius, 1775) – вид крупных тропических муравьев из рода *Paraponera* и подсемейства *Paraponerinae*. Распространен в Центральной и Южной Америке от Никарагуа и Коста-Рики на севере и до Парагвая на юге своего ареала. Крупные хищные муравьи с длиной тела от 18 до 25 мм и буровато-чёрной окраской (рис. 11.44). Семьи включают несколько сотен мономорфных рабочих особей.

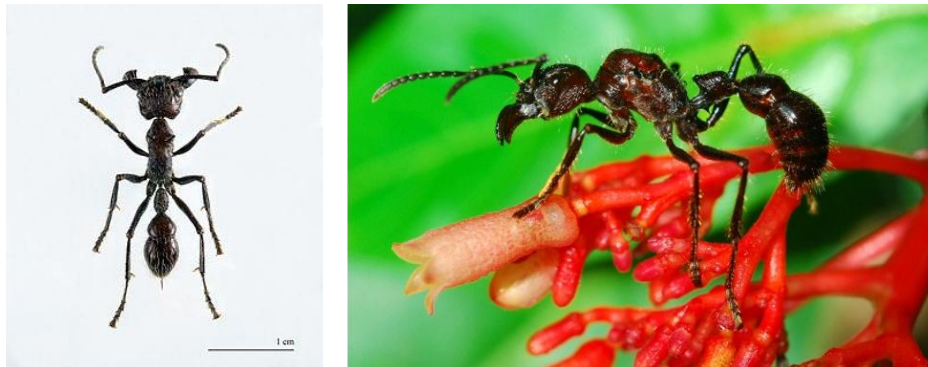


Рис. 11.44. Муравей *Paraponera clavata* (Wikipedia Commons)

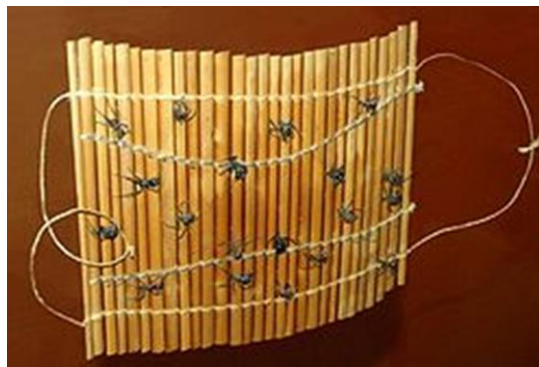
Они создают весьма многочисленные семьи, превышающие 1000 особей. Бывают как моно-, так и полигинные колонии. Наблюдается и некий полиморфизм, когда самые мелкие занимаются расплодом, а самые крупные – фуражом и защитой гнезда. Абдомен матки заметно увеличен по отношению к другим особям. *Paraponera* строят глубокие гнезда до 65 см в глубину. Для этого они выбирают основания растений или расщелины в корнях деревьев. Зачастую гнезда имеют один вход и один чёрный выход (обычно он идёт от самой низкой галереи). От вертикального тоннеля в разные стороны отходит множество длинных и высоких галерей, всегда строят глубокий дренажный канал вниз от гнезда. Фуражируют преимущественно в тёмное время суток, ориентируясь по феромоновым дорожкам. Опытные фуражиры учатся и запоминают местность, что позволяет им использовать местные ориентиры для поиска гнезда или охоты. *Paraponera* – поверхностный зоонекрофаг, то есть питается как мертвечиной, так и живыми жертвами, чаще всего это крупные насекомые и иногда мелкие позвоночные. Жертвы они режут на части и переносят домой, личинки поедают кусочки без предварительной обработки со стороны рабочих. *Paraponera* предпочитает нектар и жидкие сладости. В природе часто собирают его с растений и пьют сок, надрезая кору. Могут потреблять его в больших количествах, поэтому иногда их причисляют к «медовикам». Внутри гнезда рабочие кормят нектаром личинок, оставляя массивные капельки или трофаллаксом<sup>98</sup>. Часто устилают пол гнезда различными растительными остатками и укладывают на них личинок и расплод, это позволяет личинкам пить оставленные жидкости и содержать в нужной атмосфере куколки. *Paraponera* неагрессивный муравей, если не трогать его и не пугать. При опасности он начинает выделять мускусный феромон и шипеть, но если и это не помогает, то атакует жалом.

Сила ужаления превышает степень воздействия яда любой осы или пчелы и по шкале Шмидта оценивается высшим 4 баллом<sup>99</sup>. Изнурительная боль длится в

<sup>98</sup> Трофаллакис (от др.-греч. троφή «еда, пища» и ἄλλαξις «обмен») – обмен пищей и выделениями желёз, наблюдаемый у отдельных особей популяций некоторых видов животных (у пчёл, муравьёв, термитов).

<sup>99</sup> Укус этого муравья занимает почетное первое место и характеризуется следующим образом: «Чистая, глубокая, великолепная боль. Напоминает ходьбу по раскаленным углям

Рис. 11.45. «Рукавица» для обряда с живыми муравьями *Paraponera* (Wikipedia Commons)



течение 3–5 часов и уменьшается только на следующий день. Частые последствия ужаления – дрожь, пот, тошнота и паралич раненого пальца руки, а многократные ужаления могут привести к смерти. У некоторых местных индейских племен (Бразилия) эти муравьи используются в весьма болезненных обрядах инициации мальчиков<sup>100</sup> к взрослой жизни. Для этого усыпленных муравьев (в настоящее время с помощью хлороформа) сотнями вставляют в рукавицы, сделанные из веточек и листьев, направляя жало внутрь (рис. 11.45). Когда муравьи просыпаются, мальчики вставляют кисть руки в эту рукавицу и получают сотни жалящих ударов муравьев вплоть до полушокового состояния. Цель этого обряда инициирования состоит в том, чтобы держать руку в рукавице в течение полных десяти минут. Когда все закончено, руки мальчиков становятся временно парализованными из-за яда, и они могут дергаться неудержимо в течение многих дней. Дополнительно рука может слегка почернеть от действия яда, став похожей на кусок древесного угля.

При оказании первой помощи ужаленным *P. clavata* рекомендуется охладить конечность в воде со льдом и принять антигистаминный препарат, чтобы предупредить возможную аллергическую реакцию. При развитии тяжелой симптоматики (затруднённого дыхания или глотания, что может быть симптомами анафилаксии, отёков лёгких и верхних дыхательных путей) рекомендуется применение *EpiPen*<sup>101</sup>, а также прием противоастматических средств и стероидных препаратов, под врачебным контролем.

---

с трехдюймовым ржавым гвоздем в пятке». За это они получили название «муравей-пуля» (порт. *Formiga Bala*, исп. *Hormiga bala*) или «*Hormiga Veinticuatro*» («муравей-24 [часа]»), так как боль ощущается почти сутки.

<sup>100</sup> Инициация (лат. *initiatio* – совершение таинства, посвящение) – обряд, знаменующий переход индивидуума на новую ступень развития в рамках какой-либо социальной группы или мистического общества. Корни обряда можно проследить в глубокой древности, практически у всех народов. Инициация обычно сопровождается праздничным обрядом, нередко с различными, часто мучительными испытаниями (например нанесением татуировок, телесных повреждений, укусами муравьев, хирургическими вмешательствами и т.д.).

<sup>101</sup> *EpiPen* (ЭпиПен) предназначен для экстренной помощи при возникновении внезапных опасных для жизни аллергических реакций (анафилактического шока) на укусы насекомых, продукты питания, лекарства или физическую нагрузку, представляет собой тубик-шприц для самовведения адреналина.

У млекопитающих наиболее частой причиной иммобилизации является смерть, а не паралич. Среднесмертельная доза ( $DL_{50}$ ) яда *P. clavata* для млекопитающих составляет 6 мг/кг. При среднем содержании в ядовитом пузырьке муравья 180 мкг яда, доза, равная  $1DL_{50}$  может быть достигнута при ~ 30 ужалениях/кг массы жертвы. В яде *P. clavata* содержится по меньшей мере три нейротоксических компонента, один из которых является кинином и, по-видимому, как и другие кинины из яда общественных насекомых, например осы *Megascolia flavifrons*, способен блокировать синаптическую передачу на пресинаптическом уровне, вызывая истощение запасов легковывсвобождаемого нейромедиатора. Однако наиболее активным нейротоксическим веществом яда *P. clavata* является понератоксин (PoTX), представляющий собой полипептид, состоящий из 25 аминокислотных остатков и наилучшим образом объясняющий эффект ужаления муравья позвоночных или насекомых – смерть или паралич:



Понератоксин вызывает медленные и длительные сокращения гладкой мускулатуры млекопитающих и блокирует синаптическую передачу в центральной нервной системе насекомых. Синтетический аналог PoTX характерным образом изменяет электрические свойства возбудимой мембраны мышечного волокна лягушки. Он вызывает появление длительных плато на потенциалах действия и возникновение ритмической активности (рис. 11.46). Эти результаты позволяют предположить, что PoTX воздействует на натриевые каналы, затрагивая быструю и медленную компоненту входящего натриевого тока.

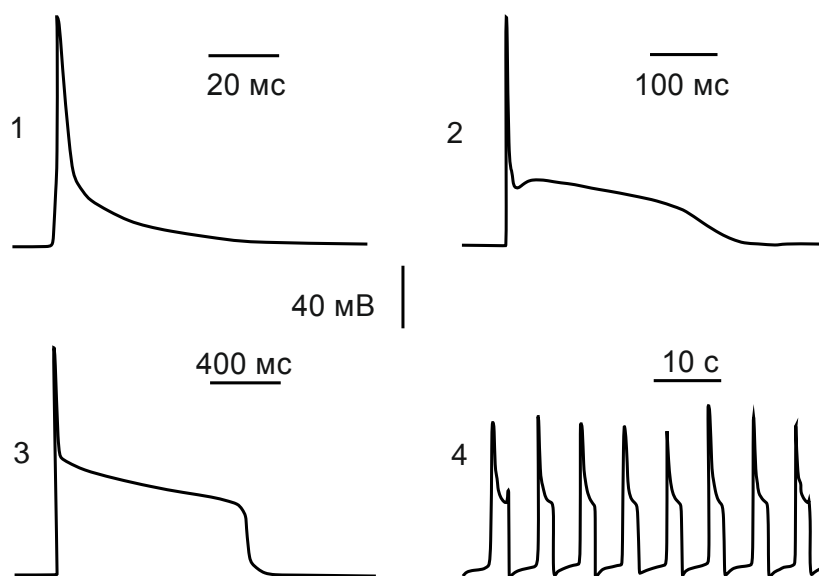
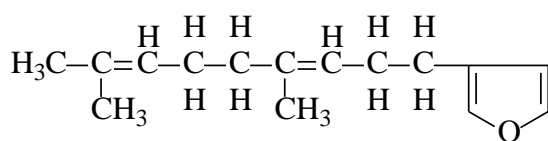


Рис. 11.46. Влияние понератоксина на потенциалы действия изолированного мышечного волокна лягушки: 1 – контроль; 2–4 эффект понератоксина в концентрациях  $1 \times 10^{-8}$ ;  $1 \times 10^{-7}$  и  $5 \times 10^{-6}$  М соответственно (Duval et al., 1992)

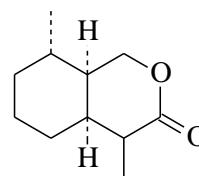


Не ясно, ответственен ли понератоксин за возникающую при ужалениях интенсивную и длительную боль, но неконтролируемый тремор, вызываемый ядом, скорее всего объясняется действием понератоксина. Рекombинантный понератоксин рассматривается как перспективный кандидат для конструирования бакуловирусных<sup>102</sup> инсектицидов, способных вызвать иммобилизацию зараженных насекомых. Известно также использование яда этих муравьев при ревматизме.

**Другие муравьи.** Рассмотренные примеры, естественно, не исчерпывают многообразия форм химической защиты, используемых муравьями. Установление химической структуры того или иного компонента яда еще не гарантирует понимания его биологической роли. С другой стороны, многие биологически активные вещества ядов нуждаются в расшифровке своего строения. Среди муравьев рода *Pseudomyrmex* найдены два фактора, инактивирующих комплемент человека. Один из этих факторов является термолабильным трипсиноподобным ферментом, тогда как второй – полисахарид (или группа полисахаридов), не содержащий липиды и аминокислоты. Полисахаридный фактор включает маннозу, N-ацетилглюкозамин, галактозу, фукозу, N-ацетилгалактозамин и глюкозу. Белковый компонент, очевидно, вызывает деградацию компонентов комплемента, тогда как полисахаридный компонент видимо активирует систему комплемента, что приводит к истощению компонентов C2 и C4. Эта антикомплемментарная активность яда применялась для облегчения течения ревматоидных артритов. Широко представлены в ядах муравьев простые органические соединения. Кроме уже упоминавшихся органических кислот и 2,6-диалкилпиперидинов, в ядах обнаружены монотерпены (*Myrmecaria natalensis*), трансдиалкилпирролидины (*Solenopsis spunc-tic*), скатол (*Pheidole fallox*), 3-этил-2,5-диметилпипиразин (*Atta sexdens*), анабазеин (*Aphenogaster fulva*). Большинство из перечисленных соединений уже утратили свое значение как токсины, а используются муравьями в качестве феромонов. В этом плане представляет интерес использование муравьями анабазеина в качестве аттрактанта, тогда как у немертин этот алкалоид является нейротоксином (см. гл. 4).



Дендролазин



Иридомирмецин

<sup>102</sup> Бакуловирусы, или палочковидные вирусы получили свое название за палочковидную форму вирионов (от лат. bacillum – палка, посох). Являются возбудителями вирусных заболеваний насекомых, считаются перспективными для борьбы с насекомыми-вредителями.

Некоторые муравьи секретируют активные инсектициды, например дендролазин из мандибулярных желез *Dendrolasius fuliginosus* или лактон иридомирмецин, выделенный из анальных желез муравья *Iridomyrmex humilis* и обладающий кроме инсектицидного антибиотическим действием. Мандибулярные железы муравьев *Veromessor pergandei* секретируют бензальдегид, защищающий их от нападения муравьев *Solenopsis saevissima*. В эксперименте обработанные бензальдегидом рабочие особи *S. saevissima* теряли координацию движений и пытались «очистить» себя от химиката.

ПАССИВНО-ЯДОВИТЫЕ НАСЕКОМЫЕ.  
НАСЕКОМЫЕ С ЯДОВИТЫМ  
РОТОВЫМ АППАРАТОМ

Был вечер. Небо меркло. Воды  
Струились тихо. Жук жужжал.

*А.С. Пушкин*



В отличие от жалоносных насекомых, многие другие насекомые используют в качестве химических средств защиты токсические агенты, находящиеся либо в гемолимфе, либо в пищеварительных соках. Такие токсины могут вырабатываться в организме *de novo*, а могут поступать в насекомое по трофическим цепям. Наиболее изученные представители этих токсинологических групп будут рассмотрены в этой главе.

### 12.1. ЯДОВИТЫЕ ЖУКИ (Coleoptera)

Жесткокрылые, или жуки (Coleoptera) – отряд насекомых, представители которого характеризуются видоизменением передних крыльев в твёрдые, сильно склеротизированные, либо кожистые надкрылья, лишённые жилкования, с сохранением перепончатых задних (нижних) крыльев, служащих для полёта и в спокойном состоянии сложенных под надкрыльями (очень редко крылья и надкрылья редуцированы). Для представителей отряда характерны грызущий или жующий ротовой аппарат, развитая передняя часть груди, подвижное сочленение переднегруди с её средней частью. Форма и размеры тела весьма разнообразны: от 0.3–1.0 мм до 171 мм. Развитие с полным превращением: имеются стадии яйца, личинки, куколки и имаго. Личинки – с хорошо развитой хитинизированной головой и грызущим ротовым аппаратом, преимущественно червеобразные или камподеевидные, у большинства видов с членистыми грудными конечностями, без брюшных ног. Куколки преимущественно свободные, обычно мягкие, неподвижные (двигаться может только брюшко), неокрашенные.

Жуки являются крупнейшей группой среди насекомых и живых существ в целом<sup>103</sup>. По состоянию на август 2013 года в отряде насчитывается 392415 видов, включая 2928 вымерших видов, что составляет 40% от всех известных видов насекомых. По данным на 17 апреля 2013 года на территории России обитает 13504 вида жесткокрылых из 149 семейств. Жесткокрылые очень разнообразны, большинство их видов плохо изучено, поэтому истинная оценка количества существующих видов является очень затруднительной. Жуки широко распространены по всему земному шару, в шести зоогеографических областях, кроме Антарктиды, ледниковой зоны Арктики и наиболее высоких горных вершин. Наиболее богато видами отряд представлен в тропических регионах.

Примерно 62% разнообразия жуков составляют представители всего шести семейств: жуки-долгоносики (Curculionidae) – 60000 видов, жуки-хищники (Staphylinidae) – 47700, жужелицы (Carabidae) – 30000, пластинчатоусые (Scarabaeidae) – 27800, листоеды (Chrysomelidae) – 36350 и усачи (Cerambycidae) – 26000.

У жуков наблюдается довольно широкое разнообразие форм применения токсических веществ, относящихся к разным классам химических соединений. Среди жуков довольно часто встречаются виды, обладающие ядовитой гемолимфой. Многие жуки обладают способностью к «кровопрысканию» (нарывники, божьи коровки) – выделению токсичной гемолимфы из отверстий на ногах. Другие (некоторые жужелицы, жуки-бомбардиры) выбрызгивают очень едкую защитную

---

<sup>103</sup> Говорят, что известный английский биолог и генетик Дж. Холдейн на вопрос одного богослова, какая черта личности Создателя наиболее ярко проявилась в его Творении, ответил: «Необычайная любовь к жукам».

жидкость из анальных желез. Медляки рода *Blaps* при опасности занимают определённую позу и выделяют из специальных желёз жидкость с неприятным запахом. Ядовитый секрет с неприятным запахом выделяется также грудными железами плавунцов (*Dytiscidae: Dytiscus*). Водоплавающие жуки выделяют из проторакальных и пидигиальных желез секрет, ядовитый для рыб. Наиболее полно, с точки зрения химического состава и механизмов действия, изучены ядовитые вещества нарывниковых жуков, белковый токсин гемолимфы колорадского жука и диамфидии, а также оригинальный механизм химической защиты жуков-бомбардиров и некоторых других.

### 12.1.1. Семейства Стафилиниды (*Staphylinidae*) и Нарывники (*Meloidae*)

Хорошо изучены так называемые нарывниковые жуки, относящиеся к семействам *Staphylinidae* (род *Paederus* с многочисленными видами) и *Meloidae* (роды *Meloë*, *Mylabris*, *Lytta*, *Epicauta*) (рис. 12.1).

**Клиника отравления.** Ядовитые свойства педерусов (*Paederus*), шпанок (*Lytta*, *Epicauta*), маек (*Meloë*), нарывников (*Mylabris*) известны очень давно. Эти жуки не имеют ранящего аппарата, однако при раздавливании на поверхности кожи они вызывают дерматиты. Наиболее часто поражаются открытые части тела – руки, шея, лицо. На месте поражения развивается гиперемия, переходящая в папулезную сыпь, или появляются крупные волдыри. Специфика местных явле-

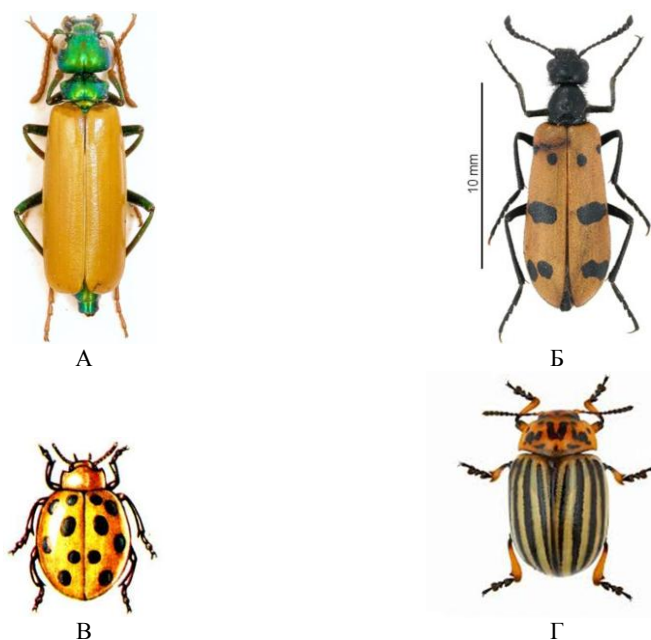


Рис. 12.1. Представители ядовитых жуков: А – шпанка *Lytta menetriesi*; Б – нарывник *Mylabris calida*; В – божья коровка *Epilachna chrysomelina*; Г – колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* (Wikipedia Commons)

ний зависит от вида жука и будет рассмотрена ниже. Педерусы вызывают папулезный дерматит. Майки, шпанки, нарывники поражают в основном устья фолликул, вызывая образование папулок с переходом в пустулы и возникновение характерных крупных волдырей. Отличия в характере поражения кожи послужили основанием для предположения о различной природе токсического начала, которое у нарывниковых жуков получило название кантаридин, а у педерусов – педерин.

Оба токсина вырабатываются в половых железах взрослых жуков и разносятся гемолимфой по всему телу. В случае опасности нарывники и педерусы выделяют капельки гемолимфы из отверстий, расположенных между голенями и бедрами ног (так называемое кровопрыскание). Ядовитая гемолимфа защищает нарывников от некоторых врагов, например птиц. Однако многие амфибии, а также ежи используют этих жуков в пищу без вреда для себя.

Следует иметь в виду, что представители некоторых семейств жесткокрылых известны как кантарифилы, например *Gastrophysa polygoni* (Chrysomelidae), *Malachius bipustulatus* (Melyridae) и *Certallum ebulinum* (Cerambycidae). Они не вырабатывают кантаридин *de novo*, но способны накапливать экзогенный кантаридин в своей гемолимфе не только без вреда для себя, но, напротив, используя его как средство защиты, демонстрируя тем самым мюллеровскую мимикрию<sup>104</sup>.

**Педерин.** Педерин (рис. 12.2) – действующее начало гемолимфы жуков синекрылов (Staphylinidae). Обладает кожно-нарывным действием, вызывая папулезный дерматит, поражающий глубокие слои кожи без обильного выделения серозной жидкости. Дерматит выражен в первые сутки и стихает через 3–4 дня. Выраженность симптомов поражения педерином при контактном способе усугубляется при наличии повреждений или увлажнении кожи, например потом, что значительно увеличивает всасываемость яда и приводит к развитию общих симптомов отравления. При попадании педерина в глаза возможны конъюнктивиты, блефарит. Педерин способен блокировать синтез белка в цитоплазме эукариот. Пищевые отравления педерином приводят к развитию энтеритов (часто наблюдается у жителей Маршалловых островов при употреблении инфицированного *синекрылами* пальмового вина). Почки поражаются в меньшей степени, чем при отравлении кантаридином. Эпидемии пузырьчатого дерматита, вызываемого этим жуком, отмечались в Нижнем Поволжье, в Бразилии, Алжире, Индии. Пока педерин в терапевтических целях не используется.

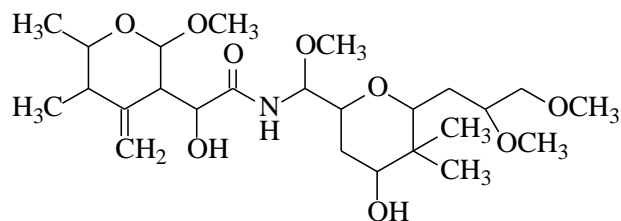


Рис. 12.2. Педерин

<sup>104</sup> При мюллеровской мимикрии несколько защищенных видов животных имеют сходную внешность и, подражая друг другу по окраске и форме, образуют «кольцо» мимикрии. Например, многие виды ос сходны по очертаниям тела и окраске, ядовитые насекомые (семиточечная божья коровка, клоп-солдатик, жук-нарывник) имеют красную окраску с черными пятнами (отпугивающая окраска). Враги насекомых, выработав рефлекс отвращения на один вид, уже не трогают насекомых других видов, входящих в это «кольцо».

Педерин продуцируется в основном яйцами взрослых самок, тогда как самцы и личинки содержат только материнский педерин. Полагают, что истинным продуцентом педерина у самок могут являться эндосимбиотические бактерии *Pseudomonas aeruginosa*<sup>105</sup>. У самок наблюдается полиморфизм, следствием которого продуцентами педерина являются около 90% самок, тогда как остальные откладывают яйца, практически лишённые токсина. В большинстве личинок содержится до 1.5 мкг педерина. Его отсутствие фатальным образом может сказаться на их выживаемости, поскольку для некоторых хищников, например тарантулов, педерин является репеллентом, и они отказываются от добычи, содержащей токсин. Педерин способен в низких концентрациях 1 нг/мл блокировать синтез белка и ДНК, не затрагивая синтез РНК. Способность педерина блокировать клеточный митоз и продление жизни мышей с экспериментальными опухолями делает его перспективным агентом в онкологии.

**Кантаридин.** Кантаридин (рис. 12.3) – действующее начало ядовитой гемолимфы представителей семейства жуков-нарывников (Meloidae): маек (Meloe), шпанских мушек (Lytta) и нарывников (Mylabris); носители этого яда также описаны в семействе жуков-усачей – *Phymatodes testaceus* и *Certallum ebulinum*. В теле насекомых содержится до 5% кантаридина. Синтез кантаридина весьма трудоемок и многостадийен, поэтому его до сих пор получают экстракцией из высушенных нарывниковых жуков. Из 100 г сухих шпанок выход кантаридина составляет 0.3–1.5 г.

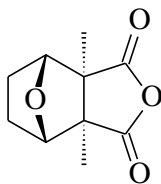


Рис. 12.3. Кантаридин

Кантаридин образует кристаллы с температурой плавления 218°C, он плохо растворим в воде, легче в подкисленной воде; трудно в 90%-ном спирте, легко в хлороформе, ацетоне, уксусной кислоте, в жирных и эфирных маслах. Для кошек и собак DL<sub>50</sub> при внутривенном введении составляет 1 мг/кг, для человека перорально, по разным данным – от 20–30 до 40–80 мг/кг. Обладает кожно-нарывным и афродизирующим действием (вызывающим половое возбуждение). Экспериментальные и клинические наблюдения показывают, что тяжесть поражения кантаридином и педерином при контактном способе зависит от состояния барьерных функций кожи. Раны, царапины или увлажнение кожи потом значительно увеличивают всасываемость ядов, что приводит к развитию общих симптомов отравления. Весьма чувствительны к кантаридину слизистые поверхности носа, губ, языка, конъюнктивы глаз, поражение которых при неосторожном раздавливании жу-

<sup>105</sup> *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) – граммотрицательная подвижная (монотрихи или амфитрихи) палочковидная бактерия. Обитает в воде и почве, условно патогенна для человека, возбудитель нозокомиальных инфекций у человека. Лечение затруднительно ввиду высокой устойчивости к антибиотикам. Присутствие педерина у некоторых морских организмов, например у губок, также может быть следствием симбиоза с *Pseudomonas aeruginosa*.

ков может протекать очень тяжело. Наибольшую опасность представляет попадание кантаридина (либо целых жуков) в пищеварительный тракт. Кантаридин обладает местным раздражающим действием; на коже вызывает красноту, жжение, боль и обильное выпотевание серозной жидкости из близлежащих сосудов сосочкового слоя, вследствие чего на месте действия кантаридина эпидермис поднимается и образуется пузырь, наполненный серозной жидкостью, в которой можно найти кантаридин. Если кантаридин действует долго, то воспаление принимает гнойный характер, а ткани могут подвергаться омертвлению. На слизистые оболочки кантаридин действует быстрее и резче, чем на кожу. Так, порошок шпанки, попав в рот, нос, глотку и кишечник, через 2–3 часа вызывает приступы тяжелого острого отравления; на слизистой появляются пузыри, боль и жжение, глотание затрудняется, появляются слюнотечение, сильнейшая жажда, рвота, боли в животе, понос, часто с кровью; учащенные позывы к мочеиспусканию с увеличением количества выделяемой мочи; в области почек появляются боли, в моче белок, цилиндры и кровь, количество мочи в дальнейшем резко снижается и наступает анурия; мочеиспускание становится болезненным; у мужчин наблюдается мучительно болезненная эрекция. Общее действие при сильном отравлении кантаридином сказывается появлением сильных головных болей, клоническими и тетаническими судорогами, сонливостью, бредом, падением пульса, затруднением дыхания, синюхой, холодным потом, похолоданием конечностей; на 4–5-й день после введения яда наступает смерть от паралича дыхания. Интенсивное всасывание яда слизистыми желудочно-кишечного тракта приводит к быстро развивающемуся отравлению, часто со смертельным исходом. На вскрытии отмечается резкая гиперемия слизистых покровов, образование язв и геморрагических очагов. Диффузные очаги поражения наблюдаются в печени и почках – органах, участвующих в детоксикации и выведении ядов из организма. Гломерулонефриты и циститы – типичные последствия отравления кантаридином. Наблюдаемые в ЦНС застойные явления и гиперемия обуславливают у экспериментальных животных нарушения условно-рефлекторной деятельности и развитие параличей. Раньше кантаридин применялся в медицине в составе нарывных пластырей, мазей, порошков, масляных растворов. В связи с высокой токсичностью и частым развитием тяжелых дерматитов в настоящее время практически не употребляется. С терапевтической целью применяют теперь очень редко и только наружно: при невралгиях, например седалищного нерва, иногда при заболеваниях ревматического характера; при воспалениях глаза, плевры и в особенности при перикардитах принято применять препараты шпанской мушки как отвлекающее («мушки» на затылок или спину).

**Первая помощь и профилактика.** Специфических мер борьбы с отравлением кантаридином и педерином нет, и лечение носит симптоматический характер. При обширных поражениях кожи волдыри следует вскрыть и продезинфицировать. В тяжелых случаях необходимо немедленно обратиться в медицинское учреждение. Важное значение имеет правильное соблюдение профилактических мер в местностях, где обитают нарывниковые жуки. Лучше всего жуков не брать в руки, а тем более не раздавливать их. При специальных работах необходимо пользоваться перчатками, марлевой маской, очками. При системном отравлении рекомендуется тщательно очистить желудок и кишечник, после чего применяются назначенные врачом обволакивающие средства.



### 12.1.2. Семейство Божьи коровки (Coccinellidae)

Божьи коровки (сем. Coccinellidae)<sup>106</sup> – семейство жуков, отличающееся тем, что лапки их кажутся трёхчленистыми, так как третий очень маленький членик вместе с половиной четвёртого скрыт в борозде двулопастного второго членика. Тело божьей коровки полушарообразное или яйцевидное, более или менее выпуклое. Голова короткая с 11, реже 10 членистыми сяжками, прикрепляющимися по бокам переднего края головы и способными подгибаться под голову. Брюшко состоит из 5 свободных члеников. Самый активный период для истребления тли, входящей в рацион божьих коровок, – с весны до поздней осени, зимой божьи коровки забираются под опавшие листья, кору деревьев или камни и там ждут следующей весны. В зависимости от наличия пищи эти насекомые живут от нескольких месяцев до года и очень редко – до двух лет. Молодые особи всегда отличаются яркой окраской, которая постепенно тускнеет с возрастом, при этом оставаясь достаточно убедительным предупреждением для хищников. Эффективный способ защиты – ядовитая резко пахнущая жёлтая жидкость (гемолимфа), которую божьи коровки выделяют из суставов ног – феномен «кровопрыскания» (рис. 12.4).

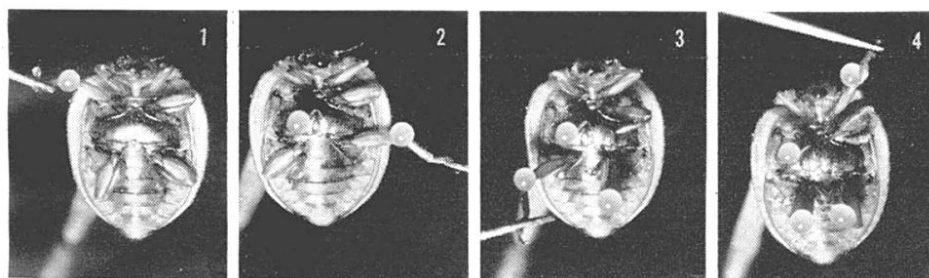


Рис. 12.4. Выделение капелек гемолимфы из суставов ног божьей коровкой *Epilachna varivestis* (Patel, 2012)

Эта жидкость отпугивает их главных врагов – пауков, лягушек и некоторых насекомых, питающихся божьими коровками. Птицы и другие позвоночные животные на божьих коровок не охотятся. Однако у птиц, которым скармливали божьих коровок, наблюдались токсические эффекты: например у обыкновенной лазоревки *Parus caeruleus* при поедании имаго *Coccinella septempunctata*, или у обыкновенной златоглазки *Chrysoperla carnea* при скармливании ей яиц божьей коровки *Adalia bipunctata*. При возможности выбора божья коровка *Epilachna*

<sup>106</sup> В англоязычных странах божью коровку называют Ladybird, Ladybug или Lady Beetle. Объединяющее эти названия слово «Lady» подразумевает Деву Марию, соответственно божья коровка в католических странах считается насекомым Божьей Матери (ср. нем. Marienkäfer, исп. mariquita). Наиболее распространённый вариант наименования божьей коровки указывает на скот, принадлежащий богу или некоему божественному персонажу: рус. божья коровка, болг. божа кравича (кравичка), польск. boża krówka, литов. božųželė, румынск. vasa domnului [«корова (-ка) бога»], серб.-хорв. божа овчица, франц. bête à bon Dieu («животное бога»), roulette à Dieu («курочка бога»). Убийство божьей коровки в ряде культур запрещено. Божья коровка в западной культуре считается одним из символов удачи.

*paenulata* отвергалась тарантулом (*Lycosa* spp.), а паук-краб (*Misumenops tricuspidatus*) отказывался от *Harmonia axyridis* как источника пищи, предпочитая им других кокциnellид. Кокциnellиды, помещенные в муравейник *Formica exsectoides* и подвергшиеся атаке муравьев, выделяли капельки гемолимфы, что заставляло муравьев прекращать нападение на божьих коровок.

Феномен «кровопрыскания» у божьих коровок сопровождается апосематической окраской, в частности ярко окрашенными надкрыльями. Изменение цвета надкрыльев у бесточечных божьих коровок, либо изменение узора на них или, наконец, их полное удаление приводило к увеличению числа спровоцированных нападений большой синицы *Parus major* на кокциnellид.

Кровопрыскание – достаточно затратный защитный механизм. При кровопрыскании личинки *H. axyridis* теряют с гемолимфой до 20% массы своего тела за один раз. Имаго *C. septempunctata* может выделять до 12 мкг алкалоидов при одном акте кровопрыскания. Такая потеря жидкости может оказаться фатальной для жука. Действительно оказалось, что у особей *H. axyridis*, не обладавших кровопрысканием, пронотум статистически больших размеров, чем у особей, использующих кровопрыскание. Куколки кокциnellид также имеют защитную жидкость (рис. 12.5).

Водные растворы гемолимфы божьих коровок при инъекциях токсичны для позвоночных и беспозвоночных животных. Однако токсичность гемолимфы при контактном способе зависит от состояния кожи. При втирании в кожу человека гомогената из *Epilachna chrysomelina* установлено, что ярко выраженный дерматит в виде волдыря, окруженного эриматозным венчиком, наблюдается только при предварительном поранении кожи. Процесс продолжается около 12–20 ч с последующим полным выздоровлением. Неповрежденная кожа человека устойчива к действию гемолимфы кокциnellид. Имеются сообщения о развитии аллергических (риноконъюнктивит) реакций у человека.

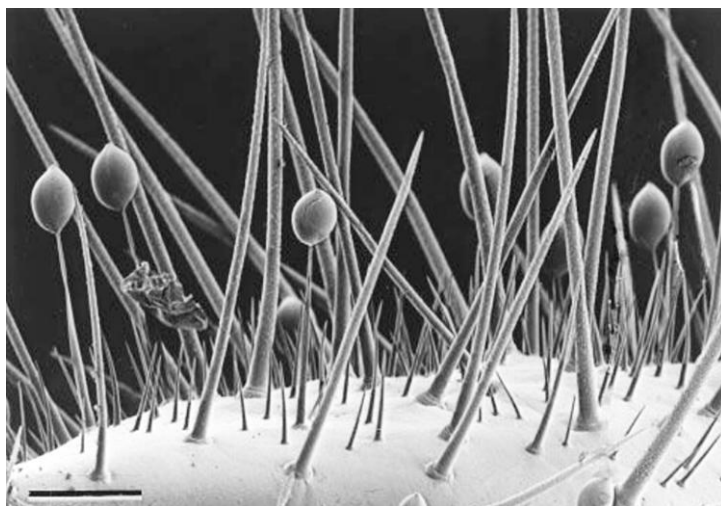


Рис. 12.5. Железистые волоски дорзальных желез куколки *Subcoccinella vigintiquatorpunctata* с капельками защитной жидкости, содержащей макроциклические полиамины. Масштаб 100 мкм (Schroeder et al., 1998)

Гемолимфа кокцинеллид содержит химические вещества, защищающие их от хищников. Первые алкалоиды, выделенные из *Coccinella septempunctata*, были названы *кокцинеллин* и *прекокцинеллин*. Затем из *Hippodamia convergens* были выделены *гипподиамин*, *конвергин* (рис. 12.6).

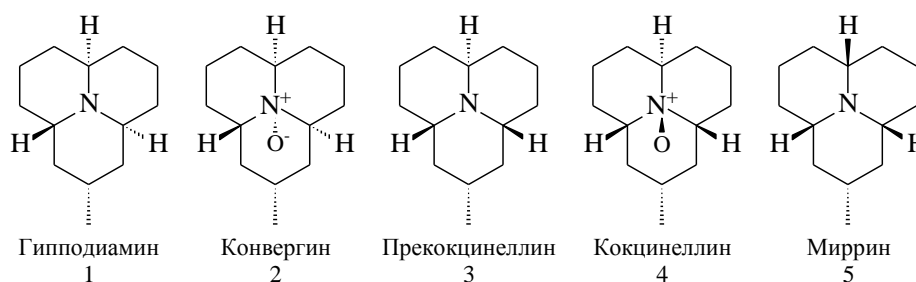


Рис. 12.6. Трициклические четвертичные амины (алкалоиды), выделенные из *H. convergens* (1 и 2), *C. septempunctata* (3 и 4) и *Myrrha octodecimguttata* (5) (Sloggett et al., 2009)

Все выделенные алкалоиды имели сходную структуру и были трициклическими четвертичными аминами. Защитная жидкость, выделяемая *E. varivestis*, содержала 5 компонентов, основным из которых был азамакролид, названный эпилахненом (рис. 12.7).

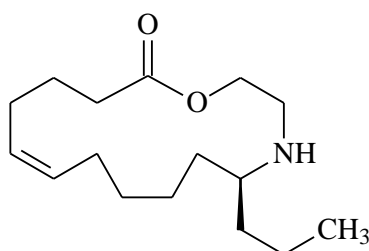


Рис. 12.7. Эпилахнен из гемолимфы *Epilachna varivestis*

В последнее время был проведен детальный анализ химического состава и фармакологического действия биологически активных веществ гемолимфы.

Азиатские божьи коровки *Harmonia axyridis* были интродуцированы в Северную Америку и Европу для биологической борьбы с тлями и червцами. В гемолимфе *H. axyridis* представлены алкалоиды и пиазины<sup>107</sup> (рис. 12.8). Алкалоиды *H. axyridis* действуют на никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (nAChRs) насекомых, что открывает возможность поиска новых специфических пестицидов. В опытах на свободноживущих нематодах *Caenorhabditis elegans* показано, что экстракт алкалоидов *H. axyridis* блокирует нервно-мышечную передачи в глотке (IC<sub>50</sub> = 0.406 мг/мл через 24 ч) и теле нематоды (IC<sub>50</sub> = 0.58 мг/мл через 6 ч). Таким образом, алкалоиды *H. axyridis* могут рассматриваться как перспективные антигельминтные средства.

<sup>107</sup> Пиазин – ароматическое шестичленное гетероциклическое органическое соединение с двумя атомами азота.

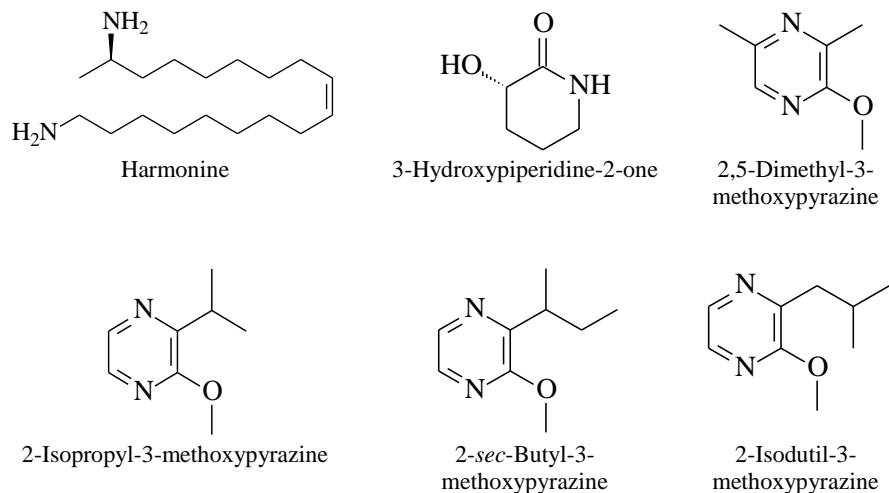


Рис. 12.8. Алкалоиды и пиразины, продуцируемые *Harmonia axyridis* (Sloggett et al., 2011)

Неприятный запах выделяемой гемолимфы также может играть защитную (репеллентную) роль, и сигнальную функцию в этом случае возможно выполняют пиразины. В то же время запах может служить аттрактантом для привлечения особей своего вида. Горькие (для человека) алкалоиды адален и кокцинеллин, содержащиеся в гемолимфе, также могут играть роль репеллентов.

Исследования с помощью радиоизотопов показывают, что алкалоиды божьих коровок синтезируются *de novo* с использованием в качестве прекурсоров жирных кислот.

### 12.1.3. Семейство Листоеды (Chrysomelidae)

Листоеды (Chrysomelidae) – одно из крупнейших семейств жесткокрылых насекомых, насчитывающее до 35000 видов, описанных в 2500 родах. Потенциальное количество видов может быть значительно больше: до 50 или 60 тысяч. Листоеды встречаются везде, кроме Антарктики и большей части арктической зоны. На территории бывшего СССР насчитывается более 1500 видов, в одной лишь Сибири насчитывается свыше 400 видов. Населяют почти все зоогеографические области земли, от водоёмов до высокогорий, от пустынь до полярных островов. Большая часть видов специализируется в выборе кормовых растений и является или олигофагами, или же монофагами. Среди жуков-листоедов встречаются и экономически важные виды, которые используются в биологической борьбе для контроля сорных растений в различных областях Земли. Например, интродуцированный из Канады и Соединённых Штатов на территорию бывшего Советского Союза вид амброзиевый полосатый листоед (*Zygogramma suturalis*) играет роль биологического агента по контролю за сорняком амброзией. Листоед зверобойный (*Chrysolina quadrigemina*) был специально интродуцирован в Северную Америку, Австралию и Новую Зеландию, где зверобой наносит серьёзный ущерб сельскому хозяйству. Или же самый известный вредитель картофеля – колорад-

ский жук (*Leptinotarsa decemlineata*), наносящий огромный ущерб картофелю в периоды бутонизации и цветения.

Рассмотрим двух представителей этого семейства: колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* и жуков диамфидий *Diamphidia locusta*, *D. nigro-ornata*.

**Колорадский жук.** В 1965 г. энтомологи Иллинойского университета (США), изучая гормональную активность гемолимфы различных насекомых, обнаружили, что гемолимфа колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* обладает токсическими свойствами (достаточно 1 мкл, чтобы убить в течение 1 ч взрослую домашнюю муху). Такой же токсичностью характеризуется только гемолимфа клопа-наземника *Oncopeltus fasciatus* в стадии нимфы и имаго. Гемолимфа других насекомых, например нимфы *Carausius morosus* (Orthoptera), личинки *Danaus plexipus* (Lepidoptera), имаго *Tetraopes tetraphthalmus* (Coleoptera), менее токсична и вызывает гибель мух только через 12–24 ч. Представляет интерес толерантность различных насекомых к гемолимфе колорадского жука (табл. 12.1).

Таблица 12.1

Токсичность гемолимфы колорадского жука для насекомых (Hsiao, Fraenkel, 1969)

Виды насекомых	Стадия	Число особей	Число погибших	
			Через 1 час	Через 4 часа
<i>Acheta domesticus</i>	Имаго	10	0	10
<i>Periplaneta americana</i>	Нимфа	15	0	12
<i>Oncopeltus fasciatus</i>	Имаго	15	12	15
<i>Galleria mellonella</i>	Личинка	10	8	10
<i>Ostrinia nubilalis</i>	»	10	0	6
<i>Tenebrio molitor</i>	»	10	0	4
<i>Musca domestica</i>	Имаго	20	20	20
<i>Phormia regina</i>	Личинка	10	10	10

Гемолимфа колорадского жука оказалась высокотоксичной и для млекопитающих. Внутривенное введение мышам 5 мкл гемолимфы вызывает смерть животных массой 25 г в течение 48 ч. При увеличении дозы до 50 мкл гибель животных наблюдается в интервале 1–8 ч. Лиофилизированная гемолимфа сохраняет свои токсические свойства. Ее токсичность для мышей составляет 25 мг/кг, а для домашней мухи – 500 мг/кг. Гемолимфы, полученной из 1 личинки колорадского жука, достаточно для гибели 5 мышей. У отравленных животных наблюдается контрактура мышц живота в месте инъекции токсина, прогрессивное снижение двигательной активности и функции внешнего дыхания. Перед смертью развиваются судороги, вращательные движения, сердце останавливается в диастоле. При вскрытии не обнаружено воспалительных явлений в месте введения гемолимфы и во внутренних органах. Экспериментальная картина отравления крыс гемолимфой колорадского жука имеет некоторые отличия. У животных отмечается прогрессирующее падение температуры тела вплоть до момента смерти. В крови наблюдается повышение гематокрита на 45–70%, вдвое увеличивается концентрация мочевины и значительно возрастает активность аспартатаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы. Существенным является также нарушение электролитного баланса плазмы крови, характеризующегося повышением концентрации  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  и неорганического фосфора. Симптомы отравления крыс гемолимфой колорадского жука близки к картине анафилактического шока.

Активным началом гемолимфы является белок с молекулярной массой 50000, получивший название *лептинотарзин*. Он не аккумулируется с пищей, а является естественным белком гемолимфы колорадского жука. Кроме гемолимфы, этот белок содержится в яйцах. Интересно, что лептинотарзин довольно устойчив к действию протеолитических ферментов. В то же время его инкубация с гомогенатом тела колорадского жука полностью инактивировала токсин, что указывает на присутствие у жука детоксицирующей системы, которой, по-видимому, нет у других насекомых.

Изучение нейротоксичных свойств лептинотарзина не выявило специфического участка его действия у насекомых. Однако на нервно-мышечном препарате лягушки было показано его действие на двигательную концевую пластинку. Лептинотарзин не токсичен для насекомых и млекопитающих при приеме внутрь и, таким образом, не может быть отнесен к типичным токсинам, выполняющим защитную функцию. С другой стороны, имаго и личинка колорадского жука имеют апосематическую окраску, предупреждающую врага о возможной несъедобности. Белок гемолимфы колорадского жука, аналогичный лептинотарзину, был токсичен для симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод *Heterorhabditis marelatus*. Таким образом, по крайней мере один патогенный организм не может развиваться в колорадском жуке. Но этого недостаточно, чтобы связать наличие апосематической окраски с присутствием в гемолимфе лептинотарзина, не токсичного для естественных врагов колорадского жука при парентеральном приеме. Возможно апосематическая окраска больше коррелирует с содержанием гликоалкалоидов, поступающих в организм жука по трофическим цепям.

**Диамфидии.** Ядовитые свойства личинки жуков диамфидий *Diamphidia locusta* (Chrysomelidae), обитающих в Африке, были описаны в середине прошлого века многими путешественниками. Бушмены<sup>108</sup>, обитающие в пустыне Калахари и прилегающих районах саванны Северо-Западной Ботсваны, издавна используют отравленные стрелы для охоты на крупных млекопитающих. Обычным источником получения яда являются куколки жуков, называемых «н'гва» (рис. 12.9). В настоящее время в Южной Африке только группы бушменов, проживающих в северной части пустыни Калахари (Намибия и Ботсвана), используют их для приготовления стрельного яда. Ранее готтеноты и некоторые племена банту также применяли стрельные яды, которые они скорее всего заимствовали у бушменов. Яд готовится из куколок жуков-фитофагов *Diamphidia* и *Polyclada*, обитающих глубоко в земле под корнями деревьев сем. *Burseraceae* и *Anacardiaceae*.

Отравленные стрелы готовятся разными способами. Выкопанные куколки (весом каждая примерно 200 мг) измельчаются ножом, либо можно выдавить содержимое куколки на наконечник стрелы с последующим высушиванием. Необходимо примерно 100 капель, получаемых от 10 куколок. Другой способ заключается в смешивании измельченных куколок с соком растений или слюной.

Полученной пастой смазывается наконечник стрелы и также высушивается на солнце. По другой версии жидкостью (гемолимфой), выделенной из куколок, смазывают непосредственно древко позади наконечника и затем осторожно высушивают над угольями для закрепления яда. Разные племена бушменов используют

---

<sup>108</sup> Бушмены (сан, са, сонква, масарва, басарва, куа) – собирательное название, применяемое к нескольким коренным южноафриканским народам охотников-собирателей, говорящих на койсанских языках и относимых к капоидной расе. Общая численность – около 100 тысяч человек.



Рис. 12.9. Жук *Diamphidia nigro-ornata*: А – имаго, Б – личинка, В, Г – куколка (Wikipedia Commons)

различные растения. Так, бушмены из Каприви<sup>109</sup> смешивают остатки куколок с соком луковец морского лука *Urginea sanguinea* Schinz (Liliaceae). Такой яд действует относительно медленно.

Племена, обитающие в северной части Намибии, используют сок различных видов адениума<sup>110</sup> (*Adenium*, Аросупасеае: *A. boehmianum* Schinz и *A. oleifolium* Stapf). Кроме того, есть сведения о применении сока растений *Boophone disticha* (Amaryllidaceae), *Swartzia madagascariensis* (Fabaceae) и др. Следует подчеркнуть, что сок многих растений является ядовитым сам по себе. В среднем на обработку одной стрелы идет 6–10 куколок. Обработанные такой смесью наконечники стрел сохраняют свою ядовитость в течение 1 года, причем одной стрелы достаточно, чтобы убить взрослого жирафа массой около 500 кг. Для бушменов стрельные яды по-прежнему имеют большое значение.

<sup>109</sup> Полоса Каприви – длинный узкий выступ территории Намибии, которая простирается на 450 км от северо-восточной оконечности основного массива территории страны к востоку к реке Замбези. Её ширина составляет от 32 до 105 км.

<sup>110</sup> На многих языках дословный перевод названия растения означает «роза пустыни».

Изучение источников стрельного яда бушменов показало, что в него могли быть включены, во-первых, жуки-монофаги из сем. Chrysomelidae, во-вторых, растения, служащие им пищей и, наконец, в-третьих, жуки сем. Carabidae, личинки которых паразитируют на диамфидиях (табл. 12.2).

Таблица 12.2

Потенциальные источники диамфотоксина

Насекомые		Растения
сем. Chrysomelidae	сем. Carabidae	
<i>Diamphidia nigro-ornata</i> <i>D. vittapennis</i> <i>Polyclada flexuosa</i>	<i>Lebistina subcrucata</i> <i>L. holubi</i> <i>L. peringueyi</i>	<i>Commiphora angolensis</i> <i>C. africana</i> <i>Sclerocarya caffra</i>

Взрослые самки *Diamphidia nigro-ornata* откладывают яйца на стебли коммифоры<sup>111</sup> и покрывают их своими фекалиями, которые, затвердевая, образуют защитную оболочку. По мере появления личинок разных стадий остатки фекалий остаются прикрепленными к их телу. Личинки старшего возраста зарываются глубоко в землю (до 1 м) под корни растений, на которых развивались, где могут находиться в покое на протяжении нескольких лет, прежде чем перейти к быстрой фазе куколки. На личинках диамфидий паразитируют личинки жужелиц *Lebistina*. Личинка *Lebistina* прикрепляется к зрелой личинке диамфидии до стадии образования кокона, который включает и паразита, продолжающего питаться хозяином. У бушменов бытует мнение, что личинки *Lebistina* более ядовиты, чем их хозяева диамфидии. Однако *Lebistina* обнаруживаются менее чем в 1% коконов хризомелид. Растительные объекты также были исключены и в итоге основным источником были признаны хризомелиды *Diamphidia*.

Выделенный из куколок *D. nigro-ornata* токсин получил название диамфотоксин. Он представляет собой одиночную полипептидную цепь с молекулярной массой ~ 60000, рI 9.5. Молекула диамфотоксина достаточно лабильна и полагают, что она связана с более крупным белком, защищающим ее от дезактивации.

Минимальная летальная доза (MLD) диамфотоксина для мышей при внутривенном введении составляет, по разным данным, от 25 до 1150 пг/г, что позволяет признать его одним из сильнейших природных токсинов. В концентрации  $5 \times 10^{-11}$  моль/л диамфотоксин вызывает гемолиз эритроцитов. При этом на один эритроцит приходится около 65 молекул токсина. Гемолитическая реакция протекает в две фазы. В первой фазе, не требующей присутствия двухвалентных ионов, происходит связывание диамфотоксина с мембраной эритроцита; вторая, собственно гемолитическая фаза, наступает в присутствии 1 ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ . Механизм действия диамфотоксина по-видимому связан с увеличением проводимости ионных каналов клеточных мембран для небольших катионов. Этот эффект показан на культурах клеток  $\text{GH}_4\text{C}_1$ , HL60, а также лейкоцитах. Внутрисосудистый гемолиз, вызванный диамфотоксином, сопровождается интенсивной гемоглобинурией, развитием нефрита. Прогрессирующая

<sup>111</sup> Коммифора (лат. *Commiphora*) – род растений семейства Бурзеровые (*Burseraceae*), включающий в себя более 200 видов деревьев и кустарников, распространённых в Африке, Аравии, Индии и Пакистане.



гемолитическая анемия, сопровождающаяся снижением уровня гемоглобина на 75%, приводит к адинамии животных, резкому падению мышечного тонуса с последующим развитием параличей.

Вопрос о механизмах токсического эффекта диамфотоксина, приводящего к летальному исходу, дискусионен.

Прямой нейротоксический эффект диамфотоксина не установлен, но внутрисосудистый гемолиз может приводить к тканевой гипоксии и, как следствие, нарушению функционирования нервной ткани. Мембранотропный эффект диамфотоксина может лежать в основе широкого спектра патологических клеточных процессов, включая усиление секреторной активности как эндокринных клеток, так и нервных, в частности вызывая высвобождение медиаторов из пресинаптических окончаний.

*Diamphidia nigro-ornata* и *Leptinotarsa decemlineata*, по-видимому, можно считать экологическими эквивалентами. Важно подчеркнуть, что ни в том, ни в другом случае не выявлена связь между растительным источником пищи и токсином, вырабатываемым фитофагом. Отсутствие подобной корреляции может быть связано с химической природой токсинов – белковой, поскольку до сих пор не обнаружены примеры миграции белковых токсинов по пищевым цепям. В то же время карденолиды, например у чешуекрылых, могут мигрировать по пищевым цепям и накапливаться у фитофагов.

#### 12.1.4. Семейство Мелириды (Melyridae)

В 2004 г. из жуков рода *Choresine* (сем. Melyridae) был выделен батрахотоксин<sup>112</sup>, впервые обнаруженный у дендробатид Центральной и Южной Америки, а затем у птиц Новой Гвинеи: двухцветной дроздовой мухоловки (*Pitohui dichrous*, *Pitohui kirhocephalus*) и синеголовой ифриты (*Ifrita kowaldi*)<sup>113</sup>. Жуки были собраны в Восточном Нагорье в 2 км от селения Неговапа на высоте 1400 м. В сборах превалировал вид *Choresine pulchra* (рис. 12.10) – до 85% по численности, менее обильным был *Choresine semioraca* (14%), вид *Choresine rugiceps* был представлен единичными особями. Местные жители связывают наличие батрахотоксина у птиц, в частности у *Ifrita kowaldi*, именно с этими жуками, являющимися пищей птиц. Местное название как жуков, так и ифриты – «нанизани». Этим же словом обозначают парестетические ощущения (необычное покалывание и онемение губ и лица), вызванные контактом с жуками или перьями птиц. Полагают, что жуки *Choresine* sp. являются потенциальным прямым источником батрахотоксинов для токсичных птиц Новой Гвинеи. Альтернативная гипотеза, что птицы и жуки могут получить батрахотоксины от общих источников, например растений, кажется маловероятной. Известно, что ифрита является исключительно насекомоядной, а у дроздовой мухоловки в желудке был встречен *Choresine nigroviolacea*.

<sup>112</sup> Подробнее о батрахотоксине см. главу 16.

<sup>113</sup> См. главу 23.



Рис. 12.10. Жук *Choresine pulchra* (Dumbache et al., 2004)

### 12.1.5. Другие жуки

Известно большое число примеров активной защиты жуков от врагов путем выбрызгивания едких или токсичных секретов (например бензохинонов и толухинонов). Таким способом защищаются чернотелки, жужелицы и др. Так, известно, что жуки-скакуны (подсемейство Cicindelinae, сем. Carabidae – жужелицы) отличаются способностью к быстрому бегу. По соотношению скорости, иногда превышающей 2 м/с, и размеров тела (обычно 1–2 см) эти насекомые оказываются самыми быстрыми наземными животными. Их русское название «скакуны» и английское – «tiger beetle» (жуки-тигры, или тигровые жуки) отражают грациозность, проворность и отличное зрение жуков. Однако кроме скоростных качеств они (например *Megacephala virginica* и *M. carolina*) способны секретировать из пигидиальных желез *манделонитрил*, распадающийся на бензальдегид и синильную кислоту, обеспечивающие защиту жуков от агрессора (рис. 12.11).

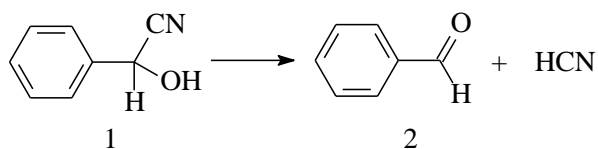


Рис. 12.11. Образование бензальдегида (2) и синильной кислоты из манделонитрила (1)

В качестве защитных агентов используют бензальдегид и синильную кислоту и другие жуки, например австралийские *Paropsis atomaria*, питающиеся на эвкалипте, а также *Chrysophtharta variicolik* и *C. amoena*. Предполагается, что эти соединения защищают жуков от позвоночных, в то время как сами жуки к действию синильной кислоты достаточно устойчивы.

Заметим, что секреция синильной кислоты как защитного агента довольно широко распространена у насекомых и встречается не только у жуков, но и у многоножек, бабочек и полужесткокрылых.

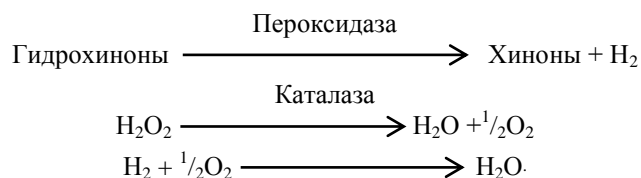
Оригинальный механизм защиты от хищников был обнаружен у жуков-плавунцов *Dytiscus*, *Cybister*. Млечная жидкость, выделяемая из отверстий проторакальных желез этих жуков, содержит высокую концентрацию (до 10%) 11-дезоксикортикостерона, являющегося промежуточным продуктом биосинтеза альдостерона – гормона, регулирующего у высших позвоночных животных водно-солевой обмен. У самих жуков 11-дезоксикортикостерон не участвует в гормональной регуляции, а играет защитную роль. У *Cybister* содержание гормона может достигать 1 мг. При попадании в организм крупных рыб – естественных врагов плавунцов – 11-дезоксикортикостерон вызывает усиленное выведение калия и фосфатов и снижает выведение натрия, хлоридов и воды. Точкой приложения гормона является восходящее колено петли Генле в почечных канальцах, где он стимулирует обратное всасывание натрия в обмен на выведение ионов водорода и калия. Попадание 11-дезоксикортикостерона в организм рыбы в больших дозах приводит к быстрому нарушению водно-солевого и осмотического баланса и вызывает у них состояние шока, во время которого у жука есть возможность спастись. В худшем случае ценой гибели отдельной особи у данной популяции жуков повышается вероятность на выживание.

Состав защитного секрета жуков подсемейств *Colymbetinae*, *Agabinae*, *Corelatinae* соответствует их земноводному образу жизни. Например, *Ilybius fenestratus* производит в проторакальных железах жёлтый алкалоид метил-8-гидроксихинолинкарбоксилат, токсичный для мелких млекопитающих, а также стероиды, защищающие от рыб. Присутствие алкалоидов в секрете многих *Colymbetinae* и *Agabinae* может вызывать спазмы у мелких млекопитающих (например у землероек), поедающих жуков во время их наземной зимовки.

У жуков-вертячков (*Gyrinidae*) из пигидиальных желез выделяется ядовитая для рыб жидкость с резким запахом, активным началом которой является (E,E,E)-3-7-диметил-8,11-дикетододекатриен-2,6,9-аль. Перейдя к жизни в воде, плавунцы сохранили связь с воздушной средой обитания. Они сохранили дыхание атмосферным воздухом, что очень эффективно в бедных кислородом водоёмах. Но такой способ дыхания предполагает наличие водоотталкивающих свойств у покровов, соприкасающихся с атмосферой и участвующих в газообмене. Это условие необходимо для разрыва плёнки поверхностного натяжения воды и для того, чтобы вода не проникала в субэлитральную полость, куда открываются отверстия дыхалец. Поселяющиеся на этих покровах микроорганизмы, водоросли и грибы сделали бы насекомое гидрофильным и неизбежно привели бы к потоплению. Для своей «гигиены» плавунцы производят в специальных железах антисептические секреты, содержащие различные ароматические соединения (бензойную кислоту, бензальдегид, гидрохинон и различные их структурные производные). Эти соединения используются насекомым в процессе груминга и угнетают микрооргани-

мы. Периодически пропитанная этими выделениями гликопротеиновая сеть (с высоким содержанием цистеина, обеспечивающим пространственную структуру) вместе с влипшими в неё погибшими микроорганизмами спадает с жука, освобождая место для формирования новой.

Некоторые жуки обладают железами с ядовитыми и пахучими секретами. Самым ярким примером использования принципа ферментативного катализа для целей химической защиты являются жуки-бомбардиры (*Brachinus*). Они обладают железами, выделяющими смесь химических веществ, которые, вступая во взаимодействие друг с другом в специальной камере брюшка, вызывают экзотермическую реакцию и разогрев смеси до 100°C. Образующаяся смесь веществ выбрасывается наружу через отверстия на кончике брюшка. При возникновении опасности жук-бомбардир ловко подворачивает брюшко и из пары отверстий, расположенных на его кончике, выпускает едкую струю, сопровождающуюся звуком резкого хлопка. Брюшко весьма подвижно, и жук может провести серию следующих друг за другом «взрывов». Химические реакции, обеспечивающие «взрывы», были изучены сотрудниками Корнельского университета (США). Каждая железа *Brachinus* является двухкамерной. Во внутренней, большей по размеру камере накапливаются водные растворы пероксида водорода (25%) и гидрохинонов (10%), которые попадают в этот резервуар по протоку специальной железы. В свою очередь резервуар узким протоком, снабженным мускульным сфинктером, соединяется с наружной камерой, сообщающейся с внешней средой. Клетки внутренней камеры секретируют ферменты каталазу и пероксидазу. Порция субстрата (гидрохинона, метилгидрохинона и пероксида водорода) выдавливается из резервуара в наружную камеру, где мгновенно протекает взрывная реакция. Катализа разлагает пероксид водорода на воду и молекулярный кислород, а пероксидаза окисляет гидрохиноны до соответствующих хинонов:



Под давлением образующихся газов смесь выстреливается в виде аэрозоля при температуре ~ 100°C. Этот весьма эффективный способ защиты не является уникальным, он наблюдается каждый раз, когда используется ферментативный катализ для получения токсического соединения.

Представители подсемейства пауссин (*Paussinae*) обладают менее подвижным брюшком и при необходимости атаковать врага, находящегося спереди, они выпускают горячую жидкость на специальные выступы надкрылий, направляющие её вперёд. Лучше всего эти выступы видны у жуков трибы *Ozaenini*. *Goniotropis nicaraguensis* выбрасывает непульсирующую струю со скоростью 2.4 м/с. Более примитивный механизм защиты описан у представителей трибы *Metriini* – они не формируют струи, как остальные бомбардиры, а выделяют пузырящуюся и брызгающую в разные стороны жидкость.

## 12.2. ЯДОВИТЫЕ ЧЕШУЕКРЫЛЫЕ, ИЛИ БАБОЧКИ (Lepidoptera)

Чешуекрылые, или бабочки, мотыльки, моли (Lepidoptera Linnaeus, 1758, от др.-греч. λεπίς, род. п. λεπίδος – чешуя и πτερόν – крыло) – отряд насекомых с полным превращением, наиболее характерная особенность представителей которого – наличие густого покрова хитиновых чешуек (уплощённых волосков) на передних и задних крыльях (при этом чешуйки расположены как на жилках, так и на крыловой пластинке между ними). Для большинства видов характерен специализированный сосущий ротовой аппарат с хоботком, образованным удлинёнными лопастями нижней челюсти. Форма и размах крыльев весьма разнообразны: от 2 мм до 28 см.

Отряд чешуекрылых по видовому разнообразию несомненно выделяется среди таксонов подобного ранга. Чешуекрылые являются одной из крупнейших групп насекомых, включающей в себя 158570 видов, в том числе 147 вымерших, по состоянию на август 2013 года. Предполагается, что до 100000 видов остаются всё ещё не известными науке и, таким образом, общее число существующих на планете видов чешуекрылых может быть оценено приблизительно в 200000–225000 видов. На территории России встречаются 2166 родов и 8879 видов.

Чешуекрылые используют токсические вещества в качестве средств химической защиты от хищников. Ядовитыми могут быть взрослые насекомые, а также их личинки (гусеницы). Окраска и внешний вид многих бабочек и их преимагинальных стадий развития тем или иным способом связаны с защитой от врагов. Методы защиты от хищников очень разнообразны. Ряд видов обладает скверным запахом и неприятным вкусом, либо ядовиты, всё это делает их несъедобными. Так, например, геликониды в стадии гусеницы поглощают в составе листьев кормовых растений гликозиды с цианистой группой, из которых в процессе метаболизма образуются цианиды, передающиеся и имаго бабочки. Другие виды также несут в себе токсичные соединения: алкалоиды, гликозиды, производные фенолов. А бабочкам рода Ornithoptera, гусеницы которых питаются на лианах рода кирказон, передается также аристолохиевая кислота<sup>114</sup>. Ядовитые и несъедобные виды часто обладают предостерегающей яркой окраской. Бабочки, лишённые таких средств защиты, часто мимикрируют под несъедобные виды, «подражая» не только окраске, но и форме крыльев. Данный вид мимикрии наиболее развит именно у чешуекрылых и называется «бейтсовской». Так, южноамериканские парусники *Papilio bachus*, *Papilio zagreus*, белянка *Dismorphia astynome* окраской и формой крыльев подражают несъедобным видам геликониид. Парусник *Papilio agestor* подражает несъедобной данаиде сита (*Paratica sita*). При «мюллеровской» мимикрии подражающие друг другу виды в одинаковой мере несъедобны. Сходная окраска и внешний вид повышают эффективность отпугивания. Одним из таких примеров является дневной парусник *Papilio laglaizei* (Новая Гвинея), подражающий окраской и формой крыльев ночной урании *Alcides agathyrus*. Оба вида несъедобны.

**Ядовитый аппарат.** Несмотря на то, что ядовитый аппарат некоторых гусениц снабжен ранящими приспособлениями в виде различного рода заостренных волосков,

<sup>114</sup> Аристолохиевая кислота представляет собой сильный капиллярный яд; она обуславливает нарушение кровообращения, поражение слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, почек, печени (дегенерацию печени), центральной нервной системы. При ее назначении внутрь наступают рвота, сильный понос, параличи сердца и дыхания.

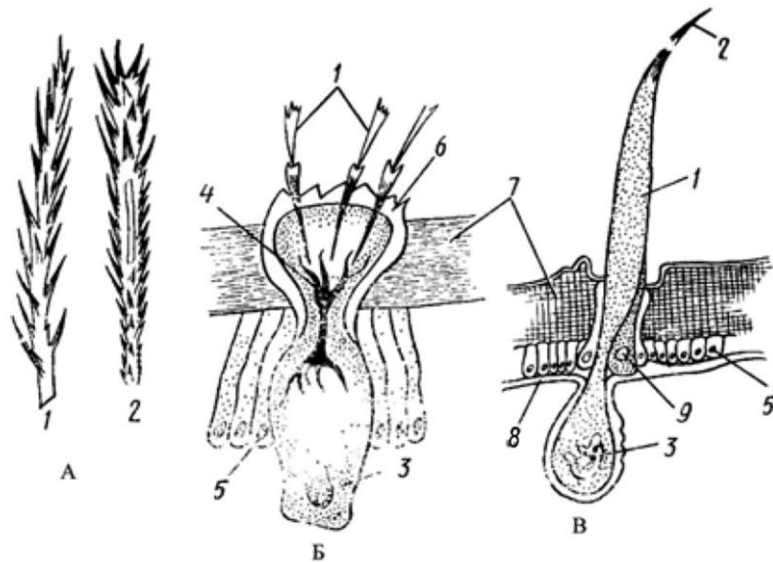


Рис. 12.12. Ядовитые волоски чешуекрылых (Шванвич, 1949): А – волоски златогузки *Nygmia chrysorrhoea*: 1 – защитный, 2 – ядовитый; Б – ядовитые волоски и железы *Nygmia phaeorrhoea*, В – схема строения ядовитого волоска: 1 – ядовитый волосок, 2 – обламывающийся кончик, 3 – ядообразующая клетка, 4 – внутриклеточные ядовитые каналы, 5 – гиподерма, 6 – сосочек, 7 – эндокутикула, 8 – базальная мембрана, 9 – трихогенная клетка

секрет изливается из них наружу пассивно, так как вырабатывающая яд железистая клетка не имеет мышцы-компрессора. Некоторую роль в выдавливании секрета могут играть активные движения тела гусеницы, защищающейся от врага.

Как правило, ядовитая железистая клетка расположена в эпителии и примыкает к специальному волоску. Такие волоски всегда полые и заполнены ядовитым секретом. Изучение ультраструктуры ядовитых волосков гусениц слизневидки *Parasa consocia* с помощью сканирующей электронной микроскопии показало, что на острие волоска отверстия нет. Заостренный кончик волоска очень тонкий и легко обламывается, в результате чего ядовитый секрет изливается наружу (рис. 12.12).

Однако у некоторых гусениц, например *Megalopyge* (рис. 12.13), канал ядовитого волоска имеет отверстие на верхушке, закрытое пробочкой. Все ее тело покрыто длинными густыми волосками, которые сами по себе не представляют какой-либо опасности. Но под собой они скрывают ядовитые волоски, одного прикосновения к которым достаточно, чтобы получить сильное жжение, сыпь и сильнейшую боль.

У златогузки (*Euproctis*) волоски имеют форму зазубренных стрелок и погружены острыми концами в резервуар железистой клетки. В каждой клетке находится от трех до двенадцати волосков, а железы образуют большие скопления на спинных бугорках гусеницы. Волоски очень малы, легко выпадают из желез, попадают на кожу человека, в глаза, дыхательные пути и т.д.



Рис. 12.13. Гусеница *Megalopyge opercularis* (Wikipedia Commons)

У некоторых гусениц бабочек имеются ядовитые кожные железы, выделяющие свой секрет наружу. Эти железы могут быть расположены на брюшной стороне переднегруди. У гарпии железа имеет мышечную оболочку и способна выбрызгивать свой секрет на некоторое расстояние. У *Euproctis* имеются абдоминальные железы в виде выворачивающихся бугорков, часто ярко окрашенные. С этими бугорками связаны версоновские железы, выделяющие при раздражении едкий секрет.

**Клиника отравления.** Клиническая картина отравления зависит от токсичности данного вида гусениц, а также интенсивности поражения, связанного с количеством внедрившихся волосков, и, наконец, от локализации их проникновения. Как правило, поражаются открытые части тела: лицо, шея, кисти рук<sup>115</sup> (рис. 12.14). Более серьезные страдания причиняют волоски, попавшие в глаз. Отмечены также случаи попадания ядовитых волосков в пищеварительный тракт и дыхательные пути. Дерматиты и конъюнктивиты – наиболее характерные симптомы поражений чешуекрылыми. Эти отравления носят как случайный, так и профессиональный характер (у садовых рабочих, а также при разведении шелковичных червей).

Как правило, поражение ядом чешуекрылых проходит для человека без серьезных последствий. Однако в некоторых случаях, например при поражении ядом гусеницы *Megalopyge urens* в Уругвае, кроме очень сильной местной боли развиваются иногда и симптомы общей интоксикации, выражающиеся в возбуждении, появлении страха смерти, брадикардии, диспноэ, судорогах и рвоте. В США в штатах Техас, Луизиана и Флорида в период с июля по ноябрь регистрируются многочисленные случаи поражения *Megalopyge opercularis*. Симптомы отравления включают сильную местную боль, жжение, зуд, отеки, тошноту, расстройство кишечника и головную боль.

После завоза златогузки *Euproctis chrysorrhoea* в начале прошлого века в США там были описаны дерматиты и конъюнктивиты, вызванные гусеницами этого вида. При массовых поражениях приходилось закрывать школы. В наше время (2007 г.) из-за теплых зим наблюдается нашествие златогузки в Великобритании.

---

<sup>115</sup> В сумме поверхность этих частей тела составляет у человека 5%, что может быть критичным.



Рис. 12.14. Поражение руки гусеницей *Megalopyge opercularis* (Wikipedia Commons)

Гусеницы рода *Thaumetopoea* странствуют группами, в виде длинных колонн или процессий, отчего они и получили название процессионных, или походных шелкопрядов. Представителями рода *Thaumetopoea* являются дубовый походный шелкопряд *Thaumetopoea processionea*, южный походный шелкопряд *Thaumetopoea pityocampa*, сосновый походный шелкопряд *Thaumetopoea piniopra*. В конце XIX в. в Германии на некоторое время запрещали проход и проезд в лесах, зараженных походным шелкопрядом. Для облегчения зуда кожи предлагали натирать зудящие места маслом, сметаной, разными мазями, а для смягчения зуда в глотке – пить молоко или сливки. Тонкие, легко ломающиеся и зазубренные волоски гусениц походного шелкопряда содержат муравьиную кислоту в такой концентрации, что, попадая на кожу человека, она вызывает ожог. Если же волоски будут проглочены пасущимся скотом, то могут стать причиной тяжелого воспаления и даже смерти. Эфирный экстракт испражнений гусениц походного шелкопряда обладает таким же действием, как и сами волоски – то есть гемолимфа гусениц и жидкость, которую бабочка выпускает при выходе из куколки, одинаково ядовиты. Но при обработке эфиром волоски теряют свою токсичность.

У коконопряда сибирского *Dendrolimus sibiricus* ядовитые волоски гусениц длиной до 1.7 мм очень опасны особенно в период массового размножения бабочек. Волоски образуют темно-синие поперечные полосы по заднему краю первого и второго сегментов тела гусеницы. В спокойном состоянии щетки погружены в складки между сегментами. Побеспокоенная гусеница выгибает тело, направляя ядовитые щетки навстречу источнику раздражения. Внутри волоска капиллярная полость заполнена секретом ядовитой железы. При попадании в глаз или на кожу кончик волоска обламывается, и яд вытекает в ранку. У людей, находящихся в лесу в очагах массового размножения сибирского шелкопряда, возникают воспаления слизистой оболочки глаз, дерматиты различной тяжести вплоть до изъязвлений кожи. При попадании в кожу большого числа ядовитых волосков этих гусениц может развиваться воспаление суставных сумок пальцев и лучезапястного сустава. Причина недуга состоит в том, что при сокращении мышц проникшие в них зазубренные волоски постепенно продвигаются вглубь и накапливаются в более плотной ткани суставных сумок. Воспаление может длиться до 4 месяцев.



Непарный шелкопряд *Lymantria dispar* распространен в европейской части России (кроме севера), в Крыму, на Кавказе, в горах Средней Азии и на Дальнем Востоке. Название вида связано со значительными различиями внешнего вида самцов и самок: самка значительно больше самца, 55–90 мм в размахе крыльев, тогда как у самца – 35–55 мм. После первой линьки у гусениц появляются защитные ядовитые волоски. Во время массового размножения бабочек воздух в лесу бывает наполнен ядовитыми волосками, которые могут вызвать появление дерматита в виде крапивницы.

Лечение отравлений чешуекрылыми носит симптоматический характер – карбонат натрия, хлорид кальция, антигистаминные препараты. Профилактические мероприятия заключаются в защите наиболее легкоуязвимых частей тела (лица, шеи, рук) от попадания волосков гусениц. Для этого используют спецодежду, очки, сетки, перчатки. Целесообразно оповещать население о массовом выплоде шелкопряда, чтобы избежать посещений опасных участков леса.

**Общая характеристика яда чешуекрылых.** По своему происхождению токсические вещества чешуекрылых можно разделить на две категории: первая группа – соединения растительного происхождения, накапливающиеся в тканях личинок и имаго без структурных изменений (дигиталис, пирролизидиновые алкалоиды), либо метаболизирующие в организме насекомых (метилазоксиметанол, дериваты пирролизидиновых алкалоидов); вторая группа – вещества, секретируемые насекомыми в разные фазы их жизненного цикла: HCN,  $\beta,\beta$ -диметилакрилилхолин, токсические белки и др. Таким образом, среди чешуекрылых встречаются как первично-ядовитые, так и вторично-ядовитые.

Для зоотоксикологии особый интерес имеют вещества, синтезируемые в организме первично-ядовитых насекомых. Изучение их химической природы и механизмов действия во многом способствовало пониманию патогенеза поражений, вызываемых чешуекрылыми. Одним из характерных компонентов ядовитого секрета гусениц является гистамин, обнаруженный тонкослойной хроматографией у *Parasa consocia* и *Euproctis subflava*. Эффективность противогистаминных препаратов при поражении ядовитыми волосками гусеницы соснового походного шелкопряда *Thaumetopoea arityocampa*, обычной для Средиземноморья, также указывает на присутствие гистамина. Большое содержание гистамина обнаружено у бабочек *Callimorpha* (до 750 мг/г). А у бабочек-пестрянок *Zygaena* кроме гистамина имеется синильная кислота, чем объясняется высокая токсичность для мышей экстрактов из тела пестрянок.

При сравнительном анализе химического состава секрета ядовитых волосков *Euproctis subflava* (Япония) и *E. chrysorrhoea* (Нидерланды) были обнаружены белки с молекулярной массой от 32000 до 96000, обладающие протеолитической и эстеразной активностью. Интересно, что в яде *E. chrysorrhoea* преобладала трипсиноподобная активность, тогда как для яда *E. subflava* было характерно химотрипсиноподобное действие. В обоих ядах обнаружена фосфолипазная активность, которая в 50–100 раз выше у *E. chrysorrhoea*. Особый интерес вызывает кининлибераторное действие яда *Euproctis*, очевидно связанное с его калликреиноподобным действием. Высвобождение кининов под действием яда может быть одним из основных патогенных факторов, вызывающих кожную реакцию при контакте с ядовитым волоском. Хроматографическое разделение яда *Parasa consocia* на высоко- и низкомолекулярные белковые фракции показало наличие в них компонентов, вызывающих сильную боль и сокращение гладкой мускулатуры у экспериментальных животных. Для низкомолекулярной фракции этот компонент, возможно, идентичен брадикинину. Химическое

изучение яда гусеницы *M. urens*, обычной в феврале и марте для юга Уругвая, показало, что он обладает аллогенной, протеазной и гемолитической активностью. Чувствительность эритроцитов разных видов животных к яду *M. urens* падает в ряду человек, собака, крыса. В яде *Megalopyge opercularis* (США) обнаружен белок с калликреиновой активностью.

Рассмотрим подробнее некоторых наиболее изученных представителей семейств ядовитых чешуекрылых.

### 12.2.1. Семейство Медведицы (Arctiidae)

Типичный представитель – ночная бабочка медведица-кайя (*Arctia caja*). Размах крыльев 50–80 мм. Длина переднего крыла 25–33 мм. Окраска верхней стороны крыльев коричнево-белая с неправильным извилистым рисунком, отличающимся большой вариабельностью. Верхняя сторона задних крыльев светло-красная с пятью большими округлыми пятнами, цвет которых варьирует от черного до голубоватого. Голова и грудь темные, красно-бурые, брюшко красное, с черными поперечными полосками (рис. 12.15). Бабочки отличаются полиморфизмом. У каждой особи индивидуальный рисунок верхней стороны крыльев. Верхняя сторона задних крыльев может быть красного или жёлтого цвета, с множеством пятен или вообще без них, или однотонной черной. У особей, развивающихся в одинаковых условиях, порой наблюдается вариабельность окраски, причём иногда эти различия настолько велики, что бабочек можно принять за представителей различных видов. Медведица-кайя широко распространена на территории всей Европы, а также Сибири, Дальнего Востока, Средней и Малой Азии, Китая, Кореи и Японии, Северной Америки. В горах поднимается на высоту до 3000 м над уровнем моря. Предпочитает влажные участки, речные низменности, сады, парки. Часто встречается в культурных ландшафтах. Время лёта: июль–август. Бабочки активны ночью, часто летят на свет. В июле оплодотворённые самки откладывают яйца большими голубовато-белыми группами на нижнюю сторону листьев. Стадия гусеницы – с сентября по май. Зимует гусеница, длина ее около 60 мм. Окраска гусеницы черная, она покрыта длинными волосками с белыми кончиками. При опасности гусеница падает с кормового растения на землю, сворачивается и притворяется мертвой. Гусеницы являются полифагами, питаются листьями различных видов травянистых и кустарниковых пород растений. Основные кормовые растения: малина, ежевика, калина, жимолость, вереск, борщевик, дрок. Питаются также листьями таких пород как яблоня, земляника, груша, слива. Окукливание происходит в мае. Гусеница окукливается в паутинном коконе бурого цвета.

Из брюшка самок *Arctia caja* выделен полипептид с молекулярной массой 1000 Да, названный кайин. Кайин в концентрации 1 мг/мл вызывает необратимую контрактуру нервно-мышечных препаратов саранчи (рис. 12.16А), таракана и бабочки-капустницы, сопровождающуюся деполяризацией мышечной мембраны (рис. 12.16Б) и угнетением ПКП (рис. 12.16В). При пятиминутной экспозиции кайин вызывает ультраструктурные нарушения саркоплазматического ретикулума и митохондрий мышц саранчи и эндоплазматического ретикулума слюнных желез мух *Calliphora*. В безкальциевой среде кайин неактивен, но добавление  $Ca^{2+}$  в раствор сразу же приводит к сокращению мышцы. Следует отметить, что структурные изменения, вызываемые кайином, имели место и в бескальциевой среде.



Рис. 12.15. Бабочка медведица-кайя *Arctia caja* (Wikipedia Commons)

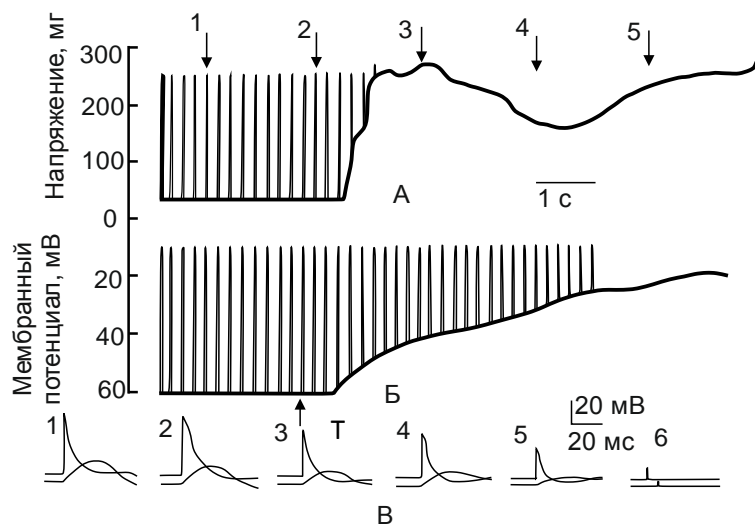


Рис. 12.16. Влияние активного гомогената (1 мг/мл) из бабочки *Arctia caja* на нервно-мышечный препарат саранчи (Rothschild et al., 1979): на А стрелками отмечены моменты регистрации, соответствующие записям ПКП 1–5 на В, Т – момент введения токсина

Кайин оказался токсичным и для млекопитающих, но только при парентеральном введении и не оказывает влияния при введении *per os*. Так, внутрибрюшинное введение кайина мышам в дозе, эквивалентной вытяжке, полученной из 0.05–0.1 части брюшка, вызывает через 1–2 мин остановку дыхания, судороги, смерть. Введение этого соединения кошкам приводит к развитию тахикардии, апноэ и двухфазному изменению АД. Существенной характеристикой токсина является отсутствие его действия на нервно-мышечный препарат амфибий, синаптическая передача которых имеет отличия от членистоногих по чувствительности к экстраклеточному  $Ca^{2+}$ , а также по химизму медиаторов. У членистоногих, как известно, развита глутаматергическая синаптическая передача. Поэтому в механизме действия кайина можно выделить по крайней мере два аспекта: первый – это возможная функция как кальциевого ионофора, второй – действие, аналогичное медиаторам беспозвоночных.

Остается дискуссионным вопрос о биологической целесообразности наличия у медведицы-кайи токсина (кайина), действующего на потенциальных хищников (позвоночных) только минуя пищеварительный тракт. Напомним, что аналогичная ситуация имеет место в отношении лептинотарзина – действующего начала колорадского жука. Имеет смысл привести данные сравнительного анализа кайина и лептинотарзина (табл. 12.3).

Таблица 12.3

Сравнение характеристик лептинотарзина из колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) и кайина из бабочки медведицы-кайи (*Arctia caja*) (Rothschild et al., 1979)

Лептинотарзин	Кайин
Присутствует в гемолимфе и яйцах, отсутствует во внутренних органах. Обнаружен в личинках на поздней стадии развития	Возможно отсутствует в гемолимфе или присутствует в следовых количествах. Присутствует в брюшке самок, половых железах и яйцах. Не обнаружен в куколках на поздней стадии.
Кислый термолабильный недиализируемый белок, $M_r$ 50000 Да	Небольшой термолабильный полипептид, $M_r$ 1000 Да, обладает сильным положительным зарядом
Летален для позвоночных и насекомых при парентеральном введении	Летален для позвоночных и насекомых при парентеральном введении
Не активен при пероральном введении	Не активен при пероральном введении
Не влияет на ЦНС таракана	Не влияет на нервную передачу в ганглиях таракана
Апосематический вид. Возможно неприятен на вкус	Апосематический вид. Умеренно неприятен на вкус
Возможно имеется только один токсический компонент	Возможно имеется более одного токсического компонента
Возможно оказывает обратимый токсический эффект на нервно-мышечную передачу у лягушки	Не влияет на мышцы лягушки, но необратимо блокирует мышцы саранчи

Возможное объяснение заключается в том, что лептинотарзин и кайин, в норме присутствующие в гемолимфе колорадского жука и бабочки медведицы-кайи, являются естественными метаболитами, а их токсичность – вторична. Контраргумент сводится к вопросу: зачем тогда колорадскому жуку и бабочке медведицы-кайе апосематическая окраска?

Следует отметить, что бабочка-медведица, способная *de novo* синтезировать кайин, использует в своей токсинологической стратегии и кайромоны. Так, из нескольких видов бабочек сем. Arctiidae, питающихся на крестовнике (Senecio) и кроталарии (Crotalaria), были выделены пирролизидиновые алкалоиды<sup>116</sup>, характерные для этих растений. Алкалоиды крестовника были представлены сенеционином, сенецифиллином, интегерриминном, якобином, якозином, яколином, яконином. Из кроталарии были выделены монокроталин, триходесмин и криспатин (рис. 12.17).

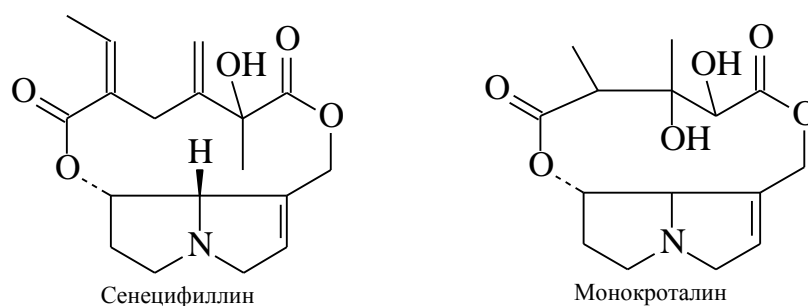


Рис. 12.17. Пирролизидиновые алкалоиды крестовника (сенецифиллин) и кроталарии (монокроталин), обнаруженные в бабочках сем. Arctiidae

Красная морфа медведицы *Tyria jacobaeae* (var. *conyij*) содержала значительно меньше метаболита, чем бабочки нормальной морфы. Самки желтой медведицы *Spilosoma lutea*, питающейся на тех же растениях крестовника, что и *T. jacobaeae*, содержали заметно больше якобина и яколина, чем самцы. Известно, что пирролизидиновые алкалоиды более токсичны для растительноядных млекопитающих, чем для насекомых-фитофагов. Многие виды крестовника вырабатывают алкалоиды, включая пирролизидиновые; нередко их содержание достаточно высоко, а потому может вызвать отравление у людей и животных. Но именно высокое содержание алкалоидов является причиной использования некоторых видов крестовника в качестве лекарственных растений, а также как сырья для производства медицинских препаратов. По-видимому пирролизидиновые алкалоиды, как и многие вторичные метаболиты растений, сдерживают агрессию растительноядных млекопитающих, но одновременно защищают бабочку медведицу от хищников. Таким образом, бабочка медведица получает селективные преимущества при питании на крестовнике и кроталарии.

<sup>116</sup> Пирролизидиновые алкалоиды – группа азотсодержащих алкалоидов преимущественно растительного происхождения, 14 семейств растений, а также организмов животных, – содержат в своих молекулах остаток пирролизидина. Наиболее богаты данными алкалоидами растения родов Бузульник (*Ligularia*), Крестовник (*Senecio*) из семейства Астровые и др.

### 12.2.2. Семейство Павлиноглазки (Saturniidae)

Павлиноглазки, или сатурнии, или глазчатки (Saturniidae) – семейство чешуекрылых. Насчитывает более 2300 видов. Крупные или очень крупные бабочки с большими широкими крыльями. Размах крыльев большинства видов мировой фауны – 80–140 мм, отдельных видов – до 28 см (самка Павлиноглазка геркулес). Тело вальковатое, густо опушенное. Каждое крыло несет крупное дискоидное «глазчатое» пятно. Самцы обладают исключительным обонянием, с помощью которого способны отыскивать самок по выделяемым ими феромонам на расстоянии до 1 км и более. Гусеницы крупные, густо покрыты длинными волосковидными щетинками, реже голые с яркими бородавками с пильчато зазубренными шипами и щетинками. Гусеницы, как правило, полифаги, реже трофически связаны с несколькими близкими видами растений. Распространены всесветно, наиболее богато представлены в тропиках и субтропиках Старого и Нового Света. Известны опасные представители рода *Lonomia*, относящиеся к подсемейству *Hemileucinae*, включающее около 400 видов бабочек, распространенных в Южной, Центральной и Северной Америке. *Lonomia obliqua* встречается в Аргентине, Уругвае, тропических лесах южной Бразилии, прекрасно маскируется под окружающую листву (рис. 12.18).

*Lonomia obliqua* обитает на диких деревьях, кедре, в фиговых рощах, а также на фруктовых деревьях, таких как персик, авокадо, слива, груша и других. Длина гусениц *Lonomia obliqua* достигает 7 см в длину, она обитает на стволах деревьев, где её очень трудно заметить. Гусеницы зеленовато-коричневого цвета с разветвленными шипами в форме елки, зеленого цвета. Лономии подвижны в течение всего дня. Они любят тень и влагу, а потому их естественное место обитания в лесу, но могут попасть и во двор жилых домов. Отравление происходит в результате неосторожного контакта с гусеницей. Сведения об отравлениях гусеницами *Lonomia*, сопровождающихся выраженными геморрагическими расстройствами, в том числе с летальным исходом, появились в 60-е годы прошлого века в Венесуэле и затем в 80-е годы в Бразилии. Так, например, в штате Риу-Гранди-ду-Сул в период с 1997 по 2005 гг. было зарегистрировано свыше 1000 случаев. В отличие от других животных, у гусеницы ланомии нет специализированных желез. Яд вырабатывается секреторным эпителием, расположенным под кутикулой. Щетинки имеют полый канал, по которому яд впрыскивается в жертву при обламывании кончика щетинки. Симптомы отравления включают местные реакции – боль, воспалительную реакцию, которые возникают сразу же после контакта с гусеницей. Системные реакции – головная боль, рвота, астения – возникают спустя несколько часов, к ним присоединяется геморрагический диатез, характеризующийся гематомами и эхимозами (рис.12.19), гематурией, легочной и внутримозговой геморрагией и острой почечной недостаточностью. У отравленных пациентов отмечено удлинение коагуляционных параметров: протромбинового времени и активированного частичного тромбопластинового времени. Лабораторные тесты показывают также снижение уровня плазменного фибриногена, факторов V и XIII, прекалликреина, плазминогена, протеина C и  $\alpha_2$ -антиплазмина. Уровень тромбин-антитромбинового комплекса и D-димеров повышался.

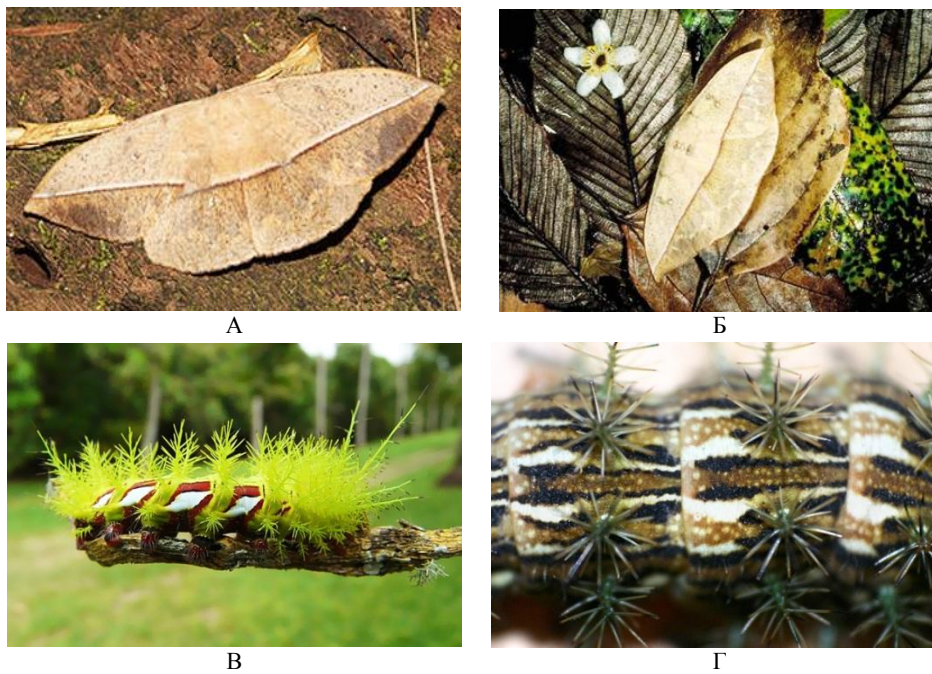


Рис. 12.18. Бабочка и гусеница *Lonotia obliqua*: А – имаго, Б – она же на фоне листы, В – гусеница, Г – гусеница крупным планом (Wikipedia Commons)



Рис. 12.19. Геморрагии и эхимозы, вызванные контактом с гусеницей *Lonotia obliqua* (Wikipedia Commons)

Не изменялись значения фактора Виллебранда, факторов X и II. Взятые вместе эти факты свидетельствуют о том, что при отравлении *L. oblique* создается значительное количество внутрисосудистого тромбина и активируется фибринолитическая система. Активация свертывающей системы крови и фибринолиза ведет к развитию коагулопатии потребления<sup>117</sup>, характерной при этом виде отравления. Итак, яд *L. oblique* способен прямо и опосредованно активировать свёртывание крови и фибринолиз, ведущие к коагулопатии потребления. К этому следует добавить гипоагрегацию тромбоцитов, запускающую геморрагический синдром, наблюдающийся как в клинике, так и в эксперименте. Кроме того, яд оказывает прямое действие на эритроциты, вызывая гемолиз и гемоглобинурию. Равным образом, воспаление и нарушение сосудистой проницаемости вызывают гипотензию, местную боль, отек, клеточную инфильтрацию и увеличение проницаемости ГЭБ.

В Институте Бутантан (Бразилия) создана сыворотка «Anti-Ionomic serum» (ALS), полученная путем последовательной внутримышечной иммунизации лошадей экстрактом щетинок гусениц *L. oblique*. В лабораторных условиях для исследовательских целей гусеницы *L. oblique* могут быть выращены на листьях платана клёнолистного *Platanus acerifolia*.

### 12.2.3. Семейство Нимфалиды (Nymphalidae)

Рассмотренные примеры химической защиты позволяют классифицировать используемые различными организмами химические соединения как *алломоны* (приносящие пользу организму-продуценту). Однако некоторые насекомые достигли такого совершенства, что алломоны растений стали для них *кайромонами*. Примером тому могут служить бабочки подсемейства Danaidae, включаемые в сем. Nymphalidae. Данаиды – бабочки средних и крупных размеров. Глаза голые, усики булабовидные, постепенно утолщающиеся к вершине, короче половины костального края переднего крыла. Передние ноги редуцированы и не функционируют при хождении у обоих полов. В окраске преобладают коричневые, оранжевые, желтые и голубые тона, некоторые виды имеют синюю иризирующую окраску. Распространение всесветное, ограничено тропическим и субтропическим поясами, единицы видов встречаются за пределами этих поясов. В мировой фауне более 300 видов, из которых в Палеарктике встречаются 4, в бывшем СССР – 2, в Закавказье – 1. В природе для гусениц всего подсемейства Danaidae характерна привязанность к растениям семейства Кутровые, таким как ваточник, цинанхум, тилофора и т.п. Характерные представители – *Danaus chrisippus*<sup>118</sup>, *Danaus plexippus* и др., обладающие яркой апосематической окраской. Эта окраска извещает потенциальных агрессоров о возможной ядовитости бабочек (рис. 12.20, 12.21).

---

<sup>117</sup> Коагулопатия потребления – см. синдром диссеминированного сосудистого свертывания, дефибринационный синдром, DIC – disseminated intravascular coagulation.

<sup>118</sup> Данаиды (др.-греч. Δανυΐδες) – в древнегреческой мифологии 50 дочерей царя Даная, убившие своих мужей в брачную ночь. Видовое название дано в честь Хрисиппа, в древнегреческой мифологии – сына Пелопса и нимфы Аксиохи (данаиды).





А



Б

Рис. 12.20. Бабочки-данаиды:  
А – *Danaus chrysippus*;  
Б – *Danaus plexippus*  
(Wikipedia Commons)



Рис. 12.21. Гусеница *Danaus chrysippus* (Wikipedia Commons)

Действительно, бабочек-данаид избегают многие насекомоядные птицы. Специальные исследования подтвердили, что голубые сойки (*Cyanocitta cristata*), которых кормили данаидами, сильно заболели. Химический анализ личинок и имаго данаид показал, что они содержат около десяти так называемых карденоли-

дов<sup>119</sup>, относящихся к группе сердечных гликозидов. Аналогичные соединения были обнаружены в млечном соке ваточника (*Asclepias curassavica*) и колотрописов сем. Кутровые, Аросунасеае (*Calotropis procera*, *Calotropis gigantea*), на которых питаются эти бабочки (рис. 12.22).

Калотропис высокий, или содомское яблоко (*C. procera*) произрастает в диком виде в пустынных и полупустынных районах Северной и Тропической Африки, Западной и Южной Азии и Индонезии. Это небольшое дерево или кустарник с серой корой, высотой до 6 м. Плоды круглые зелёные, состоящие из двух вскрывающихся по брюшным швам листовок. Биологически активные вещества калатрописа обладают широким спектром фармакологического действия.

Калотропис гигантский (*C. gigantea*) произрастает в диком виде в Китае, Индии, Пакистане, Индонезии, Малайзии, Таиланде, на Шри-Ланке и Филиппинах. Он также интродуцирован в тропическую Африку, Австралию и на острова Тихого океана. Кустарник от 1 до 5 м высотой. Листья растения служат пищей для многих насекомых, в том числе бабочки *Danaus plexippus*. Они содержат клейкий ядовитый латекс, в частности применявшийся местным населением для изготовления отравленных стрел.

Ваточник, или Ластовень, или Асклепиас (*Asclépias*) – сем. Кутровые. Это многолетние травы, полукустарники и кустарники из Северной и Южной Америки – свыше 100 видов. Млечный сок всех ваточников ядовит (как и чистотел, используется в народной медицине для выведения бородавок). Сильный запах цветов привлекает многих насекомых, особенно бабочек-данаид. Семена имеют шелковистые волоски – отсюда русское название рода.

Исследование экстрактов, полученных из взрослых особей данаид (самцов и самок) и яиц, собранных на о. Тринидад и во Флориде, показало, что в них содержится по крайней мере 10 индивидуальных карденолидов, пять из которых были идентифицированы как *калатоксин*, *калатропин*, *калактин*, *калатропагенин* и *узарегинин* – вещества, токсичные для птиц – естественных врагов данаид (рис. 12.23). Узарегинин является минорным компонентом, тогда как первые четыре соединения встречаются в больших количествах. В 50 яйцах *D. chrisippus* общей массой 8 мг суммарное количество карденолидов составляет 0.012 мг.

Взрослая бабочка способна накопить в своем туловище такое количество токсинов, которое в несколько раз превышает смертельную дозу для собаки.

---

<sup>119</sup> Карденолиды – агликоны растительных сердечных гликозидов. Образуются при ферментативном или кислотном гидролизе соответствующих гликозидов. Остротоксичные вещества, вызывающие резкое сокращение миокарда при попадании в кровь; обычно сами К. несколько менее активны, чем их гликозиды. К. подавляют активный транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{K}^+$  через мембраны клеток сердца вследствие ингибирования мембранной АТФазы; возникающее при этом увеличение внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  сопровождается повышением сократимости миофибрилл. Типичные представители К. – дигитоксигенин, входящий в состав гликозидов наперстянки, строфантин, содержащийся в гликозидах строфанты, и олеандригенин, входящий в гликозиды олеандра. Некоторые растительные насекомые (например бабочки-данаиды, саранча и др.) накапливают К., поступающие к ним от растения-хозяина, что делает их несъедобными для птиц. Карденолиды используются в виде галеновых препаратов в медицине.



Рис. 12.22. Растения, на которых питаются бабочки-данаиды: А – калатропис высокий *Calotropis procera*; Б – плоды калатрописа высокого; В – калатропис гигантский *Calotropis gigantea*; Г – ваточник *Asclepias curassavica* (Wikipedia Commons)

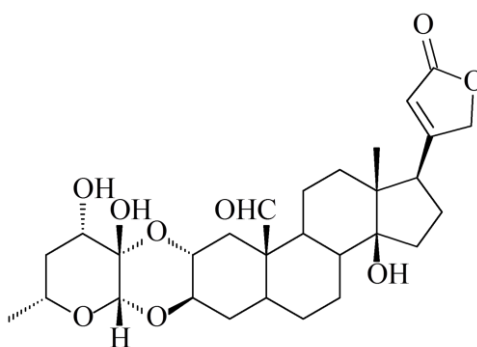


Рис. 12.23. Калатропин. Брутто-формула  $C_{29}H_{40}O_9$ ,  $M_r$  532.62

При нападении данаида фальсифицирует смерть, из нее выделяется жидкость с очень неприятным запахом и вкусом, вызывающая у хищника рвоту и заставляющая быстро отказаться от добычи. Насекомые редко запасают все карденолиды растения-«хозяина», однако все те карденолиды, которые накапливаются в организме насекомого, непременно содержатся в соответствующем растении. Бабочки, которые вывелись из личинок, выращенных на пище без карденолидов, не вредны для голубых соек. Это доказывает, что в организме данаид синтез карденолидов *de novo* не происходит. Таким образом, карденолиды растений – это алломоны, которые в результате *функциональной инверсии* стали кайромонами для бабочек-данаид.

В последнее время показано, что калатропин тормозит Wnt-сигнализацию<sup>120</sup>, уменьшая дозозависимым образом содержание ядерного и цитозольного  $\beta$ -катенина, способствуя его деградации за счет увеличения фосфорилирования киназой 1а. Кроме того, калатропин достоверно увеличивает уровень киназы 1а и мРНК. Полагают, что калатропин является первой малой молекулой, увеличивающей уровень киназы 1а и тем самым тормозящей сигнальный путь Wnt.

То, что химическая защита не может обеспечить абсолютной безопасности, наглядно иллюстрирует следующий пример. В Центральной Мексике, где зимует большое количество *Danais plexippus*, до 60% этих бабочек истребляется двумя видами насекомоядных птиц – чернопинным трупалом (сем. Icteridae) и черноголовым толстоносом (сем. Fringillidae). Детальное исследование показало, что трупал, чувствительный к карденолидам, весьма разборчив в пище и выедает у данаид только грудные мышцы и содержимое брюшка, не затрагивая кутикулу и крылья, в которых накапливаются карденолиды. Толстонос, напротив, обладает повышенной резистентностью, что позволяет ему поглощать насекомое почти целиком.

Этот пример характеризует достаточно типичную ситуацию, когда алломон продуцента становится кайромоном фитофага, но на уровне вторичных консументов его биологическая активность «нейтрализуется» либо поведенческими реакциями, обеспечивающими пищевую селективность и компенсирующими стенофагию, либо наличием биохимических механизмов резистентности.

#### 12.2.4. Другие бабочки

Гусеницы бабочки *Calindoea trifascialis* имеют парные железы, открывающиеся на поверхность тела своеобразными выростами, похожими на «руки» (рис. 12.24).

---

<sup>120</sup> Сигнальный путь Wnt – один из внутриклеточных сигнальных путей животных, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей. Название Wnt – это комбинация Wg (англ. wingless) и Int (произносится как уинт). Ген дрозофилы wingless первоначально был идентифицирован по рецессивной мутации, подавляющей у мушки развитие крыльев. Гомологичный ген позвоночных Int вначале изучали в связи с присутствием в его локусе нескольких мест интеграции генома вируса рака молочных желез мыши. Исследование функций этих двух генов привело к открытию целого класса лигандов, регулирующих эмбриональное развитие животных.

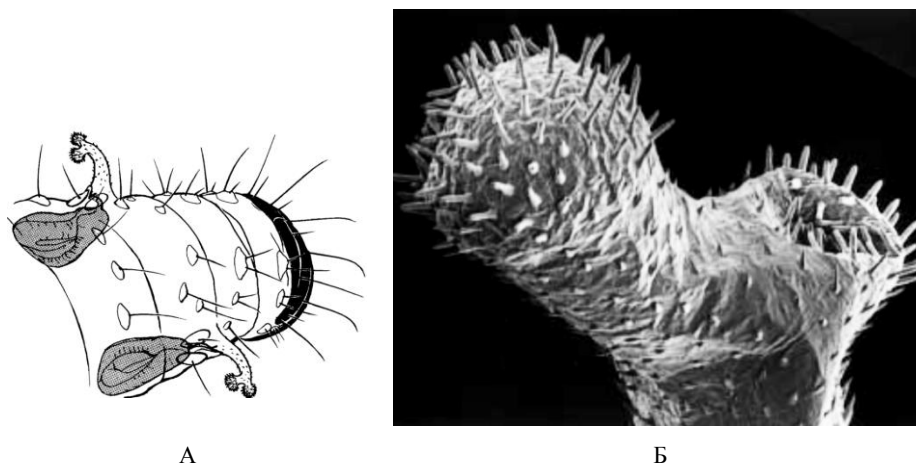


Рис. 12.24. Защитные железы («руки») гусеницы *Calindoea trifascialis*. А – схема расположения «рук» на первом абдоминальном сегменте, Б – электронная микрофотография фрагмента «руки»

В случае опасности через эти «руки» секретируется защитная жидкость, состоящая из манделонитрила, распадающегося, в свою очередь, на бензальдегид и синильную кислоту. Этот механизм эффективно защищает гусеницу от муравьев.

Резюмируя рассмотрение токсинов чешуекрылых, отметим, что среди них представлены различные классы органических соединений, которые или накапливаются в организме с пищей, или присущи данному виду насекомых. Среди физиологически активных метаболитов уже описаны соединения с высокой степенью избирательного действия (например кайин). Пока число их невелико, однако можно ожидать, что токсинологическое изучение чешуекрылых принесет новые открытия.

### 12.3. ЯДОВИТЫЕ ДВУКРЫЛЫЕ (Diptera)

Ядовитые насекомые, лишённые жалящего аппарата, вводят ядовитый секрет в тело своих жертв во время укуса. Как правило, ядовитыми свойствами в этом случае обладает секрет слюнных желез, с помощью которого насекомые не только парализуют жертву, но и подвергают ее предварительному биохимическому перевариванию. Провести четкую границу между токсическими и пищеварительными компонентами слюны не всегда удается. В определенной степени такое разграничение имеет искусственный характер, поскольку наблюдается выраженный синергизм между различными составными частями секрета слюнных желез. Так, гидролитические ферменты облегчают доступ токсинов к клеткам-мишеням, тогда как цитотоксины, модифицируя клеточные мембраны, облегчают их гидролиз ферментами. Выработка ядовитого секрета слюнными железами или их гомологами известна и у других животных, она достигает наивысшей специализации у змей.

Предметом нашего рассмотрения являются некоторые представители отрядов Diptera, Hemiptera и Neuroptera, для которых в настоящее время имеются сведения о токсических свойствах их слюнных желез.

Двукрылые (др.-греч. δίπτερα: δι- – два, πτερόν – крыло, лат. – Diptera) – отряд насекомых с полным превращением. Отличительным признаком отряда, хорошо отграничивающим его от прочих групп насекомых, является наличие только одной, передней пары крыльев. Задняя пара у них преобразована в булавовидные органы равновесия – жужжальца – и не несёт локомоторной функции. В настоящее время описано 160591 вид, включая 3817 ископаемых видов (по другим данным более 154000 видов двукрылых). Наиболее характерные представители двукрылых – настоящие комары, мошки, слепни, настоящие мухи. Встречаются повсеместно, включая Антарктиду (комар *Belgica antarctica*). Самый мелкий вид (мирмекофильная муха-горбатка *Euryplatea nanaknihali*, Phoridae) имеет длину 0.4 мм. Многие кровососущие двукрылые являются переносчиками инфекционных заболеваний (малярии, жёлтой лихорадки и др.). Однако в то же время они имеют большое значение для сельского хозяйства, поскольку являются опылителями различных растений, в том числе культурных.

У двукрылых ядовитость секрета слюнных желез наиболее развита на личиночной стадии развития. Личинки грибных комаров (сем. Mucetophilidae), относящиеся к родам *Platyuza*, *Ceroplatus*, *Macrocera*, способны быстро парализовать свои жертвы, попавшие в их липкую паутину. Личинки обычно развиваются в грибах или на грибах, а также под корой, во влажной сырой древесине. Химический анализ секрета *Platyuza* показал присутствие в нем высокого содержания (0.15%) щавелевой кислоты с pH = 1.8, которая токсична для многих насекомых, в то время как сами *Platyuza* к ней устойчивы. Паралитический токсин обнаружен у личинки третьего возраста *Tetanocera plebia* и *T. elata* (Sciomyzidae). Личинки этих двукрылых обитают преимущественно между растениями на поверхности воды стоячих или медленно текущих водоемов. Объектом питания некоторых из них служат слизни. Экстракт из слюнных желез *T. plebia* вызывает у слизней блок нервно-мышечного проведения с педального нерва на m. longitudinalis. Обратимый характер действия этого токсина указывает, что он не является пищеварительным компонентом.

### 12.3.1. Семейство Ктыри (Asilidae)

Ктыри (Asilidae) – семейство хищных двукрылых насекомых подотряда короткоусых (Brachycera). Распространены на всех континентах, кроме Антарктиды, преобладают в субтропиках. В Норвегии 20 видов, в Италии около 140 видов, в Калифорнии – около 500. Они являются особенно многочисленными в саванне, степи и аридных областях (пустынях). Значительно меньше ктырей найдено в лесах, где они обнаруживаются на полянах и на речных берегах. Редкие виды встречаются на влажных болотистых участках. По речным системам ктыри рода *Lasiopogon* проникают в зону тундры, тогда как *Cyrtopogon* замечены в горах на высоте 4500 м над уровнем моря. Активные хищники, имеющие большие глаза и стройное, часто удлинённое и обычно в коротком густом опушении тело (рис. 12.25). Ктыри охотятся на различных насекомых; иногда добычей ктыря может стать другой ктырь. Агрессивность ктырей настолько велика, что они вступают в схватку с такими хорошо вооружёнными насекомыми, как пчелы, осы,



Рис. 12.25. Ктырь *Efferia albibarbis* (Wikipedia Commons)

жуки-скакуны. Хотя в хоботке имаго и отсутствуют мандибулы, другие части ротового аппарата – максиллы, подглоточник и нижняя губа – образуют весьма совершенный колющий орган. Личинки ктырей ведут хищнический образ жизни, охотясь в почве или разлагающейся древесине на личинок различных жуков (долгоносиков, чернотелок, хрущей и др.).

Слюна ктырей содержит сильный яд, от которого пойманное им насекомое мгновенно умирает. Пойманный рукой ктырь иногда кусает и человека. Слюнные железы ктырей содержат яд, токсичный для саранчи, мышей и парамеций. Токсичность яда разных видов ктырей различается: яд, содержащийся в железах 1–2 ктырей, способен убить мышью массой 20 г. У мышей яд вызывает симптомы отравления, схожие с таковыми, вызываемыми ядом колнобрид. Так, например, введение мышам содержимого четырех слюнных желез *Philonicus dorsiger* вызывает пилоэрекцию, нарушение дыхания и смерть. Насекомые, в частности саранча *Locusta migratoria*, более чувствительны к яду *P. dorsiger*, и для получения обратимого паралича достаточно ввести саранче всего 0.08–0.25 содержимого железы. В целом, от 1/126 до 1/2 железы достаточно, чтобы, в зависимости от вида ктырей, убить саранчу *Locusta migratoria* средней массой 1 г. Протеолитическая активность обнаружена в слюне (pH 4–9.4) и желудочном соке (pH 2.4–9.0), которые ответственны за внекишечное переваривание. Однако в губных железах протеолитическая активность не обнаружена. Укус ктыря схож по болевым ощущениям с пчелиным.

### 12.3.2. Семейство Слепни (Tabanidae)

Слепни (Tabanidae) – семейство двукрылых из подотряда короткоусых. Взрослые самки многих представителей этого семейства – компонент гнуса. Многочисленны в лесной зоне, степях и пустынях, но обычно держатся по берегам рек и озёр, где развиваются личинки многих видов. В мировой фауне описаны около 4400 видов, которые объединяют примерно в 200 родов; на территории стран СНГ

около 200 видов. Ископаемые слепни известны со времени олигоцена. Слепни населяют все континенты, за исключением Антарктиды. Кроме того, они отсутствуют в Исландии, Гренландии и на некоторых океанических островах. Наибольшее количество слепней как по численности, так и по количеству видов (до 20 в каждой местности) встречается на заболоченных участках, на границах разных экотопов, в местах выпаса скота. От соседства человека их количество только увеличивается.

Слепни – крупные мухи (рис. 12.26) с мясистым хоботком, внутри которого заключены твёрдые и острые колющие и режущие стилеты; щупики ясные, со вздутым концевым члеником, нависающим впереди хоботка; усики четырёхчлениковые, торчащие вперёд, перед жужжальцами вполне развитые чешуйки крыла; глаза огромные, в полосах и пятнах радужных цветов. У слепней наблюдается половой диморфизм – по внешнему виду можно отличить самку от самца. У самок – крепкий колюще-режущий ротовой аппарат. В состоянии покоя все 6 частей, его составляющие, собраны в хоботок. Верхние челюсти саблеподобные или ножеподобные, слепень не прокалывает кожу, а разрезает её. Растительные соки и капли воды слепни слизывают нижней губой. Самцы питаются исключительно соками растений, а самки и сосанием крови, и растительными соками. У самок глаза разделяются лобной полоской, у самцов расстояние между глазами почти не заметно (рис. 12.27А,Б) и брюшко заострено на конце.



Рис. 12.26. Полуденный слепень *Hybomitra bimaculata* (Wikipedia Commons)



Яйца у слепней удлиненные, серые, бурые или чёрные. Личинки чаще всего светлые, веретеновидные, лишенные конечностей (рис. 12.27В). Личинки почти всех видов слепней умеют плавать, время от времени они высовывают над поверхностью воды задний конец брюшка с дыхательной трубкой, чтобы дышать. Голова личинки длинная, с двумя простыми глазками, крючкообразной верхней губой, парой изогнутых тонких верхних челюстей, двумя мягкими нижними челюстями, длинными нижнечелюстными щупальцами и короткими усиками. Личинки так же больно кусаются, как и взрослые, и их укусы так же токсичны. Слюна личинки разрезает ткани жертвы, и она потом высасывает её содержимое. Обычно перед окукливанием личинки переползают из мокрых мест в более сухие и превращаются в куколку в поверхностной части почвы, мохового покрова и т.д. Фаза куколки (рис. 12.27Г) длится в зависимости от окружающей температуры от 6 дней до 3 недель. Перед самым вылетом куколка поднимается к поверхности почвы, высовывается из нее наполовину, после чего на спинной стороне продольно лопаются куколочная оболочка и взрослый слепень вылезает наружу.

Слепни являются механическими<sup>121</sup> переносчиками ряда болезней: протозойных (анаплазмоз крупного рогатого скота, трипаносомоз верблюдов, су-ауру лошадей), вирусных (инфекционная анемия лошадей) и бактериальных (туляремия, сибирская язва, эмфизематозный карбункул, геморрагическая септицемия буйволов).

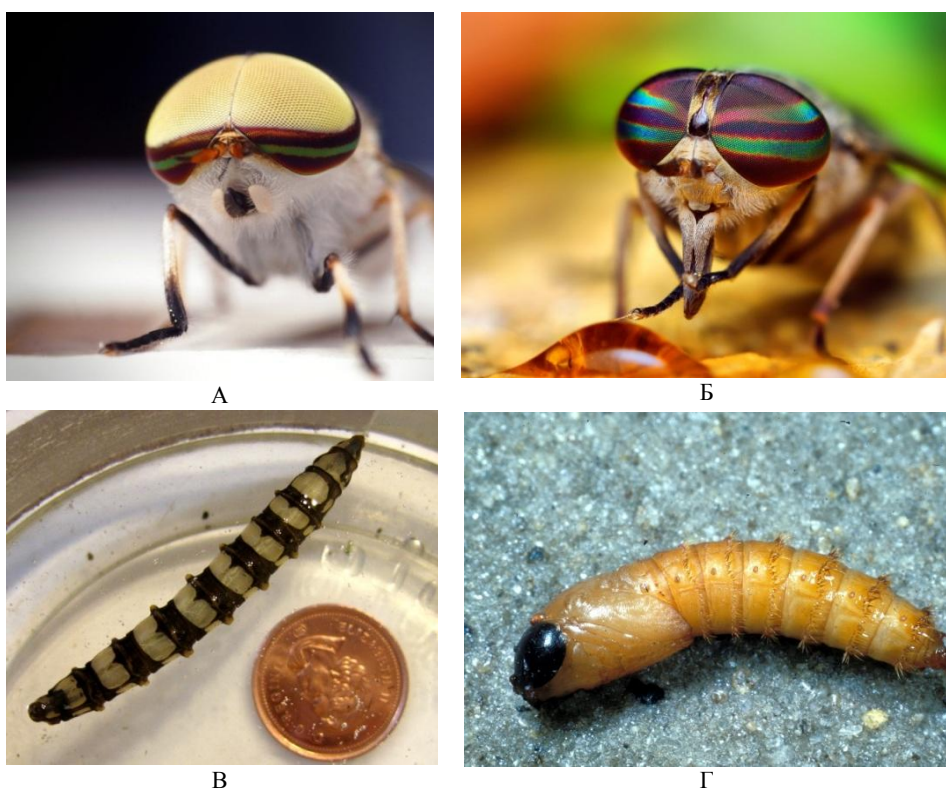


Рис. 12.27. Слепни: А – самец, Б – самка, В – личинка, Г – куколка (Wikipedia Commons)

<sup>121</sup> Без какого-либо развития возбудителя в организме переносчика.

Кроме того, укусы слепней сами по себе довольно болезненны. В место укола выделяется слюна с антикоагулянтами и токсинами. Антикоагулянты препятствуют свёртыванию крови, вызывают длительное кровотечение из ранок, которые долго не заживают. Это привлекает других кровососущих насекомых. Токсические вещества, находящиеся в слюне, приводят к покраснению и болезненному отёку кожи. Индивидуальная аллергическая реакция на укус слепня может быть достаточно сильной, вплоть до общего недомогания в течение нескольких суток. Животные расчёсывают места укусов до образования ран, что приводит к развитию дерматитов, в плохую погоду болезненное состояние кожи ещё больше усиливается, потому что начинаются омертвление особо пострадавших мест, флегмоны и абсцессы. Укусы личинок слепней (*Tabanidae*) могут вызывать боль, сравнимую с ужалением пчелой. В некоторых районах Японии укусы *Tabanus* и *Chrysops* людей на рисовых плантациях имеют эпидемиологическое значение по своей массовости. Боль в месте укуса удерживается от 10 мин до 2 дней. На коже возникает эритема (до 75 мм в диаметре), близлежащие лимфатические узлы опухают, ощущается сильный зуд. У беспозвоночных яд *Tabanidae* вызывает быстрый паралич.

Из слюнных желез *Tabanus yao* (провинция Шанхай, Китай) с помощью иммуноблотинга были выделены и охарактеризованы два белковых аллергена, связывающихся с иммуноглобулином Е (IgE). Для этого пришлось обработать свыше 10 кг слепней (около 60000 экземпляров при средней массе насекомого 0.17 г). Аллергены были обозначены как «Tab a1» и «Tab a2». «Tab a1» имел  $M_r$  26 кД и был родственен антигену 5 (Ag5) из яда пчел и ос. «Tab a2» имел  $M_r$  35 кД и представлял собой гиалуронидазу. Таким образом, родственные аллергены присутствуют как у жалоносных, так и кровососущих насекомых, что поддерживает гипотезу так называемого «wasp-horsefly syndrome (WHS)».

Антикоагуляционная активность слюны слепней имеет большое биологическое значение. Известно, что самки крупных видов в течение нескольких минут могут поглотить до 200 мг крови. Следовательно, они должны обладать мощными механизмами, препятствующими свертыванию крови. Действительно, у *Tabanus bovinus* был обнаружен сильный ингибитор тромбина. В слюне *Chrysops* sp. содержится ингибитор агрегации тромбоцитов и сильный антагонист Пб/Ша гликопротеиновых рецепторов фибриногена. Изучение антикоагуляционной активности экстракта слюнных желез 19 видов обитающих в Словакии слепней, относящихся к 6 родам: *Atylotus*, *Chrysops*, *Haematopota*, *Heptatoma*, *Hybomitra* и *Tabanus*, показало, что большинство видов (за исключением *Chrysops*) значительно пролонгировали дозозависимым образом время свертывания плазмы человека и обладали сильной и специфической антитромбиновой активностью. Таким образом, можно обозначить две антикоагуляционные стратегии, присущие слепням: *Chrysops*<sup>122</sup> тормозят агрегацию тромбоцитов, тогда как большинство других родов (*Atylotus*, *Haematopota*, *Heptatoma*, *Hybomitra* и *Tabanus*) являются ингибиторами тромбина. Очень сильный антикоагулянт был обнаружен у крупного слепня *T. bovinus*, тогда как противосвертывающая активность слюны других слепней была меньше, что связывают в том числе с их размерами. Слюнные железы *T. bovinus* возможно секретируют антикоагулянтный пептид с  $M_r$  7 кДа, названный табанино и сходный по своему действию с гирудином пиявок.

---

<sup>122</sup> *Chrysops* – златоглазика, или пестряки – широко распространенный род слепней.

По числу нападений слепней на первом месте стоят лошади, на втором – крупный рогатый скот. Так, за 15 минут на лошадь нападает до 700 слепней. По данным разных авторов, слепни могут нападать и на крыс, птиц и рептилий, а в тёплых странах и на крокодилов, и на греющихся на солнышке морских черепах. Значительно реже слепни нападают на овец, свиней и коз, а на собак почему-то почти не реагируют.

Влажное тело привлекает слепней в 2.5 раза больше, чем сухое, поэтому на вспотевших или искупавшихся людей и животных слепни нападают заметно чаще. Нападая на животных, слепни истощают их, нарушают отдых и сон, иногда доводят до полного изнеможения и даже гибели. Выпас вследствие этого становится нерентабельным, скот плохо набирает вес, снижаются удои. При неминусе вследствие постоянного беспокойства недоедания наблюдается истощение животных, снижение работоспособности. Экономические убытки от слепней очень значительны. В дни наибольшей активности надоев молока у коров падают на 15%, прирост веса – на 35%. За сутки потеря сил животными, которых беспокоят слепни, эквивалентна недоеданию 400 граммов овса на одну голову. В стаде коров из 700 голов нехватка молока в день может достигать 1500 литров.

#### 12.4. ЯДОВИТЫЕ ПОЛУЖЕСТКОКРЫЛЫЕ (Hemiptera)

Полужесткокрылые, или членистохоботные (Hemiptera) – отряд насекомых с неполным превращением. Это наземные или водные насекомые, тело которых чаще всего умеренно уплощённое. Главный признак этих насекомых – ротовые органы колюще-сосущего типа; хоботок почти во всех случаях прикреплён к передней части головы. Отряд насчитывает более 100000 видов: к августу 2013 года описаны 104165 видов, включая 1982 ископаемых вида. Образ жизни этих насекомых весьма разнообразен, они являются растительноядными (высасывают соки различных частей растения), паразитами млекопитающих и птиц, микофагами (питаются грибами), хищниками (охотятся на мелких беспозвоночных), живут в сетях пауков и эмбий, а также живут в воде и на её поверхности; некоторые виды встречаются даже в открытом океане. Большинство питается растительной пищей и именно соками цветковых растений, которые они высасывают с помощью хоботка; иногда это вызывает уродливое разрастание ткани растений и ведет к образованию наростов или орешков (галлов); некоторые виды питаются соками грибов, папоротников. Есть формы, питающиеся и растительной, и животной пищей (*Podisus*, *Stiretrus*, *Rhaphigaster*). Многие хищники высасывают соки из других животных, особенно личинок насекомых; некоторые высасывают также трупы насекомых. Наконец, некоторые полужесткокрылые представляют постоянных или временных (постельный клоп) паразитов. Укусы хищных и некоторых паразитических полужесткокрылых, при которых в ранку попадает едкая слюна, могут быть очень болезненны и даже вредны<sup>123</sup>. Полужесткокрылые распространены во всех частях света, но наибольшего развития эта группа достигает в Америке и особенно Южной: здесь же водятся и наиболее крупные представители отряда (длиной 7–9 см).

---

<sup>123</sup> Хемиптероз (лат. *clinocorosis*, *cimicosis*) – энтомоз, обусловленный укусами клопов, характеризующийся зудом, раздражением кожи, иногда аллергической реакцией.

Более детально рассмотрим некоторых представителей подотряда Клопы (Heteroptera), ранее выделяемого в качестве самостоятельного отряда. Известны около 40 тыс. видов из более 50 семейств. На Дальнем Востоке России – около 800 видов (для бывшего СССР указывалось свыше 2000 видов). У большинства клопов имеются пахучие железы, отверстия которых располагаются у взрослых особей на нижней стороне груди между первой и второй парой ног. Выделения этих желез имеют характерный неприятный для человека запах; предполагают, что он отпугивает врагов и, возможно, выполняет роль феромонов. Секрет состоит в основном из альдегидов, например близких к  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CHO}$ .

Биология клопов чрезвычайно разнообразна. Имеются наземные виды, надводные и водные, многие из которых хищники. Ротовой аппарат клопов колюще-сосущего типа, хорошо приспособленный для введения ядовитой слюны в тело жертвы.

#### 12.4.1. Семейство Гигантские водяные клопы (Belostomatidae)

Гигантские водяные клопы сем. Belostomatidae – хорошо известные хищники, некоторые из них, имеющие большие размеры (до 12 см), нападают даже на рыб. Обитают эти гиганты в тропических странах (Южной Америке, Восточной Азии, Юго-Восточной Азии), представители этого семейства встречаются и в Северной Америке (штат Флорида). Как правило, с ними можно столкнуться в пресноводных водоемах и потоках. Передние ноги сильные, крупные и несколько короче по сравнению с другими (рис. 12.28). На их концах расположены похожие на когти крючки, предназначенные для захвата и удержания добычи. При помощи хоботка они вводят в тело жертвы слюну, которая обладает парализующим действием и очень быстро разжижает ее внутренности. Затем клоп высасывает полученную кашеобразную массу. Людей же эти клопы чаще всего кусают за ноги или пальцы ног во время купания. Для человека этот укус не опасен, но достаточно болезненный.

В течение нескольких часов потерпевший может испытывать интенсивную пульсирующую боль, развивается гиперемия, отечность (рис. 12.29), но неврологические симптомы отсутствуют. Весной на спинке клопов из сем. Belostomatidae можно увидеть множество больших бледно-серых или коричневых яиц, которые вынашивает самец (рис. 12.28В). В странах Юго-Восточной Азии, а особенно в Таиланде, этих жуков можно отведать в местных ресторанчиках или купить жареный деликатес прямо на улице.

Клопы *Lethocerus cordofanus* вводят секрет слюнных желез в тело жертвы с помощью хоботка. Через 10–15 мин внутренности жертвы разжижаются, и клоп легко высасывает содержимое. Подобный механизм действия слюны, очевидно, должен обеспечиваться наличием гидролитических ферментов. Действительно, экстракт из слюнных желез *L. cordofanus* характеризовался протеолитической активностью, причем скорость расщепления казеина протеазами слюны клопа не уступала по своей эффективности трипсину. Кроме протеолитической, секрет слюнных желез обладал гиалуронидазной, нуклеазной, фосфатазной и эстеразной активностью.



А



Б



В



Г

Рис. 12.28. Гигантский водяной клоп сем. Belostomatidae: А – внешний вид, хорошо видны передние мощные хватательные ноги; Б – водяной клоп с добычей; В – самец водяного клопа с потомством; Г – ротовое отверстие водяного клопа (Wikipedia Commons)



Рис. 12.29. Гигантский водяной клоп *Lethocerus delpontei* (А) и клиническая картина места укуса (Б), вызванного этим экземпляром клопа (Haddad et al., 2010)

Слюна другого вида *L. delpontei* быстро и обратимо парализовала лягушек и вызывала нарушение координации у группы при добавлении секрета, содержащегося в одной железе, к 700 мл воды.

#### 12.4.2. Семейство Хищницы (Reduviidae)

Выраженными ядовитыми свойствами обладает и слюна клопов сем. Reduviidae (рис. 12.30). Токсины, содержащиеся в секрете слюнных желез, вызывают обездвиживание жертвы, что облегчает клопу ее поедание; ферменты слюны обеспечивают частичное переваривание. Кроме того, имеются сведения об антимикробной активности слюны. Клопы-редувии активно охотятся за различными насекомыми, в числе которых и вредители сельского хозяйства. Токсичная слюна большого клопа-редувия *Platyeris rhadamantus* быстро парализует неконспецифичных насекомых. Для таракана *Periplaneta americana* токсичность слюны *Platyeris* составляет 10.25 мг/кг.

Свежеполученный секрет слюнных желез имеет рН 6.6–6.8 и при электрофорезе дает 6–8 белковых полос. По крайней мере три из них обладают протеолитической активностью с оптимумом при рН 8.2. Эти протеиназы видимо не серинового типа, так как соевый ингибитор трипсина оказывает на них незначительное действие. Ядовитый секрет обладает гиалуронидазной и слабой фосфолипазной активностью.

Другим клопом-редувием, биохимические характеристики яда которого известны, является *Holotrichius innesi*. Укуса одного клопа достаточно, чтобы убить мышь, при этом  $DL_{50}$  ядовитого секрета при внутривенном введении мышам составляет 1 мг/кг. Яд обладает желатиназной, эстеразной и гиалуронидазной активностью, но лишен фосфолипазы. Ацетилхолин, гистамин также не обнаружены. Яд обратимо блокирует нервно-мышечную передачу, однако нейротоксический компонент его не идентифицирован. Гемолитическое действие яда связано с термостабильным гемолизином, вызывающим «прямой» гемолиз отмытых эритроцитов, что говорит об отсутствии фосфолипазной активности.



Рис. 12.30. Клоп-редувий *Platymeris rhadamantus* (Wikipedia Commons)

Секрет слюнных желез клопа-редувия *Rhynocoris marginatus*, обитающего в джунглях и тропических дождевых лесах Индии, также ядовит. Этот клоп является полифагом и контролирует около 25 видов сельскохозяйственных вредителей. Обитает в полуаридных зонах, джунглях, дождевом тропическом лесе. В слюнном секрете обнаружены амилаза, инвертаза, протеаза, кислая и щелочная фосфатазы, фосфолипаза, трипсин, гиалуронидаза и липаза. Активность всех ферментов была выше у самок, чем у самцов, что объясняет большую эффективность и меньшее время, затрачиваемое самками на охоту. Кроме того, из секрета слюнных желез выделены пептиды, обозначенные RmIT (*Rhynocoris marginatus* Insect Toxin): RmIT-1 (3.79 кДа), RmIT-2 (9.7 кДа) и RmIT-3 (10.94 кДа), свойства которых пока не установлены. Введение секрета слюнных желез *Rh. marginatus* личинкам азиатской хлопковой совки *Spodoptera litura* вызвало у жертвы дозозависимое уменьшение содержания гидролаз, углеводов и липидов, тогда как содержание белка возросло на 50%. Ядовитый секрет угнетал агрегацию гемоцитов личинки, снижал темпы их роста, интенсивность метаболизма.

*Rhynocoris fuscipes* – хищник многих вредителей сельского хозяйства Индии. Микроинъекции секрета слюнных желез *Rh. fuscipes* азиатской хлопковой совке *Spodoptera litura* и хлопковой совке *Helicoverpa armigera* были более токсичны, чем пероральное введение. При 96-часовой экспозиции  $DL_{50}$  составили для *S. litura* и *H. armigera* 846.35 и 861.60 ppm/личинку соответственно. Полагают, что токсины слюнных желез клопов-редувиев могут оказаться прекурсорами перспективных инсектицидов.

**Другие клопы.** Весьма болезненные укулы наносят клопы, относящиеся к сем. *Nepidae*, например водный скорпион *Nepa cinerea* – вид водных клопов из семейства водяных скорпионов (*Nepidae*). Обитает в заиленных пресных водоёмах на территории Европы, Африки и Северной Азии. В Европе – единственный представитель рода *Nepa*. Питается кладоцерами, личинками насекомых, мальками

рыб и головастиками амфибий. Нападает на добычу из засады, хватая её передними конечностями и производя укол хоботком, затем из жертвы высасывает жидкость.

Ядовитой слюной обладает и гладыш *Notonecta glauca* (сем. Notonectidae). Паралитическое действие на сердце таракана оказывает яд клопа *Naucoris cimicoides* (сем. Naucoridae), однако сведения о химическом составе слюны этих клопов весьма скудны.

Болезненные укусы наносят также клопы *Triatoma* (подсемейство Triatominae – син. клопы-убийцы, поцелуйные клопы, конусоносые клопы), слюна которых может приводить к аллергическим реакциям у человека, сопровождающимся сильным зудом, отёками и образованием болезненных папул, сгруппированных везикул с умеренным отёком и покраснением, отёком Квинке, системной анафилаксией и т.д. Возможна одышка, сыпь на теле, учащённый пульс и потеря сознания. Повторные укусы вызывают более сильную реакцию. В подсемействе описаны не менее 130 видов, многие из которых, кусая человека, являются переносчиками болезни Шагаса<sup>124</sup>. Эти клопы ведут ночной образ жизни. Кусают часто около глаз и в губы.

## 12.5. ЯДОВИТЫЕ СЕТЧАТОКРЫЛЫЕ (Neuroptera)

Сетчатокрылые (Neuroptera, синоним – Planipennia) – отряд свободноживущих новокрылых насекомых с полным превращением. Эта относительно небольшая группа, в настоящее время описаны 5937 видов, включая 469 ископаемых видов. Сетчатокрылые имеют вытянутое тело с мягкими покровами. Две пары крыльев этих насекомых покрыты густой сетью жилок. Окраска сетчатокрылых нежно-зеленая или бурая, зачастую с ярко-золотистыми глазами (рис. 12.31).

К отряду относятся такие представители как златоглазки, муравьиные львы, мантипы. Сетчатокрылые – преимущественно хищные насекомые. Наибольшие отличия в морфологии и экологии представителей отряда наблюдаются на личиночной стадии. Пищеварение у личинок сетчатокрылых наружное. Пищеварительные соки, содержащие в некоторых случаях сильные паралитические токсины, впрыскиваются в тело жертвы по каналу, образованному желобком мандибул и прилегающей к нему внутренней жевательной лопастью нижних челюстей. По этому же каналу всасывается разжиженное пищеварительными соками внутреннее содержимое жертвы. В отличие от Hemiptera, у сетчатокрылых более токсичными являются экстракты не головной, а торакальной части тела, что связывают с выработкой токсина не в слюнных, а в пищеварительных железах этих насекомых.

Известным представителем сетчатокрылых являются муравьиные львы (сем. Mymecleontidae). Название получили благодаря характерному облику и образу

---

<sup>124</sup> Болезнь Шагаса, или американский трипаносомоз – протозойное инфекционное заболевание, вызываемое трипаносомами вида *Trypanosoma cruzi* и протекающее с поражением паренхиматозных органов. Впервые описана бразильским исследователем Карлусом Шагасом в 1909 году. Встречается только в Латинской Америке, где причиняет больше смертей, чем любая другая паразитарная болезнь (в том числе малярия). В начале XXI века число больных, инфицированных болезнью Шагаса, составляло от 11 до 18 млн человек.





Рис. 12.31. Представители сетчатокрылых: А – муравьиный лев *Myrmeleon formicarius* (сем. Myrmeleontidae); Б – *Ditaxis biseriata* (сем. Mantispidae) (Wikipedia Commons)



Рис. 12.32. Муравьиный лев: А – личинка, Б – ловчие воронки (Wikipedia Commons)

жизни личинок. Отличительные признаки семейства: голова поставлена вертикально, обыкновенно не имеет глазков, сяжки к концу булавообразно утолщенные или с головкой на конце; брюшко длинное, узкое. Личинки с большими, зазубренными на внутреннем краю челюстями, снабженными каналом (с помощью которых они высасывают добычу), и с коротким широким брюшком. Личинки ряда видов строят характерные конусовидные воронки в песчаных почвах, в которые ловят мелких напочвенных насекомых (рис. 12.32).

Вырыв воронку, которая у взрослых личинок может достигать 5 см в глубину и 7–8 см в диаметре, личинка зарывается в центре ее в песок, выставляя наружу лишь челюсти, и поджидает добычу; различные насекомые, чаще всего муравьи, а также пауки и др., ступив на край воронки, скатываются с песком внутрь ее и схватываются личинками. Личинка вонзает в добычу свои серповидные челюсти и впрыскивает под ее покровы пищеварительные соки, после чего высасывает растворившееся содержимое тела и ударом головы выбрасывает из воронки пустой хитиновый экзоскелет. Достигнув полного развития, личинка делает в песке шаровидный кокон с помощью шелковистых нитей, превращается в нем в куколку

и недели через четыре – во взрослое насекомое, оставляя кокон наполовину выдвинутым из песка. Муравьиный лев обыкновенен во всей Европе, кроме Великобритании и Пиренейского полуострова.

Личинки муравьиных львов, например *Euroleon*, обездвиживают свою жертву в течение 2–4 мин. Личинки пальпары (*Palpares libelluloides*), относящиеся к этому же семейству, способны справиться с таким крупным и сильным жуком как, например, волосатый хрущ (*Anoxia pilosa*).

Тропические и субтропические виды аскалофов (*Ascalaphidae*), например *Ulu-lodes mexicanus*, продуцируют яд, парализующий крупного таракана всего за 1 с.

## МНОГОНОЖКИ (Myriapoda)

Солнце лежало на дне колодца,  
Грелись на камнях сколопендры,  
И убегало перекати-поле,  
Словно паяц горбатый кривляясь,  
А высоко взлетевшее небо,  
Как Богородицын плащ, синело, –  
Прежде оно таким не бывало.

*Анна Ахматова*



Э. Геккель, 1904

### 13.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

**М**ногоножки (Myriapoda) – надкласс, объединяющий четыре класса наземных членистоногих: симфил (Symphyla), губоногих (Chilopoda), двупарноногих (Diploroda) и пауропод (Pauropoda), последних обычно объединяют в одну группу. В настоящее время описаны более 12000 видов многоножек, включая 11 ископаемых видов. Большинство известных многоножек – около 8000 – Diploroda. Из четырех классов многоножек лишь Chilopoda (губоногие) и Diploroda (двупарноногие) представляют интерес для токсикологии.

Губоногих (Chilopoda) известно более 3000 видов. Встречаются повсеместно. Обитают в почвенной подстилке, под древесной корой или в щелях между камнями. Все представители группы – хищники. Захватывают и удерживают добычу с помощью первой пары туловищных конечностей (ногочелюстей), внутри которых расположены ядовитые железы. Яд некоторых представителей опасен для человека и может вызвать онемение и временный паралич. Наиболее известные представители: косянка (род *Lithobius*), мухоловка (*Scutigera coleoptrata*) и сколопендры (род *Scolopendra*). Ископаемые многоножки известны из позднего силура (430 млн лет). Древнейшее известное наземное животное *Pneumodesmus newmani* принадлежало к многоножкам. В Неотропике (включая Мексику, Центральную и Южную Америку) встречаются 310 видов и 91 род губоногих многоножек из 11 семейств.

Двупарноногие многоножки, или диплоподы (Diploroda) – класс многоножек, названный так потому, что на сложных по происхождению туловищных сегментах (диплосегментах или диплосомитах) его представителей имеется по две пары ног. В настоящее время описаны 7842 вида, включая 5 ископаемых видов. Большинство из них – сапрофаги, питающиеся в почве растительными остатками; гораздо меньше форм питается живыми растениями. Наиболее известные представители этой группы – кивсяки (*Julida*). При опасности они сворачиваются в кольцо или в спираль, закрывая уязвимую брюшную поверхность тела. Другое защитное приспособление этих организмов – пахучие железы, отверстия которых располагаются на каждом дипломосите. Некоторые виды диплопод имеют предупреждающую окраску с яркими полосами, а едкий запах имеет значение предостерегающего сигнала.

Все многоногие ведут скрытый образ жизни. Они, за редким исключением, очень чувствительны к влажности, избегают прямых солнечных лучей. Поэтому в дневные часы обычно прячутся в различного рода убежищах (в почве, под камнями, под опавшими листьями, корой деревьев и т.д.), а ночью становятся активными. Распространены многоногие очень широко, встречаясь во всех зонах, кроме тундры, как в Старом, так и в Новом Свете.

**Ядовитый аппарат.** У губоногих, как уже упоминалось, он представлен ногочелюстями. Каждая ногочелюсть губоногих состоит из шести члеников, последний из которых заострен и когтевидно изогнут внутрь (рис. 13.1; 13.2).

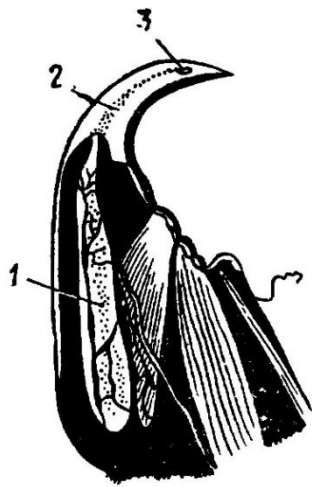


Рис. 13.1. Схема строения ногочелюсти сколопендры (Физали, 1922):

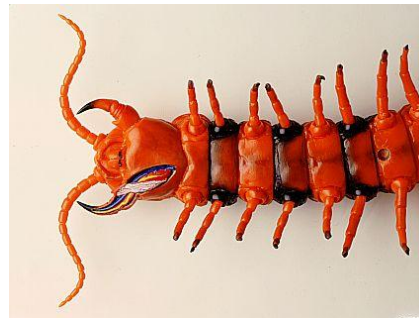
- 1 – ядовитая железа;
- 2 – ядовитый проток;
- 3 – отверстие протока



А



Б



В

Рис. 13.2 *Scolopendra gigantea*: А – общий вид, Б – ногочелюсти, В – головная часть (Wikipedia Commons)

На поверхности его заметны продольные бороздки со слегка возвышенными краями. Внутри этого членика проходит тонкий канал ядовитой железы, которая лежит в этом и отчасти в предыдущем членике, заходя у некоторых видов и в основной членик (сколопендры). Канал открывается на конце когтевидного членика маленьким отверстием.



Рис. 13.3. Кивсяк *Ommatoiulus rutilans* в защитной позе (Wikipedia Commons)

Ядовитая железа имеет вид беловатых мешочков, состоящих из железистых альвеол, располагающихся радиально и открывающихся в общий проток. Снаружи железа покрыта мышечной и соединительной тканью. Для получения яда применяют метод электростимуляции либо экстрагируют яд из гомогената изолированных ногочелюстей.

Двупарноногие многоножки не имеют ядовитых ногочелюстей. Диплоподы малоподвижны и, будучи потревожены, свертываются спиралью в брюшную сторону, что является у них средством защиты (рис. 13.3). Одновременно с этим из многочисленных отверстий, расположенных по бокам всех брюшных сегментов, за исключением первого (пятый по счету туловищный сегмент), изливается наружу секрет ядовитых желез, обладающих характерным запахом.

В каждом сегменте имеются ядовитые железы мешковидной формы. Выводной проток открывается в ампулу, которая представляет собой результат впячивания наружных покровов внутрь сегмента. Передний конец ампулы открывается отверстием на боковой поверхности сегмента.

## 13.2. КЛАСС ГУБОНОГИЕ (*Chilopoda*)

Итак, губоногие – это хищные многоножки, которые схватывают и умерщвляют свою добычу с помощью сильно развитых ногочелюстей.

**Клиника отравления.** Наиболее опасны для человека, безусловно, крупные тропические виды многоножек. Так, укус гигантской цейлонской сколопендры *Scolopendra moristans*, достигающей в длину до 30 см, вызывает у человека сильную боль, иррадирующую от места укуса по конечностям, и опухоль, возникающие через 30–60 мин и удерживающиеся в течение 5–7 дней. В тяжелых случаях может иметь место некроз тканей в месте укуса. Отравление иногда сопровождается рвотой, кожной сыпью, волдырями, лимфангоитом и лимфаденитом. Некото-

рые авторы описывали мышечные контрактуры, парезы и параличи, а также нарушения в деятельности сердца, возникающие после укуса сколопендрами.

### 13.2.1. Химический состав и механизмы действия яда

В яде идентифицированы ацетилхолин и биологически активные амины – гистамин, серотонин. Имеется указание на присутствие в нем ряда ферментов, в том числе протеолитических. Так, в яде *Scolopendra viridicornis* обнаружен серотонин, а в яде *Scolopendra subspinipes* – гистамин. Яд *S. morsitans* содержит оба биогенных амина: и гистамин, и серотонин. Этот яд обладает также протеазной активностью. Из яда сколопендры *S. morsitans* выделен кардиотоксический белок (токсин S) с  $M_r$  60 кДа. Показано, что яд некоторых сколопендр может быть токсичен для членистоногих, таких как пресноводные раки, личинки насекомых, кузнечики, но не токсичен для позвоночных (мышей).

Экспериментальное изучение биологической активности яда сколопендр показало довольно существенные различия в их токсичности. Так, яд крымской сколопендры *Scolopendra cingulata* при внутрибрюшинном введении белым мышам имел  $DL_{50}$  22.5 мг/кг, тогда как яд *S. aralcaspia* вызывал смерть у мышей в гораздо больших дозах – 300 мг/кг. Картина интоксикации ядом сколопендры характеризуется угнетением двигательной активности, депрессией. Наблюдаются усиление саливации, сужение зрачка, фибриллярное подергивание отдельных групп мышц, затруднение дыхания и в итоге – смерть. В сублетальных дозах яд сколопендры *S. aralcaspia* пролонгирует действие снотворных веществ у мышей и нарушает условно-рефлекторную деятельность крыс, что указывает на поражение функций ЦНС. Беспозвоночные животные весьма чувствительны к яду сколопендр. При естественном укусе яда *S. cingulata* наблюдается быстрая гибель саранчовых, жесткокрылых, чешуекрылых, паукообразных и др. Интраторакальное введение яда этой многоножки тараканам *Nauphaeta cinerea* в дозах 30–100 мкг/100 г массы тела приводит к нарушению координации движений, выраженной контрактуре конечностей с последующим развитием паралича. Среди системных эффектов яда сколопендры *S. morsitans* следует указать сильную гипергликемию. Повышение содержания в крови глюкозы, вызванное ядом, обусловлено усилением гликогенолиза в печени и мышцах (рис. 13.4). Гипергликемическое действие яда может быть связано с присутствующим в нем серотонином. Последний, как известно, усиливает высвобождение адреналина из надпочечников, который, в свою очередь, запускает механизм распада гликогена и, как следствие этого, приводит к повышению уровня глюкозы в крови.

Для понимания механизмов действия яда сколопендры представляют интерес эксперименты, проведенные на препаратах изолированных органов. Так, яд *S. cingulata* в концентрациях  $10^{-6}$  –  $10^{-5}$  г/мл вызывает положительный инотропный эффект на изолированном сердце лягушки, увеличивая амплитуду сокращений на 28%. Эффект кратковременный (до 1 мин) и сменяется нормализацией сокращений сердца. При увеличении концентрации яда (до  $10^{-4}$  г/мл) наблюдается угнетение амплитуды и частоты сокращений сердца вплоть до полной остановки. Сходным действием на изолированное сердце жабы обладает яд *S. morsitans*. Фармакологический анализ действия яда показывает, что его угнетающий эффект блокируется предварительным введением атропина или ципрогептадина, ингибирующих, соответственно, действие ацетилхолина и серотонина. Холинергические

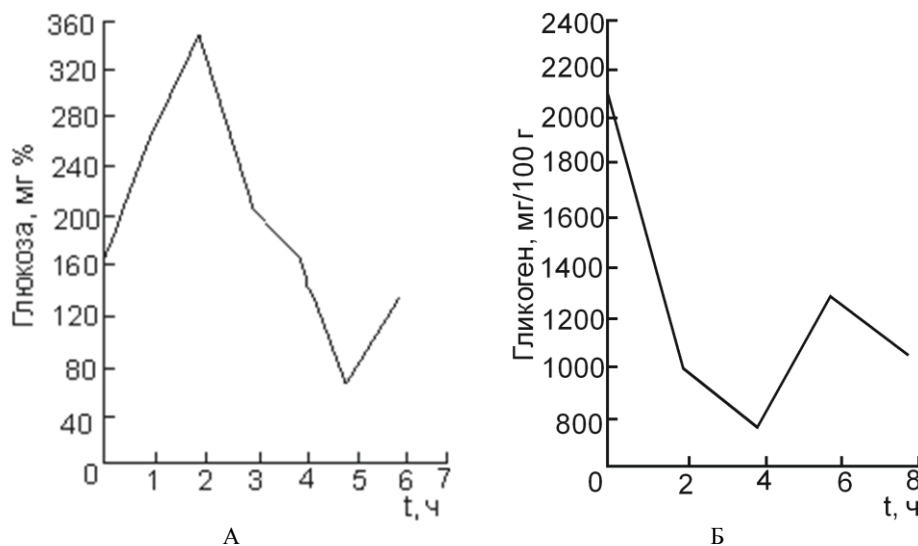


Рис. 13.4. Влияние экстракта ядовитых желей сколопендры *Scolopendra morsitans* на уровень глюкозы в крови и гликогена в печени крысы (Mochamed et al., 1980)

и серотонинергические механизмы действия яда продемонстрированы и на изолированных гладкомышечных препаратах кишки кролика и матки крысы. Эти эффекты могут быть объяснены действием ацетилхолина и серотонина, содержащихся в яде, либо результатом аутофармакологических реакций. В пользу последнего предположения говорят и электрофизиологические данные о влиянии яда *S. cingulata* на синаптическую передачу в цервикальных ганглиях таракана *Periplaneta americana*. Яд стимулирует начальное высвобождение ацетилхолина из пресинаптических терминалей (фаза деполяризации) с последующим истощением его запасов и блоком синаптической передачи на фоне фазы реполяризации в результате ферментативного гидролиза ацетилхолина ацетилхолинэстеразой ганглия.

Из мексиканских сколопендр с помощью электрической стимуляции получен яд, из которого с помощью ионообменной хроматографии выделена фракция V (токсическая фракция, TF). Эта фракция при введении в третий дорзвентральный брюшной сегмент карликовым речным ракам *Cambarellus cambarellus* в дозе 20 мкг/животное вызывала паралич и смерть. Показано, что эта фракция содержит по крайней мере семь различных белков. Фракция вызывает увеличение высвобождения на 51% ГАМК и на 43% глутамата из вентрального брюшного ганглия *Cambarellus cambarellus*. Эта фракция модифицирует проницаемость, увеличивая высвобождение нейромедиаторов, весьма возможно с участием натриевых каналов.

Таким образом, физиологические эффекты яда сколопендры связаны как с действием ацетилхолина, серотонина и других биологически активных веществ, присутствующих в яде, так и с воздействием токсических компонентов яда на процессы синаптической передачи.



### 13.3. КЛАСС ДВУПАРНОНОГИЕ (Diplopoda)

Двупарноногие многоножки относятся к невооруженным активно-ядовитым животным. Их выделения нередко ядовиты, у некоторых видов содержат синильную кислоту. Для многих животных кивсяки несъедобны. У млекопитающих пахучие выделения способны раздражать слизистые глаз и носоглотки, зато диплопод охотно поедают рептилии и птицы.

#### 13.3.1. Химический состав и механизмы действия яда

Химические вещества, используемые диплоподами для защиты, весьма разнообразны. Многоножки родов *Julida* (кивсяки), *Spirobola* и *Spirostreptida* выделяют различные *p*-бензохиноны. Полидесмиды (*Polydesmida*) продуцируют синильную кислоту и цианогенные соединения. Многоножки родов *Glomerida* и *Polyzoniida* защищаются алкалоидами. Из североамериканской (Калифорния) многоножки *Buzonium crassipes* выделены  $\beta$ -пинен, лимонен и алкалоид бузонамин (рис. 13.5).

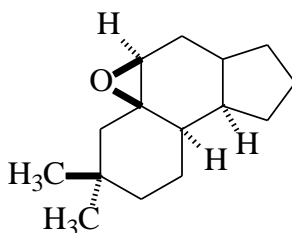


Рис. 13.5. Бузонамин из многоножки *Buzonium crassipes*

Бузонамин эффективно защищает личинок мучного хрущака *Tenebrio molitor* от нападения муравьев *Formica obscuripes*. Многоножка массой 150 мг может выделить до 4 мг бузонамина.

Некоторые многоножки выделяют бензохиноны – исключительно ядовитую группу соединений, пары которых вызывают сильное раздражение кожи лица (особенно подвержены действию бензохинонов глаза). Токсическое действие хинонов во многом объясняется легкостью их взаимодействия с аминогруппами белков. Есть многоножки, вырабатывающие *n*-креозол, резкий запах которого действует отпугивающе на хищников (птиц, амфибий, пауков, муравьев), другие хранят в своих железах камфароподобные соединения, также характеризующиеся сильным запахом и раздражающим действием. Рассмотрим подробнее некоторых представителей.

Небольшие европейские многоножки *Glomeris marginata* защищаются от пауков с помощью хинозолиновых алкалоидов, которые парализуют хищников. При раздражении многоножка свертывается клубком, выделяет капельки липкой ядовитой жидкости, активные начала которой были названы *гломерин* и *гомогломерин* (рис. 13.6). Аналогичные алкалоиды были обнаружены и у североамериканских многоножек *Omoneris sinuata*.

Многоножка выделяет от одной до восьми капель этой жидкости. Оба компонента являются сильными репеллентами для лягушек, птиц и мышей, а также антифидантами<sup>125</sup> тарантулов.

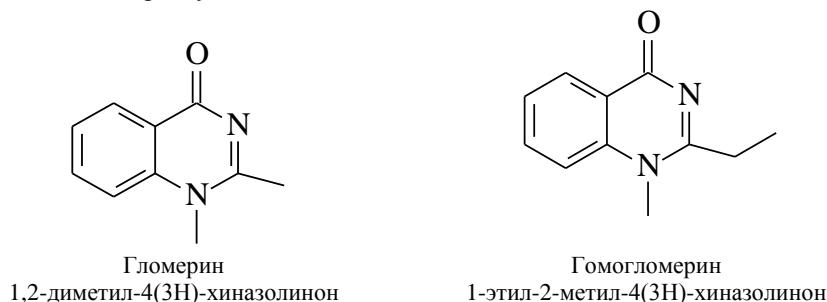


Рис. 13.6. Активные начала защитного секрета *Glomeris marginata*

У взрослой *Glomeris marginata*, содержащейся при 15<sup>0</sup>С, можно получать защитную жидкость в течение 100 дней вплоть до полного истощения. Самки производят более липкий секрет, чем самцы, но оба пола секретируют защитную жидкость примерно с одной скоростью 12 мкг/особь/сутки. Однако самцы, достигающие 1/3 размера самки, продуцируют относительно больше секрета. Требуется не менее 4 месяцев для восполнения запасов полностью истощенной железы.

Наиболее часто у многоножек в качестве защитных веществ встречаются бензальдегид и синильная кислота. Однако у многоножек *Orthomorpha coarctata* и *Euryurus leaehii* обнаружены фенол и гваякол. Кроме того, многоножки *Polydesmus c. collaris* и *P. vicinus* используют *p*-изопропилманделонитрил глюкозид, бензойную кислоту, манделонитрил бензоат.

Особый интерес представляют многоножки, использующие для защиты синильную кислоту. Распространенное мнение о том, что в железах хранится свободная синильная кислота, было опровергнуто исследованиями ученых Корнельского университета в США, которые изучали химический состав и механизм выделения секрета диплоподы *Apheloria corrugata*, имеющего резкий запах горького миндаля. Ее ядовитая железа, в отличие от большинства других диплопод, является двухкамерной (рис. 13.7).

Большая из камер представляет собой тонкостенный мешок и содержит секрет. Маленькая наполнена жидким веществом и находится между большой камерой и выпускным отверстием. Между камерами имеется мускульный сфинктер, препятствующий произвольному смешиванию содержимого большой и малой камер. При возбуждении одновременно происходит сжатие большой камеры и открывание сфинктера. Секрет большой камеры поступает в малую, их содержимое перемешивается, и смесь через выпускные поры поступает наружу. Размеры камер невелики, даже большая из них содержит всего около 1 мкл секрета. Химический

<sup>125</sup> Антифиданты (от греч. anti- – приставка, означающая противодействие, и англ. feed – поедать) – вещества, предохраняющие растения и материалы от поедания животными. наиб. изучены антифиданты насекомых. Эти антифиданты, как и репелленты (отпугивающие вещества), насекомых не убивают. В отличие от растений, обработанных репеллентами, на растение, обработанное антифидантами, насекомые садятся, но при этом не наносят ему вреда. Иногда после контакта с антифидантами питание насекомых на некоторое время вообще прекращается. Свойствами антифидантов обладают фунгициды.

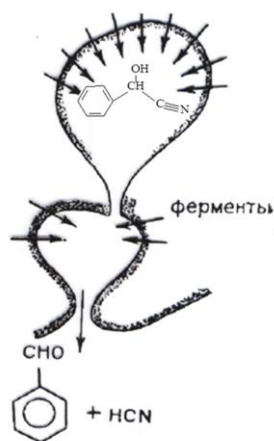


Рис. 13.7. Двухкамерная ядовитая железа *Apheloria corrugata*

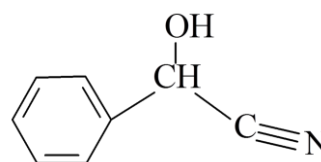


Рис. 13.8. Манделонитрил

анализ показал, что реакцию на синильную кислоту дает только смесь содержимого камер, но не их секреты в отдельности. Следует подчеркнуть, что процесс выделения паров синильной кислоты при раздражении многоножки длится в течение нескольких минут с постепенным декрементом. Следовательно синильная кислота не хранится в организме, а образуется *ex tempore* (перед употреблением), ее выделение длится в течение некоторого времени, необходимого для завершения реакции, очевидно в зависимости от количества прореагировавших веществ. Поэтому логично было предположить, что для образования синильной кислоты необходима какая-то цианогенная молекула, которая под действием другого вещества (очевидно фермента) распадается с образованием синильной кислоты. Химический анализ показал, что это манделонитрил (2-гидрокси-2-фенил-ацетонитрил) (рис. 13.8).

Манделонитрил является продуктом гидролиза амигдалина. Манделонитрил, будучи циангидрином, находится в термодинамическом равновесии с продуктами своего негидролитического расщепления – бензальдегидом и цианистым водородом (водный раствор которого больше известен как синильная кислота): при его ферментативном распаде происходит выделение синильной кислоты и бензальдегида. Синильная кислота благодаря высокому давлению пара окутывает облачком свернувшуюся спиралью многоножку. Многоножки способны регулировать количество выделяющегося яда, и при локальном раздражении капельки яда выделяются только из пор данных сегментов. Общее количество синильной кислоты, которое может образовать *A. corrugata*, достигает 545 мкг. Длительность химической защиты около 20 мин – срок достаточный, чтобы уползти от источника опасности.

---

## ЧАСТЬ III

# ЯДОВИТЫЕ АНАМНИИ: Рыбы (Pisces) и амфибии (Amphibia)

Глава 14. Активно-ядовитые рыбы

Глава 15. Пассивно-ядовитые рыбы. Круглоротые (Cyclostomata)

Глава 16. Амфибии (Amphibia)

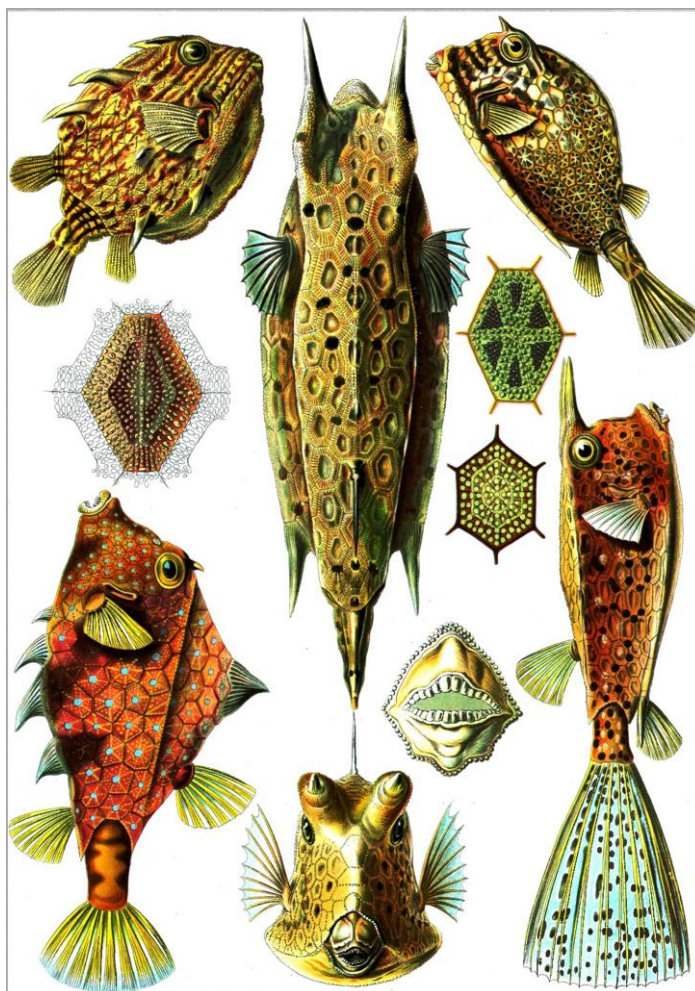


Wikipedia Commons

## АКТИВНО-ЯДОВИТЫЕ РЫБЫ

И сотворил Бог рыб больших и всякую душу животных пресмыкающихся, которых произвела вода, по роду их, и всякую птицу пернатую по роду ее. И увидел Бог, что это хорошо.

*Быт 1:21*



Э. Геккель, 1904

Рассмотрение ядовитых позвоночных животных (Vertebrata) начнем с активно-ядовитых и пассивно-ядовитых рыб, а также круглоротых, постоянной средой обитания которых является вода. Рыбы вместе с амфибиями относятся к анамниям (Anamnia), или низшим позвоночным – парафилетической группе, включающей позвоночных животных, не имеющих зародышевых оболочек. В отличие от амниот, у анамний в процессе эмбрионального развития не возникает зародышевой оболочки – амниона и особого зародышевого органа – аллантоиса. Анамнии связаны в своём существовании с водной средой, в которой они проводят либо всю жизнь, либо начальные стадии (яйцевые и личиночные). К анамниям относятся все позвоночные, за исключением амниот, то есть бесчелюстные и различные группы рыб, а также амфибии. Вначале дадим общую токсинологическую характеристику рыбам.

#### 14.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЫБ

Рыбы<sup>126</sup> (Pisces) – надкласс (парафилетическая группа<sup>127</sup>) водных позвоночных животных. Это обширная группа челюстноротых, для которых характерно жаберное дыхание на всех этапах постэмбрионального развития организма. Рыбы – наиболее разнородный и многочисленный надкласс позвоночных. В мире известно (на 5 августа 2013 г.) 32834 видов рыб. Каждый год описываются около 300–500 новых для науки видов. Рыбы распространены как в солёных, так и в пресных водах, от глубоких океанических впадин до горных ручьев. Рыбы играют важную роль в большинстве водных экосистем как составляющая пищевых цепей. Они имеют большое экономическое значение для человека из-за употребления их в пищу. Размеры современных рыб варьируют от 7.9 мм (*Paedocypris progenetica*) до 20 м (китовая акула). В России обитает около 3000 видов, в том числе в пресных водах встречается более 280 видов.

Рыбы населяют, за редким исключением, все водоемы земного шара, приспособились к самым разнообразным условиям водной среды от экватора до полюсов, от океанических пучин и подземных вод до высокогорных родников. Они распространены от высокогорных водоёмов (более 6000 м над уровнем океана) до наибольших глубин Мирового океана (11034 м). Встречаются рыбы в полярных водах и тропических зонах. В настоящее время рыбы – господствующая группа животных в водных биоценозах. Наряду с китообразными, они завершают цепи питания. Рыбы приспособились к различным условиям водной среды. По местам обитания различают морских, пресноводных и проходных рыб. При достаточно большом разнообразии видов образа жизни всех

---

<sup>126</sup> Рыба – один из ранних символов христианства. По-гречески «рыба» – ἰχθύς, «ichthys», что является акронимом греческой фразы «Ἰησοῦς Χριστὸς Θεοῦ Υἱὸς Σωτήρ», что переводится на русский как «Иисус Христос Божий Сын Спаситель». Эта фраза встречается на каменных плитах – святых реликвиях в Иерусалиме. Изображение двух рыб по сторонам от вертикального якоря с верхушкой в виде креста использовалось как секретный «пропуск-пароль» во времена, когда первые христиане преследовались римлянами.

<sup>127</sup> С таксономической точки зрения рыбы – парафилетическая группа, так как в неё включают кистепёрых рыб, ближайших общих предков наземных позвоночных – четвероногих (Tetrapoda), которые, очевидно, рыбами не считаются.

рыб можно включить в состав нескольких экотипов: литоральные (планктон) – обитают в прибрежной зоне (бычки, морские собачки), пелагические (нектон) – держатся в толще воды; донные (нектобентос) – например скаты, камбалы сомы.

Число признанных видов продолжает меняться вследствие открытий новых видов, а также таксономических ревизий отдельных групп рыб. В результате взгляды исследователей на систематику рыб сильно расходятся, и единой установленной классификации их не существует. Однако все исследователи сходятся в том, что современные рыбы распадаются на две резко обособленные группы: класс Хрящевые рыбы (Chondrichthyes) и грандкласс Костные рыбы (Osteichthyes).

#### 14.1.1. Хрящевые рыбы (Chondrichthyes)

Хрящевые рыбы лишены костей, и внутренний скелет их состоит сплошь из хряща. В основном представлены двумя неравными группами. Большинство видов относится к подклассу Пластиножаберные, или Акуловые рыбы (Elasmobranchii), сохранивших примитивное строение скелета, но имеющих более совершенное строение органов размножения и нервной системы. К этому подклассу относят и скатов. Вторая группа – немногочисленные химеры, или подкласс Цельноголовые (Holocerphali), у которых верхняя челюсть, слившись с черепной коробкой, приобрела особенную прочность, необходимую при дроблении раковин моллюсков, служащих им основной пищей. Тело этих рыб покрыто кожей, несущей обычно плакоидную чешую, которая является одним из наиболее древних видов чешуйного покрова; реже кожа голая. У хрящевых рыб, в отличие от костных, нет плавательного пузыря. В связи с этим, чтобы не опуститься на дно, хрящевые рыбы должны находиться в движении. И у хрящевых, в отличие от костных рыб, жабры открываются наружу жаберными щелями; жаберных крышек нет. Хрящевые рыбы имеют плакоидную чешую, которая гомологична зубам всех позвоночных; перемещаясь в ходе эволюции на челюсти, плакоидные чешуи собственно и превращаются в зубы у акул и скатов. Плакоидная чешуя состоит из дентина, который формирует основу чешуй, а сверху покрыта эмалью. По химическому составу дентин и эмаль акул сходны с дентином и эмалью зубов человека. Утраченные плакоидные чешуи не возобновляются, но при росте рыбы их количество увеличивается. Плавниковые шипы некоторых хрящевых рыб (например черноморского катрана) тоже являются преобразованными плакоидными чешуями.

Среди всех трех групп хрящевых рыб (акул, скатов и химер) имеются виды, опасные для человека как ядовитые животные. Ядовитый аппарат хрящевых рыб представляет собой модифицированные плакоидные чешуи, которые преобразуются в шипы, находящиеся в спинных плавниках (акулы и химеры) или на хвосте (скаты) (рис. 14.1). Ткань ядовитой железы располагается чаще в бороздках, проходящих по шипу. Наличие ранящего аппарата позволяет отнести этих рыб к вооруженным активно-ядовитым. В то же время некоторые виды хрящевых рыб являются пассивно-ядовитыми. Известно, что употребление мяса акул и скатов также служит причиной отравления людей. При этом самые сильные отравления были при употреблении в пищу печени тропических ви-

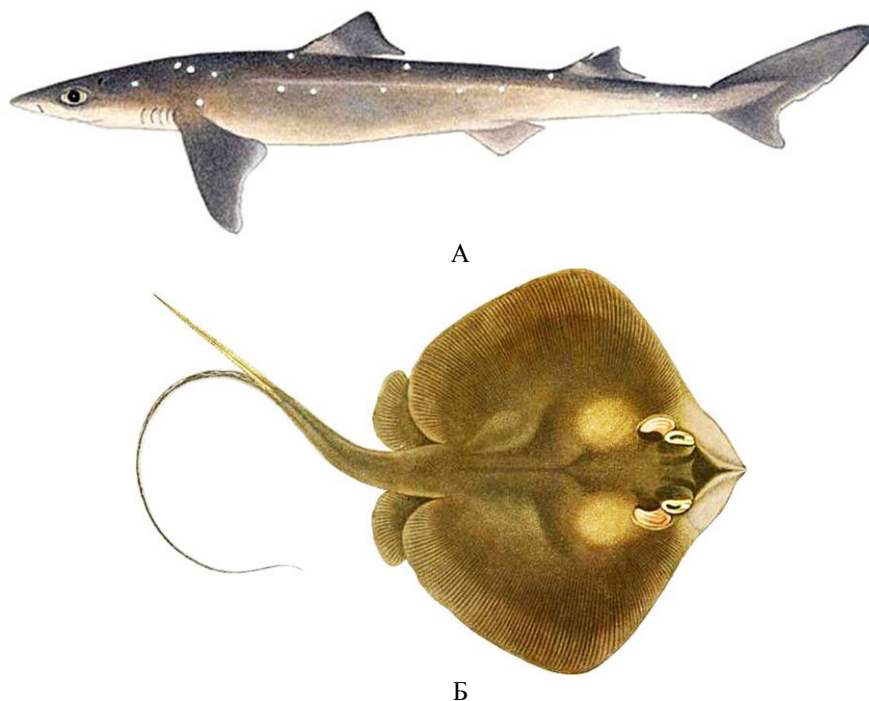


Рис. 14.1. Колючая акула *Squalus acanthias* (А) и скат-хвостокол *Dasyatis aspera* (Б) (Wikipedia Commons)

дов акул, в том числе акулы-молота (*Sphyrna zygaena*), белой акулы (*Carcharodon carcharias*), семижаберной акулы (*Hepranchias perlo*), полярной акулы (*Somniosus microcephalus*), гребнезубой акулы (*Hexanchus griseus*) и черноперой пилозубой акулы.

#### 14.1.2. Костные рыбы (Osteichthyes)

С современной точки зрения таксономическая группа костных рыб является парафилетической, поскольку ближайший общий предок этой группы также является и предком современных сухопутных животных. Исходя из этого замечания, группа Osteichthyes рассматривается как грандкласс, состоящий из двух классов: Лучепёрые (Actinopterygii) и Лопастепёрые (Sarcopterygii). Наиболее совершенные из них – Костистые рыбы (Teleostei), инфракласс Лучепёрые рыбы, объединяющий 19.5 тыс. видов (около 96% всех видов), в то время как всех остальных рыб насчитывается всего около 500 видов. Филогения костистых рыб во многом остаётся спорной.

Костные рыбы имеют парные конечности (плавники). Рот этих рыб образован хватающими челюстями с зубами, жабры расположены на жаберных дугах с внутренней скелетной опорой, ноздри парные. Костные рыбы имеют более совершенный костный скелет как наружный – кожного происхождения, так у боль-



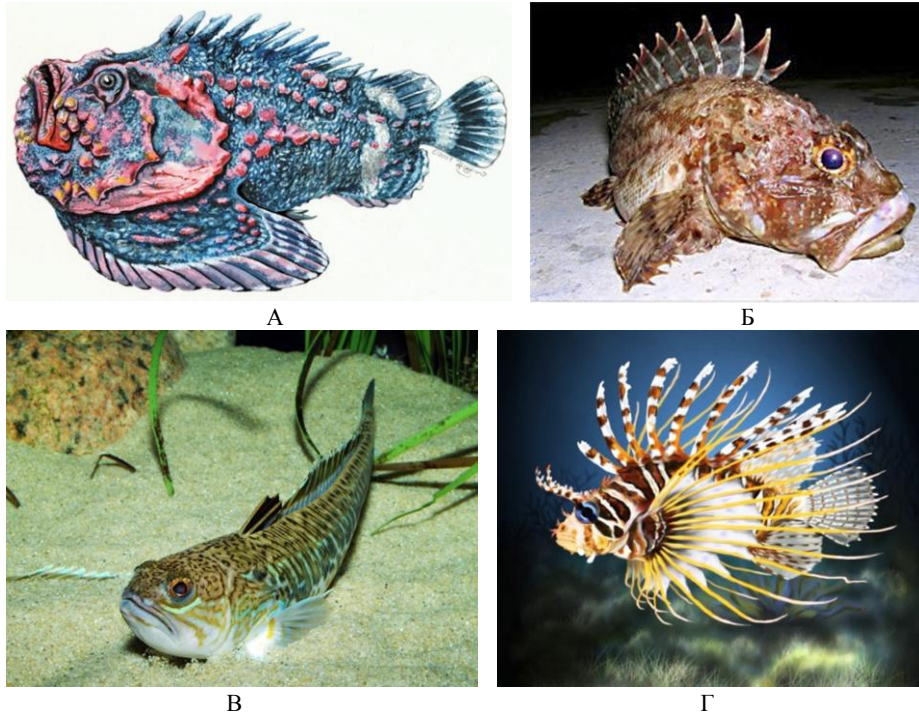


Рис. 14.2. Активно-ядовитые рыбы: А – бородавчатка *Synanceja verrucosa*; Б – скорпена *Scorpaena scrofa*; В – большой дракончик *Trachinus draco*; Г – крылатка *Pterois antennata* (Wikipedia Commons)

шинства и внутренний, дышат они жабрами при помощи жаберной крышки и имеют плавательный пузырь.

Среди многочисленных представителей костистых рыб известно немало видов, которые представляют опасность для человека как ядовитые животные. Необходимо к этому добавить, что степень ядовитости и опасности у разных видов колеблется в весьма сильных пределах. Костистые рыбы включают виды, вооруженные ранящим ядовитым аппаратом в виде различных колючек и шипов, – активно-ядовитые формы. Кроме того, имеется большое число видов, ядовитость которых связана с внутренними органами (чаще гонадами), мышцами, кожей, – пассивно-ядовитые формы.

Слизистые железы, характерные для водных организмов, обеспечивают не только улучшение гидродинамических характеристик тела, но и выполняют защитные функции. защите от хищников служат также различные колючки и шипы, нередко снабженные специализированными ядовитыми железами. В других случаях уколы колючими лучами плавников способствуют попаданию в рану секрета слизистых желез, обладающего раздражающим и токсическим действием.

К активно-ядовитым рыбам относят большинство видов из отряда Сомообразные Siluriformes, Окунеобразные Perciformes, Скорпенообразные Scorpaeniformes. Наибольшую известность среди активно-ядовитых рыб получили не-

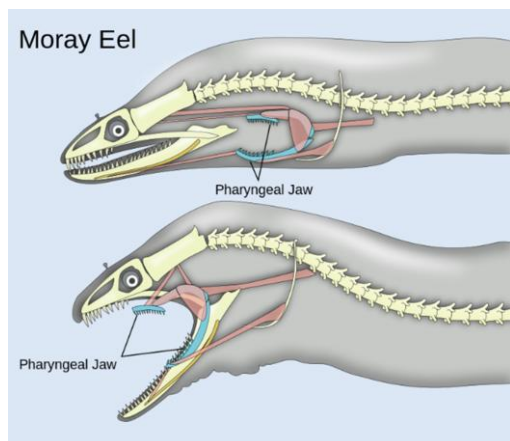


Рис. 14.3. Строение челюстей мурены (Wikipedia Commons)

Отдельно следует сказать о мурене, которая заслуженно считается одной из наиболее опасных хищных рыб. Но ее опасность связана с особенностями строения челюстей. Дело в том, что мурены обладают двумя парами челюстей. Вторая пара, называемая глоточной, или фарингеальной, находится позади черепа (рис. 14.3). Хотя внутренние челюсти не выходят за пределы внешних, они помогают более крепко ухватить добычу. Когда основные челюсти смыкаются, схватывая добычу, задние выбрасываются вперед, впиваются в тело жертвы крючковидными зубами и с силой втягивают добычу в глотку. Ядовитость мурен будет рассмотрена в главе 15.

### 14.1.3. Ядовитый аппарат

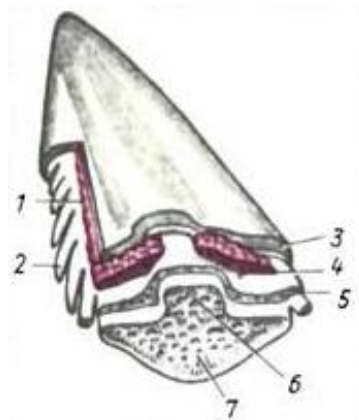
Известны около 200 видов рыб, вызывающих отравление с помощью ядовитых колючек или шипов, которые, как правило, снабжены ядовитой железой. Обычно активно-ядовитые рыбы ведут малоподвижный образ жизни, подкарауливая свою добычу. Ядовитые колючки являются их орудием защиты. Ядовитый аппарат и его вооружение у различных активно-ядовитых рыб имеют общие черты строения. Обычно это колючка или шип, прикрытые сверху тонким кожистым чехлом, под которым находятся ядовитые железы, выделяющие секрет. Иногда развиваются специальные железы, соединенные с шипом коротким протоком. В колючки превращаются передние лучи спинного и анального или наружные лучи грудных и брюшных плавников. Шипы развиваются на различных костях черепа, чаще на жаберных крышках. Выработка аппарата такого типа свидетельствует о его приспособительном, защитном характере (на это указывают и особенности поведения рыб в случае грозящей им опасности).

У скатов ранящий аппарат представлен зазубренными шипами, в желобах вентральной поверхности которых расположены ядовитые железы (рис. 14.4).

которые представители из сем. Скорпеновых – Scorpaenidae, например крылатка *Pterois antennata*, скорпена *Scorpaena scrofa*.

Хорошо известны также бородавчатка, или камень-рыбы (*Synanceiinae*); морские дракончики, или рыбы-змейки (*Trachinidae*), которые также имеют одного представителя в Черном море – большого дракончика *Trachinus draco*, жабь-рыбы (*Batrachoididae*), звездочеты, или морские коровки (*Uranoscorpidae*) и разнообразные рыбы коралловых рифов в тропических водах (рис. 14.2).

Рис. 14.4. Схема строения шипа ската-хвостокола (Холстед, 1970):  
 1 – интегументарный чехол; 2 – зубцы;  
 3 – эпидермис; 4 – ядовитая железа;  
 5 – дерма; 6 – медиевентральный гребень; 7 – шип



Шипы могут достигать значительных размеров – до 30 см и более у *Dasyatisformes*. При сильных ударах они нередко обламываются, обломок прочно удерживается в тканях жертвы благодаря направленным назад зазубринам. Специальных протоков ядовитые железы не имеют, и секрет накапливается в желобах шипа. В момент удара под давлением тканей жертвы секрет выделяется вблизи копьевидного наконечника шипа. Электронная микроскопия ядовитой железы *Dasyatis sabina* выявила в ядообразующих клетках систему микротрубочек, окруженных общей мембраной. На поперечном срезе внутри овала, образованного замкнутой мембраной, можно насчитать до 5000 микротрубочек, средний диаметр которых составляет ~20 нм. Предполагается, что в этих микротрубочках содержится ядовитый секрет.

У акул сем. Squalidae (колючие или катрановые) перед первым и вторым спинными плавниками расположены острые колючие шипы, которые могут нанести болезненные уколы. Это относится и к обычной у нас черноморской акуле – катрану (*S. acanthias*). Верхушка колючки голая, нижняя же ее часть покрыта кожистым чехлом, под которым расположены ядовитые железы. При давлении тканей жертвы на железу акулы происходит выделение ядовитого секрета.

Ранящий аппарат колючеперых костистых рыб (*Pterois*, *Scorpaena*, *Synanceia*) представлен жесткими лучами спинного плавника. Ядовитыми могут быть и лучи брюшного и анального плавников. Лучи имеют вытянутую иглообразную форму. На поверхности лучей видны глубокие борозды, придающие лучам на поперечном срезе Т-образную форму (рис. 14.6). В этих бороздах лежат ядовитые железы. У основания лучей имеется своеобразная система «затворов», фиксирующих лучи в выпрямленном положении. При сокращении приводящих мышц отросток одного луча заходит в отверстие другого – таким образом все лучи плавника закрепляются в напряженном состоянии. Сокращение мышц-антагонистов укладывает лучи вдоль тела. У жабуна *Thalassophryne* (Batrachoididae) ядовитый шип по своему строению напоминает ядовитые зубы змей. Шип представляет собой полую заостренную иглу (рис. 14.5), у проксимальной части которой расположена крупная ядовитая железа. Проток железы входит в проксимальное отверстие шипа. При надавливании на железу из дистального отверстия шипа выступает довольно крупная капля ядовитого секрета.

У *Pterois* и *Scorpaena* железы не имеют выводных протоков, и секрет выделяется в тело жертвы непосредственно из полости борозды, где он скапливается так же, как это имеет место у скатов. У морского окуня *Sebastes norvegicus* под давлением тканей жертвы некоторое количество железистых клеток целиком переходит в секрет (голокринная секреция). При этом разрушаются перегородки из опорных клеток и в дистальной части железы образуется «ложный выводной проток», не имеющий ни определенных стенок, ни определенных размеров. Секрет стекает в рану по борозде колючего луча плавника. Однако такой механизм выделения секрета принимается не всеми.

Если вопрос о наличии «ложных выводных протоков» у скорпеновых рыб является дискуссионным, то у бородавчатки *Synanceia* (Synanceidae) ядовитая железа снабжена настоящим выводным протоком, открывающимся отверстием на вершине луча. Сами железы – крупные, бобовидной формы – лежат в средней трети борозды колючки (рис. 14.6).

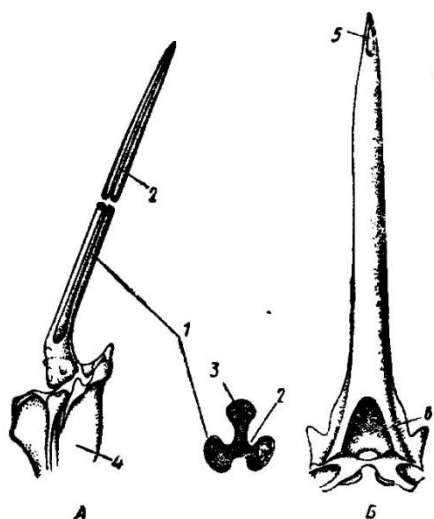


Рис. 14.5. Строение колючки спинного плавника некоторых активно-ядовитых рыб (Холстед, 1970): А – скорпены *Scorpaena guttata*; Б – жабуна *Thalassophryne dowi*; 1 – постеролатеральный гребень; 2 – антеролатеральная железистая борозда; 3 – антероомедиальный гребень; 4 – интерневральный шип; 5 – дистальное отверстие; 6 – проксимальное отверстие

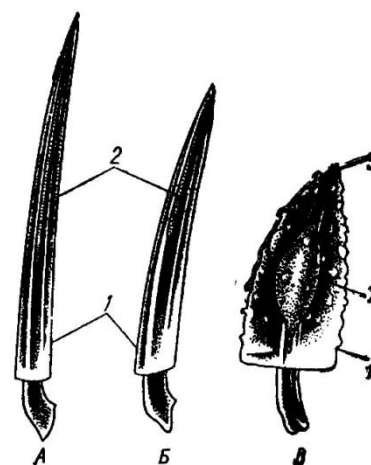


Рис. 14.6. Строение ядовитой железы активно-ядовитых рыб (Холстед, 1970): А – крылатки *Pterois*; Б – скорпены *Scorpaena*; В – бородавчатки *Synanceia*; 1 – интегументарный чехол; 2 – ядовитая железа; 3 – проток железы

Описанными примерами не исчерпывается все многообразие форм ядовитых ранящих аппаратов рыб – существует множество переходных форм. В настоящее время из активно-ядовитых рыб выделен, очищен и идентифицирован ряд индивидуальных токсинов (табл. 14.1).

Таблица 14.1

**Токсины, выделенные из яда некоторых активно-ядовитых рыб  
(Church, Hodgson, 2002)**

Вид	Тривиальное название	Токсин	Структурная характеристика
<i>Urolophus halleri</i>	Скат	–	100 кДа
<i>Trachinus draco</i>	Большой морской дракончик	Дракотоксин	105 кДа
<i>Trachinus vipera</i>	Малый морской дракончик	Трахинин	324 кДа, состоит из 4 идентичных субъединиц
<i>Scorpena guttata</i>	Калифорнийский бычок	–	50–800 кДа
<i>Pterois volitans</i>	Крылатка	–	Небелковый токсин, 327 кДа
<i>Nothestes robusta</i>	Австралийская скорпена, или большеротый нотест	Ноцитоксин	170 кДа
<i>Thalassophryne nattereri</i>	Жабун	Наттектин	47 кДа
<i>Plotosus canius</i>	Угрехвостый сом	Токсин-РС	15 кДа
<i>Synanceia verrucosa</i>	Бородавчатка	Веррукотоксин vix	4 субъединицы: 2 $\alpha$ (по 83 кДа) и 2 $\beta$ (по 78 кДа)
<i>Synanceia horrida</i>	Бородавчатка	Стонустоксин STNX	2 субъединицы: $\alpha$ – 79388 Да и $\beta$ – 79290 Да
<i>Synanceia trachynis</i>	Бородавчатка	Трахинилизин TLY	158 кДа

Кроме этих токсинов, в яде рыб содержатся и другие биологически активные вещества. Так, например, в яде большого дракончика содержатся в высоких концентрациях гистамин и катехоламины, возможно присутствует холинэстеразная активность. Яд ската *Urolophus halleri* содержит серотонин, 5-нуклеотидазу фосфодиэстеразы. В яде трех видов бородавчатников (*Synanceia trachynis*, *Synanceia horrida* и *S. verrucosa*) обнаружены катехоламины, а также различные ферменты. Кроме того, яд бородавчатника *Synanceia horrida*, крылатки *Pterois volitans* и речного ската *Potamotrygon motoro* возможно содержит ацетилхолин или холинотиамин. Подробней химический состав яда активно-ядовитых рыб будет рассмотрен в соответствующих разделах главы.

## 14.2. ПРЕДСТАВИТЕЛИ АКТИВНО-ЯДОВИТЫХ РЫБ

### 14.2.1. Отряд Хвостоклообразные (Myliobatiformes)

Хвостоклообразные (Myliobatiformes, syn. Dasyatiformes) – один из пяти отряд скатов, принадлежащих надотряду Скаты (Batoidea), который, в свою очередь, входит в подкласс Пластиножаберных (Elasmobranchii). Для скатов характерно весьма «расплющенное» тело и большие грудные плавники, сросшиеся с головой. Пасть, ноздри и пять пар жабр находятся на плоской и, как правило, светлой нижней стороне. Хвост бичеобразной формы. Верхняя сторона у скатов приспособлена по расцветке к тому или иному жизненному пространству и может варьировать от светло-песочной до черной. На верхней стороне расположены глаза и отвер-

стия, в которые проникает вода для дыхания, – брызгальца (первая пара жаберных щелей). Скаты обитают во всех морях и океанах и живут как в холодных водах Арктики и Антарктики, так и в тропиках, диапазон температур среды обитания у них колеблется от 1.5 до 30°C. Эти рыбы встречаются как на мелководье, так и на глубине до 2700 м. Большинство видов скатов ведёт придонный образ жизни и питается моллюсками, раками и иглокожими. Пелагические виды питаются планктоном и мелкой рыбой. Размеры скатов колеблются от нескольких сантиметров до 6–7 м в длину. Одним из наиболее известных видов скатов является манта (*Manta birostris*). Особым «оружием» наделён отряд электрических скатов, чьи представители с помощью специального органа из преобразованных мышц могут парализовать добычу электрическими разрядами от 60 до 230 вольт и выше 30 ампер.

Токсикологическое значение имеют представители отряда хвостоколообразных надотряда скатов. Результаты морфологического и генетического анализов показали, что эта группа скатов является монофилетической. Хвостоколообразные обычны в тропических и субтропических морях, редки в умеренных широтах. Живут на мелководье, но есть и глубоководные формы. Заходят в устья рек. Несколько видов речных скатов (*Potamotrygon*) живут в бассейне Амазонки и в других реках Бразилии и Парагвая.

Многие представители этой группы имеют хвостовые иглы. Сами иглы уплощены с боков и покрыты по бокам грубыми зазубринами (рис. 14.7). По нижней поверхности иглы проходит бороздка, на которой расположены клетки, выделяющие ядовитый секрет. Сама игла неподвижна, но, изгибая хвост, скат способен наносить мощные удары. Сила удара такова, что игла легко пробивает кожаную обувь и глубоко входит в тело человека, который случайно потревожил ската на мелководье вблизи пляжа<sup>128</sup> (рис. 14.8). Яд очень токсичен, вызывает резкие спазматические боли, мышечный паралич, сильное сердцебиение, рвоту.

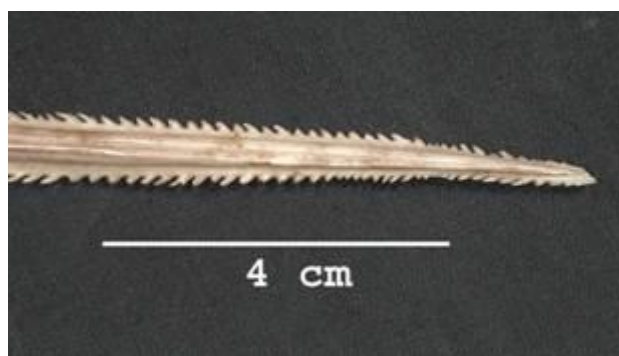


Рис. 14.7. Шип ската-хвостокола (Wikipedia Commons)

---

<sup>128</sup> Плиний Старший в «Естественной истории» писал: «Нет ничего страшнее, чем шип хвостокола... Это грозное оружие может пронзить дерево, и дерево умрёт; оно может также пронзить броню как железная стрела, а к силе железа в нём добавлена ещё и сила яда».

Уколы, которые наносят своими зазубренными шипами скаты-хвостоколы, отнюдь не редкость. На побережье Северной Америки скаты ранят ежегодно около 750 человек. Количество жертв по всему побережью Мирового океана исчисляется тысячами. Среди скатов имеются и пресноводные формы, например глазчатый хвостокол (*Potamotrygon motoro*), обитающий в Южной Америке в бассейне Амазонки, укол которого вызывает серьезное отравление, сопровождающееся интенсивной болью, отеками и геморрагиями. Зазубренный шип хвостокола использовали в качестве наконечника копий и стрел островитяне Тихого и Индийского океанов, малайцы, аборигены Австралии и индейцы. Чаще страдают от укулов скатов рыбаки, аквалангисты и просто купающиеся.

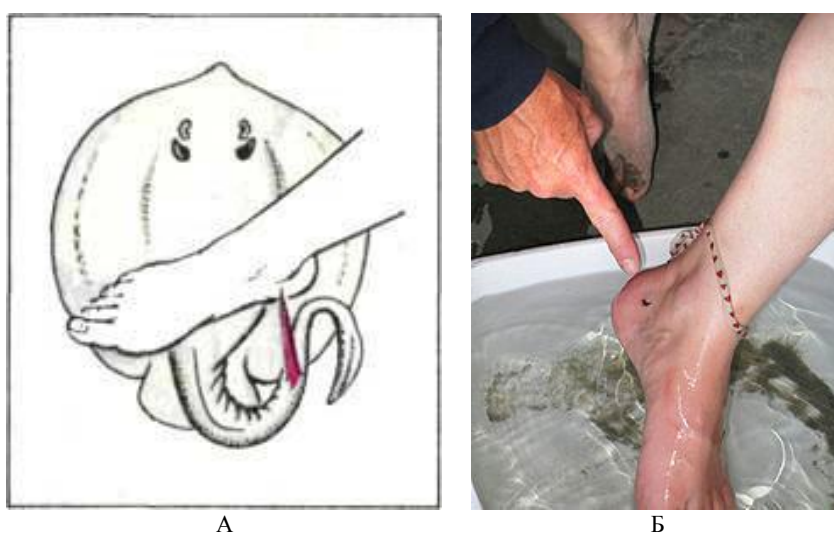


Рис. 14.8. Укол ядовитым шипом ската-хвостокола (А) и его последствия (Б) (Wikipedia Commons)

Тем не менее скаты практически никогда не используют свой шип для нападения; поражения человека, как правило, являются следствием неосторожного обращения или несчастного случая. Боль, вызываемая укусом, чрезвычайно сильная и может сохраняться до 48 часов. Первые 30–60 мин отравления характеризуются развитием слабости, иногда потерей сознания, диареей, развитием судорог и нарушением дыхания. И у человека, и у экспериментальных животных яд хвостокола вызывает падение артериального давления и нарушения в деятельности сердца. Поражения конечностей обычно заканчиваются выздоровлением через несколько дней. Однако укол в грудь или живот может закончиться смертельным исходом<sup>129</sup>. В качестве первой помощи при уколе скатом-хвостоколом рекомендуют ванночку с горячей (45°C) водой, которая уменьшает боль за счет денатурации белковых компонентов яда<sup>130</sup>. Антибиотики показаны при попадании в рану

<sup>129</sup> Известный австралийский телеведущий С. Ирвин погиб во время съёмок фильма «Самые опасные обитатели океана» – скат-хвостокол ударил его шипом в область сердца.

<sup>130</sup> Однако следует иметь в виду, что горячая вода вызывает расширение кровеносных сосудов, способствующее распространению яда по организму.

вторичной инфекции. Местная анестезия и региональная блокада также способны снизить болевые ощущения.

Химические свойства и механизм действия яда. Токсин, выделенный из ядовитого секрета морского ската *Urolophus halleri*, представляет собой весьма лабильный белок с молекулярной массой ~ 100000. Электрофоретическое изучение белка показало, что он не является гомогенным и может быть разделен на 10 фракций, из которых по крайней мере 5 токсичны. Токсичность ( $DL_{50}$ ) яда ската составляет 28 мг/кг. Ядовитый секрет скатов обладает своеобразным ферментативным составом, в частности, в нем обнаружены 5'-нуклеотидаза и фосфодиэстераза, тогда как фосфолипазная и протеолитическая активность отсутствует. У кошек внутривенное введение яда *Urolophus halleri* вызывало брадикардию, увеличение интервала PR и симптомы аурикуло-ветрикулярного блока различной степени тяжести.

В Персидском заливе (провинция Хормозган<sup>131</sup>) обитают имеющие эпидемиологическое значение скаты *Himantura gerrardi*, яд которых вызывает сильную боль и нарушения деятельности сердца у человека. Экспериментальное изучение яда показало, что  $DL_{50}$  составляет 100 мг/кг при внутрибрюшинном введении мышам. У крыс яд ската вызывал нарушения сердечной деятельности, сопровождающиеся тахикардией и изменениями параметров ЭКГ.

Пресноводные скаты обычны в водах рек Парана (Бразилия, Парагвай), Арагуая и Токантинс (Бразилия). Отравления их ядом обычно наблюдается у рыбаков и купающихся и сопровождается некрозом кожи (рис. 14.9). Следует подчеркнуть, что болеутоляющий эффект горячих ванночек не препятствует образованию язв.

Было проведено сравнение токсичности экстрактов, полученных от речного ската *Potamotrygon falkneri* и морского ската *Dasyatis guttata*. Для обоих экстрактов был характерен белковый компонент с  $M_r$  80 кДа, однако основные различия наблюдались для более низкомолекулярных компонентов.



Рис. 14.9. Хроническая язва, вызванная уколом пресноводного ската (Haddad et al., 2004)

<sup>131</sup> Хормозган (перс. هرمزگان – Hormozgân) – одна из 31 провинций (останов) Ирана. Находится на юге страны, на северном берегу Персидского залива.



Летальная, дермонекротическая и миотоксическая активность была присуща только яду *Potamotrygon falkneri*, его токсичность DL<sub>50</sub> составляла 20 мг/кг для мышей. Оба яда вызывали образование отеков и обладали ноцицептивным эффектом, но в этом отношении яд *Potamotrygon falkneri* был в два раза активнее. Сравнимые яды обладали непрямой гемолитической активностью, обусловленной фосфолипазой A<sub>2</sub>, и коагулянтной активностью. Оба яда характеризуются желатинолитической, казеинолитической и фибриногенолитической активностью, не связанной с металлопротеиназами. Однако активность гиалуронидазы обнаружена только в яде *Potamotrygon falkneri*. Таким образом, по совокупности биологических эффектов яд речного ската является более токсичным и опасным, чем яд морского ската.

Сравнение ядов речных скатов *Potamotrygon cf. scobina* и *Potamotrygon gr. orbignyi* показало, что оба яда вызывают боль, отек, некроз и нарушение микроциркуляции. Некротический эффект усиливался при одновременном введении экстракта шипов и слизи, покрывающей шипы. Отеки и ноцицептивные эффекты ослаблялись предварительным нагреванием экстракта шипов при температуре 37 или 56°C.

Пептид с вазоконстрикторным действием выделен из яда *Potamotrygon orbignyi*. Пептид, получивший название *орпотрин*, имеет аминокислотную последовательность HGGYKPTDK, совпадающую только с последовательностью остатков 97-105 фермента креатинкиназы<sup>132</sup>, но не имеет сходства с какими-либо биологически активными пептидами. Возможно, что этот пептид образуется из креатинкиназы путем ограниченного протеолиза и представляет собой новый класс вазоактивных пептидов.

#### 14.2.2. Отряд Окунеобразные (Perciformes)

Окунеобразные – отряд рыб из класса лучепёрых (Actinopterygii). Насчитывают свыше 10000 видов, объединяемых в 160 семейств и 20 подотрядов. Характерные особенности: часть лучей плавников имеет вид нерасчленённых острых шипов, брюшные плавники обычно расположены под грудными, а иногда и впереди них; плавательный пузырь у некоторых особей отсутствует, не сообщается с кишечником. Как у всех костных рыб есть жаберные крышки.

##### 14.2.2.1. Семейство Драконовые (Trachinidae)

Рыбы-змейки (Trachinidae) – семейство рыб отряда окунеобразных. Длина до 35–45 см. Тело удлинённое, чешуя мелкая. Рот направлен косо вверх, глаза на верхней стороне головы. Спинных плавников 2. На жаберной крышке длинный

---

<sup>132</sup> Креатинкиназа – это фермент, катализирующий из АТФ и креатина высокоэнергетическое соединение креатинфосфат, который расходуется организмом при увеличенных физических нагрузках. Содержится в клетках сердечной мышцы, скелетной мускулатуры, головного мозга, щитовидной железы, легких. Наибольшее клиническое значение имеют следующие изоферменты (фракции) креатинкиназы: КК-МВ (сердечный изофермент, изменяющийся при повреждении клеток миокарда), КК-ВВ (мозговой изофермент, отражающий патологию клеток головного мозга), КК-ММ (мышечный изофермент, находящийся в скелетных мышцах).

острый шип. На нём и на шипах 1-го спинного плавника продольные борозды, у основания которых – ядовитые железы. Один род, пять видов; 4 вида у берегов Европы и Западной Африки и 1 вид – у берегов Чили. В водах бывшего СССР обитает 1 вид – большой дракончик, или морской скорпион (*Trachinus draco*), встречающийся в Чёрном море, изредка в Балтийском море. Большой дракончик обитает на мелководье, часто зарывается в грунт. Питается мелкими рыбами и беспозвоночными. Половая зрелость наступает на 3-м году, нерестится летом, икра мелкая, пелагическая. Плодовитость 9–75 тыс. икринок. Морские дракончики – самые ядовитые рыбы умеренных вод. Мясо морского дракончика съедобно.

**Клиника отравления.** Большинство поражений колючками морского дракончика происходит из-за неосторожного обращения с ними. Чаще всего оказываются жертвами рыбаки, вынимающие дракончика из сетей или купающиеся, случайно наступившие на него. Укол, как правило, не смертелен, но вызывает сильную боль, отек и некроз пораженного участка. Иногда наблюдаются параличи, дыхательные и гемодинамические расстройства.

**Химические свойства и механизм действия яда.** Для выделения яда используют либо экстракцию из интегументарного чехла, либо дают яду изливаться в губку с последующей экстракцией. Описан также способ отсасывания яда из колючки под вакуумом. Так, используя последний вариант, удалось получить от 600 ядовитых колючек до 60 мл ядовитого секрета, токсичность которого для мышей массой 16–18 г составила 0.5 мкл. Яд очень нестабилен и легко инактивируется при хранении (при  $t = -60^{\circ}\text{C}$ ) или лиофилизации. Однако при фильтрации через бактериальные фильтры с последующим замораживанием сухим льдом в присутствии 15%-ного раствора глицерина можно получить яд, сохраняющий свою активность в течение 2 лет и при  $t = -60^{\circ}\text{C}$ . Стабилизирующим действием в отношении яда дракончика обладает и сульфат аммония.

В яде обнаружены серотонин и гистамин, которые могут вызывать болевой эффект. При введении яда у экспериментальных животных развивается быстрая гипотензия, расстраивается дыхание и отмечается сердечная недостаточность. Несмотря на то, что смерть наступает от остановки дыхания, искусственная вентиляция легких не спасает животного. На нервно-мышечную передачу яд не действует, хотя в нем обнаружена холинэстераза.

В яде содержится токсичный белок – дракотоксин, обладающий деполаризующим действием на мембраны клеток и гемолитической активностью. Из 18 мг сырого яда морского дракончика были получены 300 мкг дракотоксина. Молекула дракотоксина представляет собой одиночную полипептидную цепь с  $M_r$  105 кДа. Дракотоксин вызывает гемолиз эритроцитов кролика с  $\text{EC}_{50}$  3 нг/мл. Эритроциты кролика обладают участками связывания дракотоксина на поверхности своей мембраны. Преинкубация дракотоксина с теньями эритроцитов увеличивала  $\text{EC}_{50}$  до 25 нг/мл. Инкубация дракотоксина с обогащенной гликофоорином<sup>133</sup> фракцией

---

<sup>133</sup> Гликофоорины – это группа основных трансмембранных сиалогликопротеинов эритроцитов. Состоят на ~60% из углеводного компонента, на 40% – из белкового. Благодаря наличию большого количества остатков сиаловой кислоты, гликофоорины ответственны примерно за 60% отрицательного заряда на поверхности эритроцитов. Эти молекулы играют важную роль во взаимодействии эритроцитов между собой, с другими клетками крови и с эндотелием.

эритроцитов кролика также приводила к увеличению  $EC_{50}$  до 70 нг/мл (рис. 14.10). Высокая гемолитическая активность дракотоксина в отношении эритроцитов кролика аналогична гемолитическому действию стафилококкового  $\alpha$ -токсина.

Однако в отличие от  $\alpha$ -токсина, дракотоксин вызывает гемолиз при 4°C; кроме того, холестерол (50 мкг/мл) в 10 раз увеличивал  $EC_{50}$   $\alpha$ -токсина, не влияя на гемолитическую активность дракотоксина (рис. 14.10).

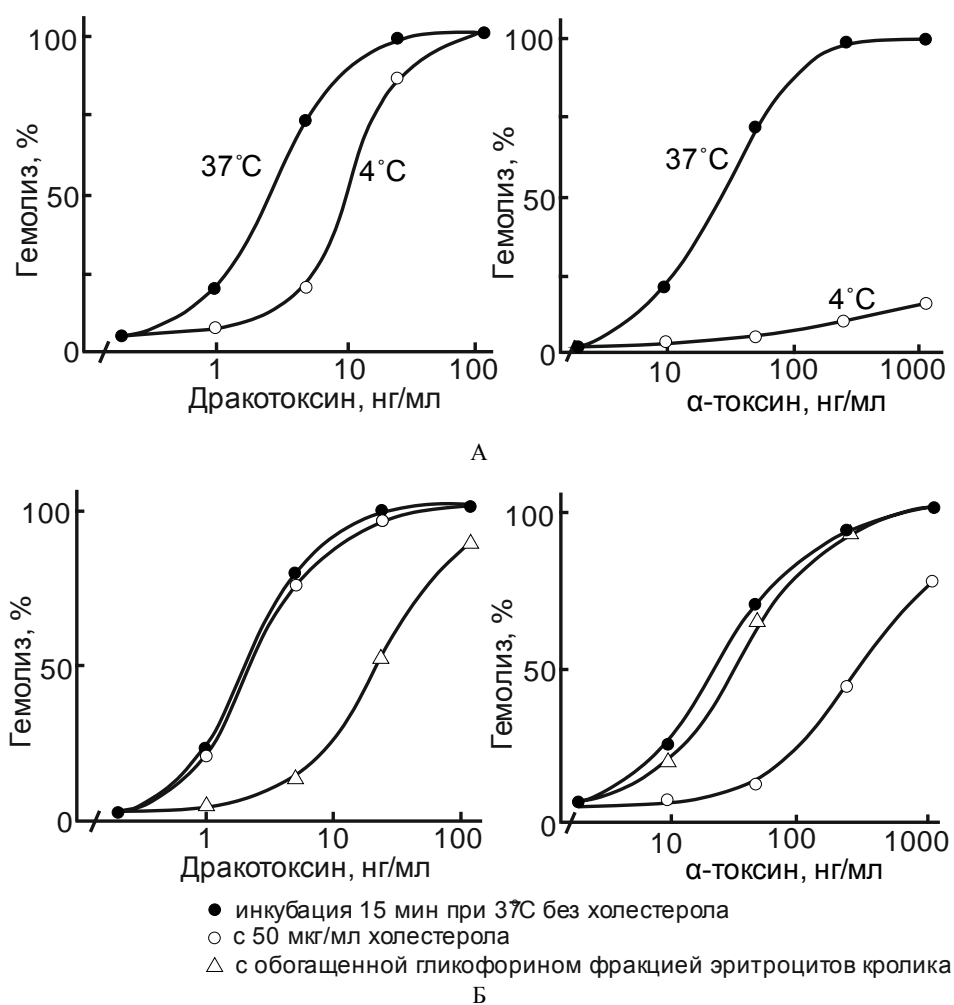


Рис. 14.10. Сравнение гемолитической активности дракотоксина и стафилококкового  $\alpha$ -токсина: А – влияние температуры, Б – влияние холестерина и обогащенной гликофорином фракции эритроцитов (Chhatwal, Dreyer, 1992)

### 14.2.3. Отряд Скорпенообразные (Scorpaeniformes)

Представители отряда Скорпенообразные плотоядны, главным образом питаются ракообразными и в меньшей степени рыбами. Большинство разновидностей живет на морском дне и на мелководье, однако есть и глубоководные виды и даже около 60 пресноводных видов. Один из видов этого отряда – *Pseudoliparis amblystomopsis* – считается одной из самых глубоководных рыб в природе: группа этих рыб была заснята на глубине 7.7 км. Скорпенообразные, как правило, имеют колючие головы и округленные грудной и хвостовые плавники. Большинство видов имеют длину менее 30 см. Но в целом диапазон размеров в отряде простирается от 2 до 150 сантиметров.

Токсикологическое значение имеет сем. Скорпеновые (*Scorpaenidae*), которое включает свыше 20 родов с 209 видами. Представители семейства распространены в тропических и умеренных морях, но большинство живёт в Индо-Тихоокеанской области. Все скорпеновые плохо плавают, предпочитая держаться ближе ко дну. Это хищные рыбы, поджидающие свою добычу в засаде. Более подробно будут рассмотрены некоторые наиболее изученные представители этого семейства.

#### 14.2.3.1. Род Бородавчатки (*Synanceia*)

Бородавчатки (*Synanceia*) относятся к подсемейству *Synanceiinae* (Бородавчатковые) семейства скорпеновых отряда скорпенообразных. Раньше, а иногда и в настоящее время, рассматриваются как отдельное семейство *Synanceiidae*. Общая длина тела от 10 до 60 см (*Synanceia horrida*). У бородавчатковых сравнительно большая голова и голое тело, за исключением расположенных вдоль боковой линии и на других частях тела погруженных чешуй, обычно покрытое кожными железами. Около оснований расположенных под кожей колючек спинного плавника имеются ядовитые железы. Особенно опасны эти рыбы своим сходством с лежащими на дне камнями, поскольку они обычно лежат отчасти погружившись в грунт. У большинства представителей плавательный пузырь отсутствует. Распространены в Индийском и Тихом океанах (рис. 14.11).

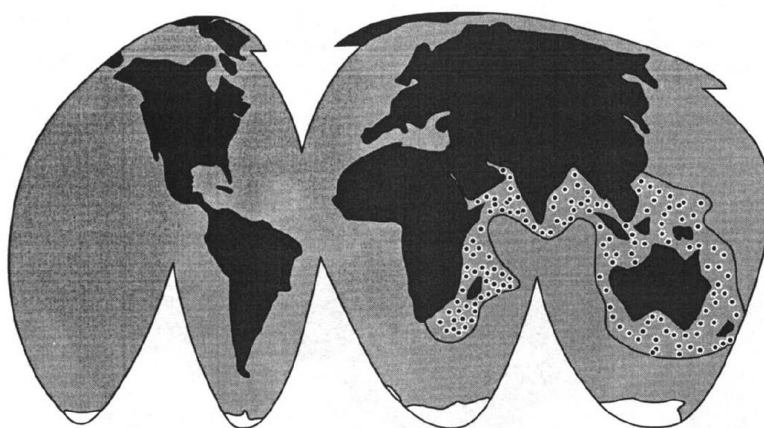


Рис. 14.11. Распространение (●) Бородавчатковых (*Synanceiinae*) в Мировом океане (Gwee et al., 1994)

**Клиника отравления.** Бородавчатки (*Synanceia*) – чрезвычайно опасные для человека рыбы. Их иглы настолько прочны, что могут пробить толстую резиновую подошву и ранить ногу. Чаще всего бородавчатки обитают среди рифов, где прекрасно маскируются среди кораллов и камней. Симптомы отравления развиваются быстро, и на первый план выступает очень сильная боль, доводящая человека буквально до исступления. На месте поражения развивается ишемия, отек, которые сохраняются от нескольких дней до нескольких недель и заканчиваются некрозом тканей. В тяжелых случаях больной теряет сознание, дыхание затрудняется, кожные и слизистые поверхности становятся цианотичными, иногда наблюдаются судороги. Перед смертью, которая может наступить в течение 5 ч после укола, больной впадает в кому<sup>134</sup>. Против яда *Synanceja trachynis* разработана лечебная сыворотка (SFAV).

**Химический состав и механизм действия яда.** Из каждого ядовитого пузырька на игле бородавчатки можно получить около 0.03 мл яда. По своим фармакологическим свойствам яд большинства видов *Synanceia* схож. Свежесобранный яд нестойк, его стабилизируют 40%-ным глицерином и хранят при  $t = -20^{\circ}\text{C}$ . Яд имеет белковую природу, термолабилен. Из ферментов обычно присутствует гиалуронидаза. Целый яд блокирует нервно-мышечную передачу, чем, в частности, объясняются столь типичные симптомы удушья у человека. Характерная особенность яда – его действие на капиллярную проницаемость. При введении лабораторным животным он вызывает дерматонекроз, отек легких, геморрагии в грудной полости. Сердечно-сосудистая система также страдает при действии яда. Наблюдается падение АД, периферическая вазодилатация, а на поздних стадиях отравления – снижение сократительной способности сердечной мышцы.

Таким образом, яд бородавчаток действует на сердечно-сосудистую и нервно-мышечную системы, вызывает увеличение сосудистой проницаемости и развитие отеков, а также обладает гемолитическим действием и гиалуронидазной активностью.

Рассмотрим подробней токсикологические характеристики яда различных видов бородавчаток.

***Synanceia trachynis***<sup>135</sup>. Яд содержит следующие биологически активные факторы: гиалуронидазу, компонент увеличивающий сосудистую проницаемость, токсический или летальный фактор (возможно вызывающий сердечно-сосудистые расстройства) и болевой фактор. Фармакологический анализ показал, что яд вызывает высвобождение ацетилхолина, субстанции Р и стимулирует образование циклооксигеназы. Возможно в яде содержатся субстанции, действующие на рецепторы этих соединений. Кроме того, есть основания предполагать, что яд оказывает прямое действие на  $\alpha_2$ -адренорецепторы.

Экспериментальное изучение показало, что внутривенное введение яда собакам вызвало прогрессивное снижение артериального давления, которому при введении малых доз могла предшествовать кратковременная гипертензия. Острая

---

<sup>134</sup> У аборигенов Австралии существует ритуал древнего танца, входящего в систему воспитания мужчины – будущего охотника и рыбака, в ходе которого танцор якобы неожиданно наступает на глиняную модель рыбы, из спины которой торчат 13 острых деревянных шипов. Танцор корчится от невыносимой боли и умирает в мучениях, причиненных бородавчаткой.

<sup>135</sup> Некоторые авторы считают *Synanceia trachynis* и *Synanceia horrida* синонимами.

токсичность ( $DL_{50}$  в мг яда на мышь массой 16 г) яда *Synanceia trachynis* при различных способах введения составила: внутривенно 0.005–0.01, подкожно 0.04–0.06, внутрибрюшинно 0.02–0.03, внутричерепально 0.004.

В яде содержится цитолитический агент, обладающий гемолитической активностью. По убыванию чувствительности к этому цитолитику эритроциты животных можно расположить следующим образом:

кролик > собака > крыса > свинья > морская свинка.

Относительно устойчивыми к гемолитическому действию цитолитика были эритроциты овцы, коровы, человека, обезьяны, мыши, кошки. В экспериментах на подушечках лапы мыши яд вызвал заметное увеличение сосудистой проницаемости.

В последнее время из яда *Synanceia trachynis* выделен белковый токсин *трахинилизин* ( $M_r$  158 кДа), вызывающий массивное высвобождение ацетилхолина из двигательных нервных терминалей изолированных нервно-мышечных препаратов и увеличивающий высвобождение  $Ca^{2+}$  и катехоламинов из хромаффинных клеток. Кроме того, с трахинилизином связаны токсичность и гемолитическое действие яда, а также увеличение сосудистой проницаемости. Трахинилизин способен образовывать поры в бислойных мембранах.

*Synanceia horrida*. Для целого яда *Synanceia horrida* характерна гиалуронидазная активность. Очищенная гиалуронидаза не обладает летальной и геморрагической активностью, является фактором, обеспечивающим распространение по организму активных компонентов яда. Гиалуронидаза состоит из 477 аминокислотных остатков, N-терминальная последовательность аминокислотных остатков очищенной гиалуронидазы имеет вид

APSXDEGNKKADNLLVKKIN- .

Кроме гиалуронидазы, в яде *Synanceia horrida* обнаружены щелочная фосфатаза, ацетилхолинэстераза, фосфодиэстераза, гидролазы, амидазы. Как и большинства ядов бородавчаток, яд *Synanceia horrida* обладает гемолитической активностью и способен вызвать экспериментальные отеки. Системное введение яда вызывает гипотензию и брадикардию. Возможно, что сердечно-сосудистые эффекты яда реализуются через адренорецепторы и M-холинорецепторы. Яд способен вызывать частичный или полный паралич конечностей, а также остановку дыхания. Есть данные, что яд влияет на процессы синтеза и высвобождения нейротрансмиттеров из депо хранения, в частности из пресинаптических нервных окончаний и синапсом мозга.

Из яда *Synanceia horrida* выделен токсический фактор, названный *стонутоксином* (stonustoxin, SNTX – National University of Singapore), имеющий  $M_r$  150 кДа. Электрофорезом на SDS-полиакриламидном геле показано, что SNTX состоит из двух субъединиц:  $\alpha$  ( $M_r$  71 кДа) и  $\beta$  ( $M_r$  79 кДа). Токсичность ( $DL_{50}$ ) SNTX для мышей при внутривенном введении составила 0.017 мкг/г, что в 22 раза токсичнее экстракта целого яда (0.374 мкг/г, или 374 мкг/кг) По другим данным, для целого яда *Synanceia horrida* получено значение токсичности для мышей при внутривенном введении, равное 180 мкг/кг.

Аминокислотная последовательность N-конца  $\beta$ -субъединицы (первые 39 аминокислотных остатка) выглядит следующим образом:

PSDILVVAALGXPF<sup>T</sup>LGM<sup>L</sup>YDAXNDK<sup>L</sup>IPGF<sup>T</sup>TLV (E) DXVI- .

Стонустоксин обладает широким спектром биологической активности: вызывает гемолиз, увеличение сосудистой проницаемости, агрегацию тромбоцитов, развитие отеков, эндотелий-зависимую вазорелаксацию и приводит к летальному исходу. В то же время стонустоксин лишен фосфолипазной  $A_2$ , гиалуронидазной и протеиназной активности. Нейротоксическое действие стонустоксина проявляется в блокировании нервно-мышечной передачи. Кроме того, стонустоксин способен образовывать поры в мембране эритроцитов диаметром 3.2 нм.

***Synanceia verrucosa***. Целый яд *Synanceia verrucosa* обладает ферментативной активностью (гиалуронидаза, восемь эстераз и десять аминопептидаз). Токсичность целого яда ( $DL_{50}$ ) для мышей при внутривенном введении составила 200 мкг/кг.

На изолированных предсердиях сердца лягушки яд *Synanceia verrucosa* (в концентрациях менее чем 2.9 мкг/мл) вызывал дозозависимый положительный инотропный эффект, удлинял постоянную времени фазы релаксации и укорачивал длительность потенциала действия. При увеличении концентрации до 5,7 мкг/мл яд вызывал контрактуру. Пропранолол ( $\beta$ -адреноблокатор) блокировал положительный инотропный эффект яда (2.9 мкг/мл), тогда как  $\alpha$ -адренергические антагонисты урапидил и йохимбин были не эффективны. Показано, что яд, адреналин и пропранолол конкурируют за общие места связывания. Полагают, что яд активирует преимущественно  $\beta$ -адренорецепторы.

Из яда выделен *веррукотоксин*, представляющий собой гликопротеид с  $M_r$  322 кДа, состоящий из четырех субъединиц:  $2\alpha$  (83 кДа) и  $2\beta$  (78 кДа). Веррукотоксин так же, как и целый яд, является токсичным для мышей, вызывает гемолиз эритроцитов кролика (рис. 14.12) и падение артериального давления у наркотизированных крыс. В дозе 40 нг белка/г веррукотоксин вызывал смерть мышей в течение 6 часов.

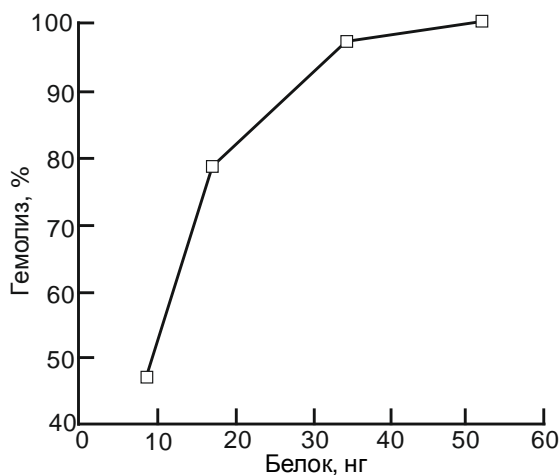


Рис. 14.12. Гемолитическая активность веррукотоксина (Garnier et al., 1995)

Кроме того, из яда *Synanceia verrucosa* выделен белковой токсин, обладающий гемолитической и летальной активностью, названный *неоверрукотоксин* (neoVTX). Неоверрукотоксин является димером с  $M_r$  166 кДа, состоящим из

$\alpha$ -субъединицы (702 аминокислотных остатка) и  $\beta$ -субъединицы (699 аминокислотных остатков). Его гемолитическая активность эффективно блокировалась кардиолипином.<sup>136</sup> По своим свойствам неоверрукотоксин сопоставим со стонустоксином из яда *Synanceia horrida* – также имеющим димерную структуру. Имеется также высокая степень гомологии  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц неоVTX и SNTX на 87% и 95% соответственно. Различия между этими двумя токсинами в основном заключаются в количестве остатков цистеина (18 остатков в молекуле неоVTX и 15 в молекуле SNTX). Кроме того, эти токсины различаются по числу свободных тиоловых групп – 10 у неоVTX против 5 у SNTX.

Из яда *Synanceia verrucosa* также выделен новый кардиоактивный токсин – кардиолепутин<sup>137</sup>, имеющий м.м. 46 кДа. Молекула кардиолепутина богата остатками серина и глицина. Кардиолепутин вызывает необратимое инотропное и хронотропное стимулирующее действие на предсердия морской свинки. Действие кардиолепутина на предсердия полностью отличаются от эффектов лизолецитина и возможно связано с влиянием на  $Ca^{2+}$ -каналы предсердия.

#### 14.2.3.2. Род Скорпены (*Scorpaena*)

Скорпены (*Scorpaena*) – род морских лучепёрых рыб семейства Скорпеновые отряда Скорпенообразные. Общая длина тела от 4–5 см (*S. annobonae*, *S. ascensionis*) до 50 см (*S. elongata*, *S. scrofa*). Распространены в Тихом и Атлантическом океанах и морях их бассейнов.

**Клиника отравления.** Довольно подробно изучены яды *Scorpaena guttata*, *Scorpaena plumieri*, *Scorpaena guttata*. На первый план выступают мучительные боли в месте укола, развитие отеков (рис. 14.13). Характерны также системные сердечно-сосудистые и неврологические симптомы. Иногда отмечаются парезы мышц конечностей. Часто поражения скорпеновыми рыбами осложняются попаданием в рану вторичной инфекции. Так, в литературе описан случай инфекционного перикардита, вызванного уколом *S. guttata*.

**Химический состав и механизм действия яда.** Экспериментальное изучение яда *Scorpaena plumieri* показало, что в дозах 7.5–100 мкг/животное яд вызывает у мышей доза-зависимое развитие отека и болевую реакцию. У крыс яд в дозе 300 мкг/кг при внутривенном введении вызывал увеличение АД и снижение частоты сердечных сокращений. Предварительная инкубация яда с сывороткой против яда *Synanceia trachynis* (SFAV) устраняла воспалительную реакцию и заметно снижала влияние на сердечно-сосудистую систему. Эти данные свидетельствуют, что компоненты ядов *Synanceia* и *Scorpaena* обладают общими биохимическими и антигенными свойствами.

---

<sup>136</sup> Кардиолипин – фосфолипид – является важным компонентом внутренней мембраны митохондрий, липидный состав которой включает около 20% кардиолипина. Кардиолипин во внутренней мембране митохондрий клеток млекопитающих и растительных клеток необходим для функционирования многочисленных ферментов, участвующих в энергетическом обмене. Кардиолипин также встречается в мембранах бактерий. Происхождение названия «кардиолипин» связано с открытием этого соединения: впервые оно было выделено из мышечной ткани сердца быка в начале 1940-х годов.

<sup>137</sup> В Индонезии бородавчатку называют «Leru».





Рис. 14.13. Отеки, вызванные укусом скорпены (Wikipedia Commons)

Из яда *Scorpaena plumieri* выделен вазоактивный цитолитический токсин (Sp-CTx), который является гликопротеидом и представлен в димерной форме с  $M_r$  субъединиц 65 кДа, или 121 кДа для димерной формы. Токсин обладает сильным гемолитическим действием на отмывые эритроциты кролика ( $EC_{50}$  0.46 нМ). Полагают, что гемолитическая активность может быть обусловлена порообразующим действием Sp-CTx, так как токсин лишен фосфолипазной  $A_2$  активности. Гемолитический эффект предупреждался предварительной инкубацией с сывороткой против яда бородавчатки *Synanceia trachynis* (SFAV). Подобно целому яду в концентрации 100 мкг/мл, Sp-CTx (1–50 нМ) вызвал двухфазный ответ на полосках аорты крысы, предварительно обработанных альфа-адреномиметиком фенилэфрином.

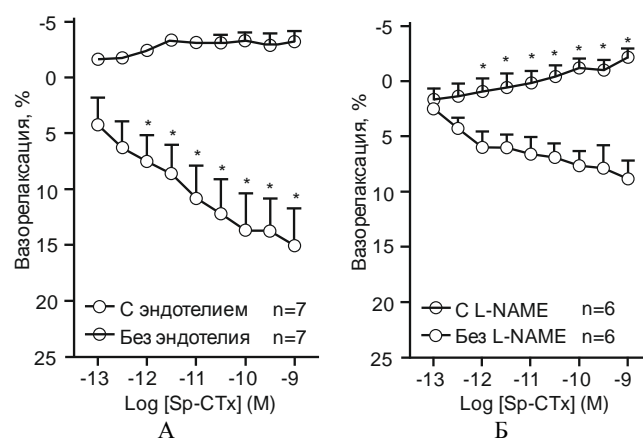


Рис. 14.14. Зависимость вазорелаксации аорты крысы, вызванной цитолитическим токсином (Sp-CTx) *Scorpaena plumieri*, от наличия интактного эндотелия (А) и присутствия ингибитора синтеза оксида азота L-NAME (Б) (Andrich et al., 2010)

Ответная реакция характеризовалась доза-зависимой релаксацией, следующей за контрактильной фазой. Вазорелаксация устранялась при наличии интактного сосудистого эндотелия либо L-NAME, что свидетельствует о вовлечении оксида азота в сосудистую реакцию (рис. 14.14).

Местная воспалительная реакция и отек, сопровождающие поражение *Scorpaena plumieri*, обусловлены высвобождением провоспалительных медиаторов: фактора некроза опухолей (TNF), интерлейкина (IL-6) и др. Кроме того, в формировании отека, вызванного ядом скорпены, играет важную роль калликреин-кининовая система.

#### 14.2.3.3. Род Крылатки (*Pterois*)

Крылатки (*Pterois*) – род костных рыб семейства Скорпеновые. Общая длина тела от 20 см (*P. andover*, *P. antennata*) до 38 см (крылатка-зебра, *Pterois volitans*). Крылатки распространены в Индо-Тихоокеанской области. Крылатки – хищники, они могут спокойно проглатывать рыб длиной до двух третей собственной. Масса крылатки достигает 1 кг. Окраска тела красная с многочисленными светлыми полосками; грудные плавники большие (отсюда название), хотя летать крылатка не может. Однако следует иметь в виду, что это отпугивающая окраска. В этих роскошных веероподобных плавниках таятся острые ядовитые иглы, которыми крылатки атакуют своих жертв.

Характерный представитель – крылатка, или рыба-зебра (*P. volitans*), очень красива, грациозна и ярко окрашена. В случае опасности крылатка предпринимает активные попытки поразить противника своими колючками. Укол колючками этой красивой рыбы (ее размер до 30 см) вызывает ощущение, как будто в руку вогнали раскаленный гвоздь. На месте поражения развиваются гиперемия и отек. По мере дренирования яда лимфатической системой развивается лимфоденит и лимфангоит. Самочувствие больного резко ухудшается уже в течение первых 10–15 мин после поражения. К жгучей боли присоединяются и общие симптомы отравления: падение АД, параличи скелетной и дыхательной мускулатуры и как следствие – дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность, возможны смертельные исходы. В случае выздоровления длительное время беспокойство причиняет некротический очаг в месте инокуляции яда.

**Химический состав и механизм действия яда.** Ядовитые колючки крылатки содержат небелковый ихтиотоксин, который может быть получен только из живых рыб. Иглы крылатки содержат также ацетилхолин. Яд крылатки подобно ядам *Gymnapistes marmoratus* и *Synanceia trachynis* вызывает увеличение нервно-мышечной активности. Яды всех трех вышеперечисленных видов рыб в 2–3 раза увеличивают содержание внутриклеточного кальция. Блокаторы кальциевых каналов, такие как нифедипин, потенцировали увеличение содержания внутриклеточного кальция, вызванное ядами крылатки и синанцеи, но ослабляли эффекты *Gymnapistes marmoratus*. Яд крылатки в концентрациях белка 0.6–18 мкг/мл вызывал доза- и эндотелий-зависимую релаксацию изолированного препарата коронарной артерии свиньи, которая усиливалась атропином (10 нМ), но достоверно ослаблялась ингибитором синтеза оксида азота NOLA (0.1 мМ), а также предварительной инкубацией с сывороткой против яда *Synanceia trachynis* (SFAV). При концентрации белка 10 мкг/мл яд крылатки вызывал начальное уменьшение силы сокращений изолированного левого предсердия крысы с последующей фазой увеличения (рис. 14.15). Атропин (5 мкМ) устранял фазу ослабления сердечных сокращений, но потенцировал фазу последующего увеличения.

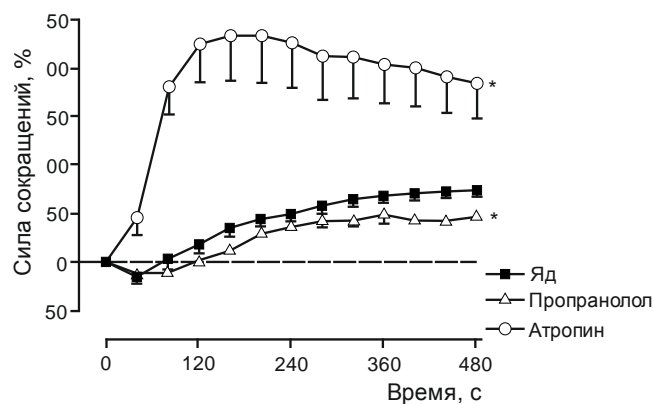


Рис. 14.15. Влияние яда крылатки *Pterois volitans*, пропранолола и атропина на силу сокращений изолированного левого предсердия крысы (Church, Hodgson, 2002)

Пропранолол (5 мкМ) не оказывал влияния на фазу уменьшения силы сокращений, но ослаблял фазу усиления. У наркотизированных крыс яд (100 мкг белка/кг), введенный внутривенно, вызвал повышение артериального давления с последующей фазой гипотензии. Атропин (1 мг/кг, внутривенно) потенцировал прессорные эффекты яда. Предварительное введение сыворотки SFAV достоверно ослабляло эффекты яда. Фармакологический анализ с использованием атропина и пропранолола указывает, что сердечно-сосудистые эффекты яда крылатки могут опосредоваться с участием М-холинергических и адренергических рецепторов. Терапевтический эффект сыворотки SFAV свидетельствует, что яды *Synanceia trachynis* и *Pterois volitans* имеют биохимически и антигенно подобные компоненты.

#### 14.2.3.4. Род Нотестес (*Nothestes*)

Эвригалинный обитатель австралийских вод – большеротый нотест (*Nothestes robusta*). Молодь этой рыбы обычно поселяется в пресной воде и мигрирует в мангровую зону лишь по мере взросления. К числу прочих жизненных потребностей нотестов следует отнести жесткую, щелочную, умеренно теплую (18–24°C) воду и рассеянное освещение. Кофейно-бурая окраска красиво сочетается с серебряными разводами по телу и плавникам. Рот «вооружен» множеством острых зубов. Чешуя ктеноидная, плотно сидящая. Очень выразительны крупные подвижные глаза. Жаберные крышки покрыты кожными наростами. Непарные плавники снабжены острыми колючками, и при неосторожном обращении с нотестами можно получить весьма болезненные уколы, которые купируются инъекцией 2%-ного лигнокаина. В комфортных условиях молодь созревает в три-четыре года. Самцы мельче, стройнее и ярче самок. В брачную пору рыбы темнеют и даже приобретают красноватый оттенок. Нерест сезонный. Икра пелагическая, в слизистой оболочке. Предельная плодовитость – 30 тысяч икринок. Через несколько суток выклеваются беспомощные личинки. Первые дни они парят в толще воды, питаясь мельчайшим планктоном. При длине 1.5–2 см мальки переходят к донному образу жизни.

*Nothestes robusta* – австралийская скорпена, или большеротый нотест – один из представителей сем. Scorpaenidae, обитает в эстуариях и прибрежных водах Северного Квинсленда и Нового Южного Уэльса. Укол шипами вызывает немедленную и сильную боль, которая может быть уменьшена применением тепла и/или введением местных анестетиков и применением анальгетиков. В яде содержится одиночный мономерный растворимый белок *ноцитоксин* с  $M_r$  169.8–174.5 кДа, который вызывает боль у человека. Аллогенный эффект ноцитоксина тестировался в эксперименте на 60 волонтерах. Ноцитоксин обладает умеренной гемолитической активностью, всего на 1% меньшей гемолитической активности целого яда. Целый яд обладает умеренной протеолитической активностью, которой лишен ноцитоксин. Ноцитоксин и целый яд не проявляют гиалуронидазную и фосфолипазную  $A_2$  активность, а также не обладают токсичностью по отношению к креветкам.

#### 14.2.4. Отряд Батрахообразные (Batrachoidiformes)

Батраховые, или рыбы-жабы (Batrachoididae) – единственное семейство в отряде Батрахообразные, или Жабообразные (Batrachoidiformes). Объединяет около 82 видов рыб в 23 родах и четырёх подсемействах. Главным образом морские, малоподвижные, типично донные или придонные прибрежные хищные рыбы, которые, как правило, достигают небольшого и среднего размера: 20–35 см, а самые крупные виды – не более 57 см в длину.

Батраховые обитают в Тихом, Индийском и Атлантическом океанах. Населяют умеренные и тропические зоны морей от мелководного побережья до глубины нескольких сотен метров. Изредка могут заходить в солоноватые воды эстуариев и в устья рек, несколько видов являются пресноводными. Обитают среди камней и в зарослях водорослей. Обычно имеют тусклую окраску. Некоторые виды издаются звуки с помощью плавательного пузыря и могут жить вне воды несколько часов. Звуки, издаваемые этими рыбами, могут иметь самое разнообразное звучание, а также силу, порой превышающую 100 децибел. Среди подобных звуков, которые могут быть хорошо слышны человеческим ухом в тихую ночь с берега, различают протяжные и короткие низкие гудки, быстро повторяющийся стук, трещание, жужжание, ворчание и «горловое» рычание. У некоторых рыб на теле имеются многочисленные (более нескольких сотен) светящиеся органы – фотофоры. Среди рыб-жаб встречаются ядоносные виды, у которых ядовитые железы расположены в основаниях полых колючих лучей первого спинного плавника и шипа жаберной крышки. Укол такими колючками и шипами вызывает у человека очень болезненные проявления, но сила яда недостаточна для летального исхода. Тело с крупной широкой головой и сжатым с боков хвостом. Глаза расположены скорее наверху головы, чем по её бокам. Туловище, как правило, голое, лишь у некоторых видов оно покрыто мелкой циклоидной чешуёй. Рот большой, обрамлённый предчелюстной и верхнечелюстной костями. На челюстях имеются многочисленные острые зубы. Два спинных плавника: первый короткий, состоит из 2–4 толстых колючек, второй плавник длинный. Грудные плавники широкие, веерообразные; в пазухе грудного плавника у некоторых видов имеется своеобразная пора (отверстие) (рис. 14.16). Брюшные плавники расположены впереди грудных плавников, на горле и содержат одну колючку и два или три мягких луча. Рассмотрим подробнее строение ядовитого аппарата. Он состоит из двух

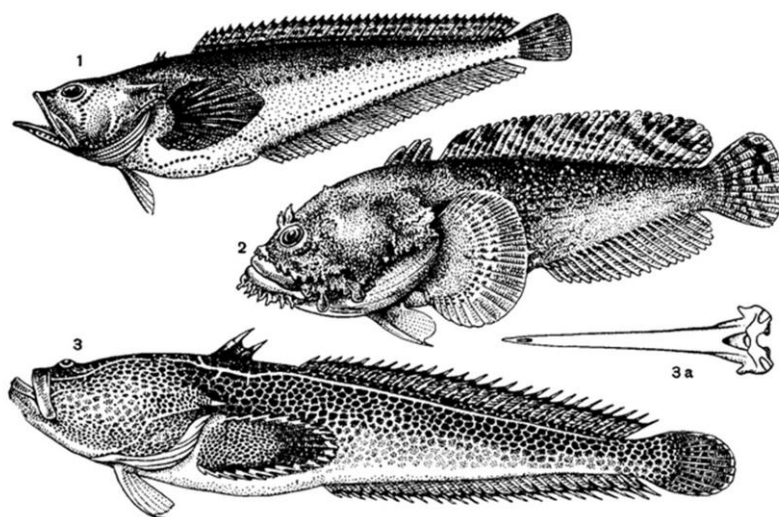


Рис. 14.16. Батрахообразные: 1 – рыба-мичман *Porichthys porosissimis*; 2 – рыба-жаба *Opsanus tau*; 3 – талассофрина *Thalassophryne reticulata*, 3а – ее спинная колючка (Wikipedia Commons)

спинных шипов, двух шипов жаберных крышек и связанных с ними ядовитых желез. Спинные шипы тонкие и полые, слегка изогнутые, концы их острые как иголки. У основания и вершины шипа имеются отверстия, через которые проходит яд. Основание каждого спинного шипа окружено железистой массой, в которой вырабатывается яд. Каждая железа изливает яд в основание своего шипа. Жаберная крышка тоже высокоспециализирована как защитный ядовитый орган. Горизонтальный отросток жаберной крышки – это тонкая полая кость, слегка согнутая и заканчивающаяся острием. У обоих концов этого шипа имеются отверстия, через которые проходит яд. За исключением внешнего конца весь шип жаберной крышки заключен в блестящую беловатую грушевидную тканевую массу. Широкая округлая часть этой массы расположена у основания шипа и резко сужается к его концу. Это ядовитая железа. Она выделяет яд в основание полого шипа, который служит протоком.

**Клиника отравления.** Рыбы *Thalassophryne nattereri* и *Thalassophryne maculosa* имеют эпидемиологическое значение в прибрежных водах Колумбии и Венесуэлы, включая острова Аруба, Тринидад и Тобаго. Представители другого рода *Porichthys* широко распространены в Тихом и Атлантическом океанах. Боль от укула рыбы-жабы возникает быстро, она сильна и распространяется от пораженного места. Некоторые считают, что она напоминает боль, причиняемую жалом скорпиона. Потом появляется опухоль, покраснение и жар (рис. 14.17). В литературе не отмечено смертных случаев. Поражаются обычно купающиеся, рыбаки и коллекционеры. Люди, бродящие по воде там, где живут рыбы-жабы, должны волочить ноги по дну, чтобы не наступить на эту рыбу. Снимать рыбу-жабу с крючка или вынимать ее из сети надо осторожно.



Рис. 14.17. Поражения пальца руки ядом *Porichthys porosissimus* (Wikipedia Commons)

#### Химический состав и механизм действия яда.

Яд *T. maculosa* лишен активности фосфолипазы  $A_2$ , но обладает протеолитическим и миотоксическим действием. При внутрибрюшинном введении мышам  $DL_{50}$  составила 4.93 мг/кг, что ниже, чем у других рыб, например бородавчаток. Яд обладает местным воспалительным и отечным действием. В дозах 10-100 мкг яд вызывал некроз подушечек лап мышей. Нагревание до  $56^{\circ}C$  в течение 30 мин уменьшало ноцицептивную и отечную активность яда на 85% и 80% соответственно, однако некротизирующее действие снижалось только на 36.8%. Биологическая активность яда сосредоточена в белковых фракциях, имеющих молекулярную массу от 18.4 до 97 кДа. Из яда *T. maculosa* очищен белковый миотоксин, способный деполяризовать мышечные волокна и вызывающий мионекроз в течение 24 часов после введения, но не действующий на гигантский аксон кальмара.

Внутрикожное введение яда *T. nattereri* в подушечку лапы мышей вызвало отек и геморрагии, сменяющиеся через несколько часов некрозом. Подкожное введение вызвало системные нарушения, выражающиеся в клонических подергиваниях, эрекции волосяного покрова, параличе задних конечностей, вращательных движениях, судорогах и смерти. На вскрытии обнаруживались гиперемия тонкой кишки и легких. Яд обладал выраженной отечной, некротической, гемолитической активностью. Геморрагическая, миотоксическая и протеолитическая активность были выражены слабо, фосфолипазная  $A_2$  активность не обнаруживалась. Нагревание до  $56^{\circ}C$  в течение 60 мин и преинкубация с сывороткой против яда *T. nattereri* полностью устраняли токсические эффекты яда.

Из яда *T. nattereri* выделено новое семейство белков с кининогеназной активностью и уникальной первичной структурой. Активное начало, названное *наттерин*, способно вызывать отек, болевые эффекты. Наттерин расщепляет кининоген, вызывая образование каллидина<sup>138</sup>. Энзиматическое расщепление тормозилось ингибитором калликреина тразилолом. В яде *T. nattereri* также обнаружен галактозо-специфический лектин, относящийся к семейству С-типа, названный *наттектин*. Наттектин обладает  $Ca^{2+}$ -независимой гемагглютинирующей активностью и вызывает устойчивую мобилизацию (выход в кровь) нейтрофилов мыши. Кроме того, наттектин является сильным провоспалительным агентом, однако целый яд не воспроизводит эффекты наттектина.

Из яда *T. nattereri* выделено новое семейство белков с кининогеназной активностью и уникальной первичной структурой. Активное начало, названное *наттерин*, способно вызывать отек, болевые эффекты. Наттерин расщепляет кининоген, вызывая образование каллидина<sup>138</sup>. Энзиматическое расщепление тормозилось ингибитором калликреина тразилолом. В яде *T. nattereri* также обнаружен галактозо-специфический лектин, относящийся к семейству С-типа, названный *наттектин*. Наттектин обладает  $Ca^{2+}$ -независимой гемагглютинирующей активностью и вызывает устойчивую мобилизацию (выход в кровь) нейтрофилов мыши. Кроме того, наттектин является сильным провоспалительным агентом, однако целый яд не воспроизводит эффекты наттектина.

<sup>138</sup> Каллидин (син. *лизин-брадикинин*) – полипептид (состоит из десяти остатков аминокислот), кинин, образующийся в ответ на повреждение из кининогена под действием калликреина. От брадикинина каллидин отличается наличием дополнительной аминокислоты на N-конце молекулы (лизин). Аминопептидаза катализирует распад каллидина до брадикинина. Кинины каллидин и брадикинин вызывают вазодилатацию и сокращение гладких мышц, являются компонентами кинин-калликреиновой системы.

Экстракт ядовитых шипов *Porichthys porosissimus*, обитающего в юго-западной части Атлантического океана, вызывает местную боль, воспалительную реакцию и отек у мышей. Эти реакции подобны вызываемым ядами других рыб-жаб *T. nattereri* и *T. Maculosa*, а также пресноводных скатов *Potamotrygon cf. scobina*, *P. gr. orbignyi*, *P. cf. henle*.

#### 14.2.5. Отряд Сомообразные (Siluriformes)

Сомообразные (Siluriformes) – отряд Лучепёрые рыбы, включающий сомов и сходных с ними представителей. Более 3000 видов в 36 современных семействах. В пресных водах России обитают 10 видов сомообразных. Рассмотрим представителей некоторых семейств, наиболее изученных в токсикологическом плане.

Ариеиые (Ariidae) – семейство рыб из отряда Сомообразных. Обитают преимущественно в прибрежных (до глубины 100 м) тропических, субтропических и умеренных водах Мирового океана. Многие виды заходят в опреснённые эстуарии и устья рек, а некоторые виды обитают исключительно в пресной воде. Ведут одиночный или стайный образ жизни. Самцы вынашивают икру во рту. Хвостовой плавник сильно вильчатый, имеется жировой плавник, в анальном плавнике 14–40 мягких лучей. Первые лучи спинного и грудных плавников представляют собой колючку, часто ядовитую.

Угрехвостые сомы (Potosidae) – небольшое семейство сомов с 9 родами и 40 видами. Распространены в западной Индо-Пацифике, от Японии до Австралии и Фиджи. Большая часть видов населяет пресные воды, но встречаются и исключительно морские угрехвостые сомы. Они ведут донный образ жизни, ощупывая грунт своими усиками в поисках добычи. Питаются беспозвоночными и рыбой. Вытянутое угребразное, довольно массивное тело с заострённым или закруглённым хвостом. Спинной плавник очень узкий, расположен в передней части тела. Хвостовой и анальный плавники сливаются и заходят на спинную сторону, образуя широкую оторочку, окружающую всю заднюю часть туловища. Вокруг рта расположены 4 пары усиков. Длина от 10 сантиметров до 1.5 метров. Окраска обычно коричневая или бурая, брюхо часто светлее (рис. 14.18). Молодь обычно окрашена ярче и контрастнее. Там, где угрехвостые сомы встречаются в достаточном количестве, их промысляют. При поимке следует опасаться укулов зазубренных колючек спинного и грудных плавников, так как они снабжены ядови-



Рис. 14.18. Угрехвостый сом *Plotosus lineatus* (Wikipedia Commons)



Рис. 14.19. Морской сом *Arius maculatus* (Wikipedia Commons)

тыми железами. Яд из желез вытекает, когда сом топорщит плавники. Подобное устройство имеется и у ряда других семейств сомовидных. Укол шипом угревидного сома вызывает сильную боль и продолжительное воспаление.

***Arius maculatus*.** Морской сом *Arius maculatus* (рис. 14.19) имеет экономическое значение на западном побережье Индии, но может вызвать и серьезное отравление. Яд *Arius maculatus* вызывает сильную боль, гиперемии, отек, развитие некроза. Опасность представляет и вторичная инфекция раны. Экспериментальное изучение яда показало, что основные токсические компоненты имеют белковую природу и располагаются в диапазоне 93–18 кДа. Яд обладает желатинолитической активностью и способен гемолизировать эритроциты цыпленка (наиболее чувствительные), а также овцы и человека. Таким образом, гемолитическая и протеолитическая активности яда могут лежать в основе патогенеза вызываемого им отравления.

Яд проявляет умеренную токсичность в отношении науплий *Artemis salina*, вызывая их гибель при концентрации ( $EC_{50}$ ) 244 мкг/мл.

***Plotosus lineatus*.** Угрехвостый сом *Plotosus lineatus* представляет серьезную эпидемиологическую проблему в эстуариях Западной Индии. У экспериментальных животных яд угрехвостого сома вызывает гипертензию и дыхательную недостаточность, нервно-мышечную блокаду и остановку сердца. Из яда выделен токсин-РС, имеющий  $M_r$  15 кДа. При внутрибрюшинном введении мышам  $DL_{50}$  целого яда составила 3.9 мг/кг, тогда как токсин-РС был токсичнее, его  $DL_{50}$  равна 0.225 мг/кг. Целый яд, так же как и токсин-РС, необратимо тормозит передачу возбуждения в изолированных нервно-мышечных препаратах. Токсин-РС вызывает остановку изолированного сердца морской свинки. Предварительное введение атропина и пропранолола не устраняло кардиотоксический эффект токсина-РС, что указывает на отсутствие влияния на холинергические и  $\beta$ -адренергические рецепторы. Время развития нервно-мышечного блока уменьшалось при увеличении концентрации калия в омывающем растворе. Токсин-РС способен вызвать устойчивое сокращение изолированных мышечных препаратов, но не влияет на сократительные ответы, вызванные применением экзогенных карбахола или ацетилхолина, что указывает на пресинаптический характер действия токсина-РС, препятствующего высвобождению нейротрансмиттеров.



## ПАССИВНО-ЯДОВИТЫЕ РЫБЫ. КРУГЛОРОТЫЕ (Cyclostomata)

Как злобен в бурю океан!  
Но рыбы в глубине  
Живут в недвижных водах  
Как во сне.

*Уолтер Де Ла Мэр*



Подавляющее большинство видов рыб Мирового океана, вызывающих отравление человека, относится к пассивно-ядовитым. Степень их изученности значительно колеблется и определяется, в первую очередь, пищевой ценностью. С другой стороны, рыбы, не являющиеся предметом интенсивного промысла, но отличающиеся очень высокой токсичностью, также издавна привлекали внимание исследователей (рис. 15.1).

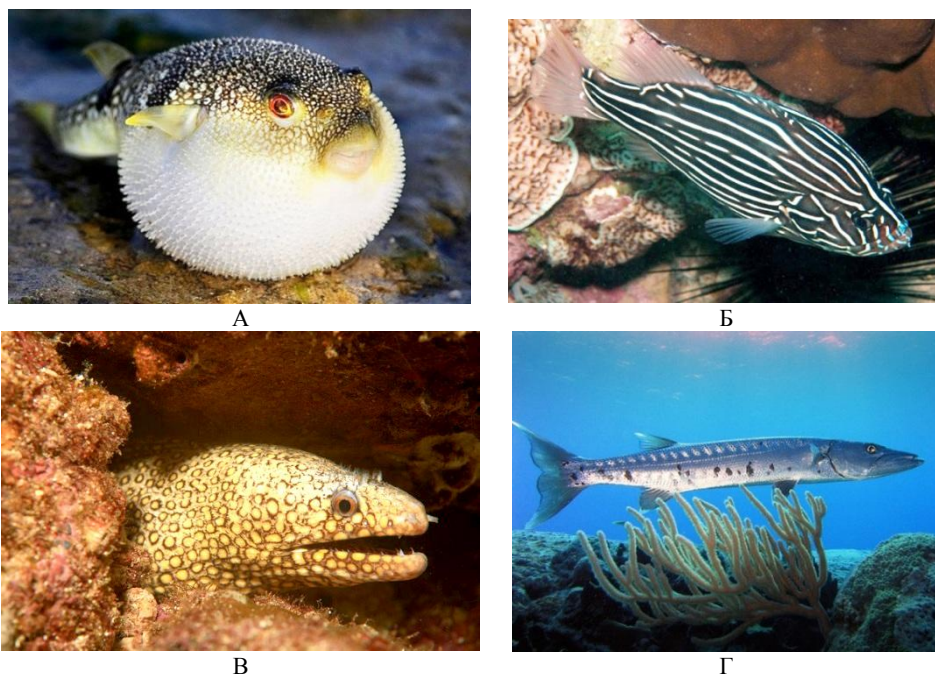


Рис. 15.1. Пассивно-ядовитые рыбы: А – фугу *Fugu vermiculare*; Б – граммист *Grammistes sexlineatus*; В – мурена *Muraena helena*; Г – барракуда *Sphyraena picuda* (Wikipedia Commons)

### 15.1. ЯД ПАССИВНО-ЯДОВИТЫХ РЫБ

Пассивно-ядовитые рыбы, имеющие ядовитые внутренние органы, мышцы и кожу, весьма разнообразны. Здесь, прежде всего, необходимо заметить, что наряду с безусловно ядовитыми видами имеется много представителей, которые вызывают спорадические отравления (в ряде случаев массовые) либо в отдельные сезоны или даже годы, либо только в некоторых районах своего распространения. Среди безусловно ядовитых известны виды из различных отрядов и семейств: мурены (Muraenidae); кузовковые (Ostraciontidae); иглобрюхие (Tetraodontidae), например фугу, яд которой хорошо изучен; карповые (Cyprinidae), например встречающаяся в Средней Азии маринка *Schizothorax argentatus*, имеющая ядовитую икру и брюшину, и др. Среди спорадически ядовитых рыб можно назвать такие виды, как барракуда *Sphyraena barracuda*; матяхари *Lethrinus miniatus*; богар *Lutianus bohar*; полосатый тунец, или скипджек *Katsuwonus pelamis*; японский анчоус *Engraulis japonicus*; красный морской карась

*Pagellus erythrinus*; длинноусая султанка *Parupeneus chryserydros*; сельдь-тупорылка *Clupanodon thrissa* и многие другие.

В этой главе будут рассмотрены наиболее изученные представители пассивно-ядовитых рыб, вырабатываемые ими токсины и механизмы их действия.

### 15.1.1. Тетродотоксин

Исторически обнаружение тетродотоксина – одного из наиболее сильных селективно действующих природных нейротоксинов – связано с рыбами сем. Иглобрюхие.

Иглобрюхие – иглобрюховые, скалзубовые, рыбы-собаки, четырёхзубые (*Tetraodontidae*) – семейство рыб отряда Иглобрюхообразные, насчитывающее 26 родов и 188 видов в двух подсемействах. Иглобрюхие распространены в субтропических и тропических морях. Тело иглобрюхих рыб коротковатое и округлое. Кожа либо голая, либо снабжена шипиками, которые в состоянии покоя прилегают к телу. Брюшных плавников нет, грудные хорошо развиты и позволяют двигаться как вперёд, так и назад. Голова у рыб большая и толстая, рот маленький. Сросшиеся челюсти образуют пластинки, похожие на 4 зуба (отсюда название «четырёхзубые»). От желудка иглобрюхих рыб отходят мешковидные выросты. При появлении опасности они наполняются водой или воздухом, из-за чего рыба становится похожей на раздувшийся шар с торчащими шипиками. Рыба может раздуваться, заглатывая воду, в случае атаки на неё. Шарообразное состояние делает рыб практически неуязвимыми. Если всё же достаточно крупный хищник попытается проглотить такой шар, то он застревает в глотке у хищника, который впоследствии умирает. Сами рыбы плотоядны либо всеядны. Некоторые из них обитают в пресных водах. Прежде всего это представители рода иглобрюхи (*Tetraodon*): фахак (*T. fahaka*) – обитают в Ниле, Нигере, озере Чад; мбу (*T. mbu*) – в нижнем и среднем течении реки Конго; ещё семь видов пресноводных иглобрюхов обитает в водах Вост-Индии и северо-восточной части Южной Америки, включая Амазонку. Многие пресноводные иглобрюхие стали излюбленным объектом аквариумистов. *Arothron stellatus*, обитающий в Индийском и Тихом океанах, считается наиболее крупной рыбой среди представителей семейства – его особи могут достигать 1.2 м в длину. Наиболее богаты видами следующие роды семейства: иглобрюхи (*Tetraodon*), рыбы-собаки, или скалзубы (*Sphaeroides*, *Fugu*), зайцеголовые иглобрюхи (*Lagocephalus*).

**Историческая справка.** Сведения о ядовитости иглобрюхов восходят к глубокой древности (~2500 лет до н.э.). Среди европейцев одно из первых описаний дал известный мореплаватель Кук, который вместе со своими 16 товарищами отравился иглобрюхом во время второго кругосветного путешествия в 1774 г.<sup>139</sup>. Ведущее место в мире по отравлениям иглобрюхами (особенно фугу), несомнен-

---

<sup>139</sup> В Новой Каледонии Кука и двух натуралистов в составе его экспедиции накормили скалзубовой рыбой. Вот как он описывал последствия этого: «на стол подали только печень и молоки, к которым оба Форстера и я едва притронулись. Около трёх или четырёх часов утра мы почувствовали небывалую слабость во всех членах, сопровождаемую таким ощущением, будто очоленные на морозе руки и ноги сразу попали в огонь. Я уже почти ничего не чувствовал и даже утратил способность соизмерять тяжесть тел: кружка воды ёмкостью в одну квартиру и перо казались в моей руке одинаково тяжёлыми».



Рис. 15.2. Японский ресторан (А), в котором подают блюда из фугу (Б) (Wikipedia Commons)

но, занимает Япония, где эту рыбу, несмотря на ядовитость, считают деликатесом (рис. 15.2). Начиная с 60-х годов прошлого столетия, в Японии стали регистрировать случаи отравления фугу – ежегодно до 50–100 человек, причем смертность достигает 60–70% от всех пищевых отравлений. С 2004 по 2007 годы 15 человек погибло, отравившись фугу, и около 115 человек были госпитализированы. В 2009 году семеро посетителей ресторана японского города Цуруоки (севернее Токио) отравились блюдом из фугу. На протяжении долгого периода в Японии запрещалось употреблять фугу в пищу и даже существовал запрет на ее вылов. Аналогичные запреты действуют сейчас в некоторых странах Юго-Восточной Азии, впрочем, они не всегда эффективны. Так, несмотря на запрет рыбы фугу в Таиланде с 2002 года, её до сих пор можно приобрести на местных рынках. Наиболее ядовитыми у фугу являются яичники, печень, в меньшей степени кожа и кишечник. Токсичность этой рыбы имеет сезонные колебания и повышается во время нереста – с мая по июль, что указывает на связь токсина с репродуктивными органами. Токсичность яичников и печени некоторых видов фугу (*F. ocellatus obscurum*, *F. niphobles*, *F. poecilonotum*) такова, что достаточно 2 г ткани, чтобы вызвать смертельное отравление. Чаще всего для приготовления фугу используется рыба вида бурый скалозуб (*Takifugu rubripes*). В любом случае рыба, из которой готовится блюдо, содержит смертельную дозу тетродотоксина, концентрация которого должна быть уменьшена до допустимой в процессе приготовления. Фугу считается деликатесом, её употребляют с целью «пощекотать себе нервы». Приём в пищу неправильно приготовленной фугу может быть опасен для жизни. Поэтому для приготовления фугу в специальных ресторанах (рис. 15.2), начиная с 1958 года японским поварам приходится пройти специальное обучение и получить лицензию.

В прошлом в Японии существовала традиция, согласно которой в случае отравления фугу повар, приготовивший блюдо, должен был его также съесть (либо совершить ритуальное самоубийство). В настоящее время существует возможность массово выращивать рыбу фугу, не содержащую яда. Исследования показали, что рыба фугу не способна продуцировать нейротоксин, а лишь аккумулирует тетродотоксин, вырабатываемый, вероятно, морскими бактериями. Стоит отметить, что в отличие от пресноводных ядовитых представителей иглобрюхов, у

которых максимальная концентрация нейротоксина наблюдается в коже, у фугу тетродотоксин накапливается преимущественно в яичниках и печени. При искусственном разведении можно избежать накопления яда просто за счёт смены режима кормления. Впрочем, против этого существуют коммерческие соображения (повара-асы не хотят терять высокооплачиваемую работу), возражения ревнителей традиций (которым не хотелось бы, чтобы рыба потеряла романтический ореол риска) и даже возражения самих потребителей, которые любят ощущение опасности<sup>140</sup>.

**Клиника отравления.** Первые симптомы отравления появляются в интервале от нескольких минут до 3 ч после приема фугу в пищу. В острых случаях смерть может наступить в течение первого часа, но обычно между 4 и 6 ч. Вначале отравленный ощущает странное покалывание и онемение языка и губ, которое может распространяться и на тело. Затем больные начинают жаловаться на головную боль, боль в животе и руках. Походка становится шатающейся, появляется рвота, причем при ее отсутствии прогноз неблагоприятный. Вскоре после рвоты развивается атаксия, больной стремится лечь. Наблюдаются ступор, афазия. Дыхание затруднено, артериальное давление обычно снижено, характерно также понижение температуры тела, развивается цианоз слизистых и кожи. Больной впадает в коматозное состояние, и вскоре после потери сознания наступает остановка дыхания, однако сердечная деятельность еще продолжается некоторое время. К сожалению, эффективных мер помощи, кроме искусственного дыхания, до настоящего времени нет.

**Химическая структура и механизм действия яда.** В 1909 г. из рыбы фугу было выделено активное начало, названное *тетродотоксином*. Однако только спустя 40 лет удалось получить тетродотоксин (ТТХ) в кристаллическом виде и уже в 60-е годы установить его химическую структуру. Для получения 10 г ТТХ пришлось переработать 1 т яичников фугу. У самцов *Takifugu niphobles* высокое содержание ТТХ отмечено в коже и печени, у самок – в коже и яичниках. При этом содержание ТТХ в печени было выше у самцов.

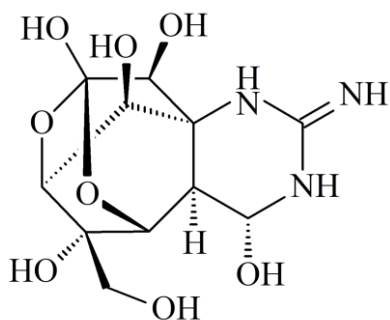
ТТХ представляет собой соединение аминопергидрохиназолина с гуанидиновой группой. В 1972 г. был произведен синтез ТТХ, подтвердивший правильность его структуры (рис. 15.3).

ТТХ обладает чрезвычайно высокой биологической активностью, его  $DL_{50}$  для мышей при внутрибрюшинном введении составляет всего 10 мкг/кг. Ведущими симптомами отравления ТТХ у животных являются быстро наступающая гипотензия, угнетение дыхания, паралич скелетной мускулатуры. Падение АД происходит в результате паралича гладкой мускулатуры сосудистой стенки. Нарушение функции дыхания имеет или периферическую природу (паралич дыхательной мускулатуры), или связано с угнетающим действием ТТХ на дыхательный центр.

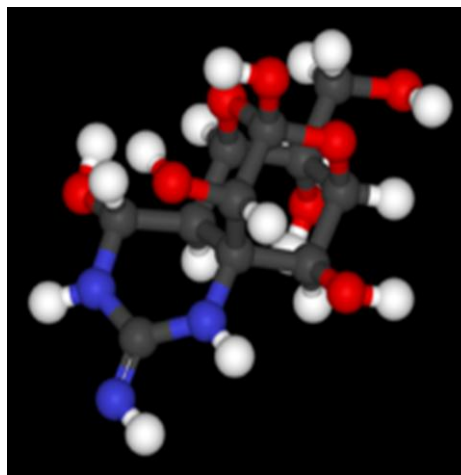
В основе патологического действия ТТХ лежит его способность блокировать проведение нервного импульса в возбудимых тканях (нервных и мышечных), чем и обусловлены разнообразные фармакологические эффекты токсина. Уникальность действия ТТХ заключается в том, что он в очень низких концентрациях ( $10^{-7}$  моль/л) блокирует входящий натриевый ток во время развития потенциала действия. Другая его особенность заключается в том, что он действует только с наружной стороны мембраны аксона (рис. 15.4).

---

<sup>140</sup> В ноябре 2014 г. в СМИ прошла информация, что фугу обнаружили в акватории Севастополя.



А



Б

Рис. 15.3. Тетродотоксин: А – структурная формула, Б – трехмерная модель

На основании этих данных была высказана гипотеза, что ТТХ, гуанидиновая группа которого близка по своим размерам к диаметру гидратированного иона натрия, входит в устье натриевого канала и застревает в нем, удерживаясь остальной частью молекулы, размеры которой превышают диаметр канала. Напомним, что аналогичные данные были получены при изучении химической структуры и механизма действия сакситоксина. Выяснение удивительных свойств ТТХ резко повысило внимание к этому веществу и стимулировало поиск его аналогов у других животных. Было выяснено, что давно известный *тарихатоксин*, выделенный из яиц калифорнийского тритона *Taricha torosa*, идентичен ТТХ. В дальнейшем было показано, что ТТХ обнаружены не только у тритонов рода *Taricha* (западное побережье Северной Америки), но также у восточноамериканского тритона *Notophthalmus viridescens* (восточная часть Северной Америки), причем не только в коже, но и во всех органах. При содержании в неволе количество ТТХ в яйцах *Taricha granulosa* снижалось в течение первого года, оставаясь в последующие несколько лет на постоянном уровне.

В 70-е годы ТТХ обнаружили у рыб рода *Gobiodon*, а затем в коже центральноамериканских лягушек рода *Atelopus*. Имеются сведения, что макулотоксин, выделенный из слюнных желез осьминога *Hapalochlaena maculosa*, по своим фармакологическим и химическим свойствам близок к ТТХ. В последнее время ТТХ был обнаружен также в моллюсках *Charonia saulinae*, *Babylonia japonica*, *Gibbula umbilicalis*, *Pleurobranchaea maculata* и *Monodonta lineata*. Присутствие ТТХ у представителей разных таксонов согласуется с гипотезой о его продуцировании симбиотическими микроорганизмами.

Замечательно, что виды, содержащие ТТХ, как правило, чрезвычайно к нему устойчивы. Так, например, устойчивость брахиального нерва фугу к ТТХ в

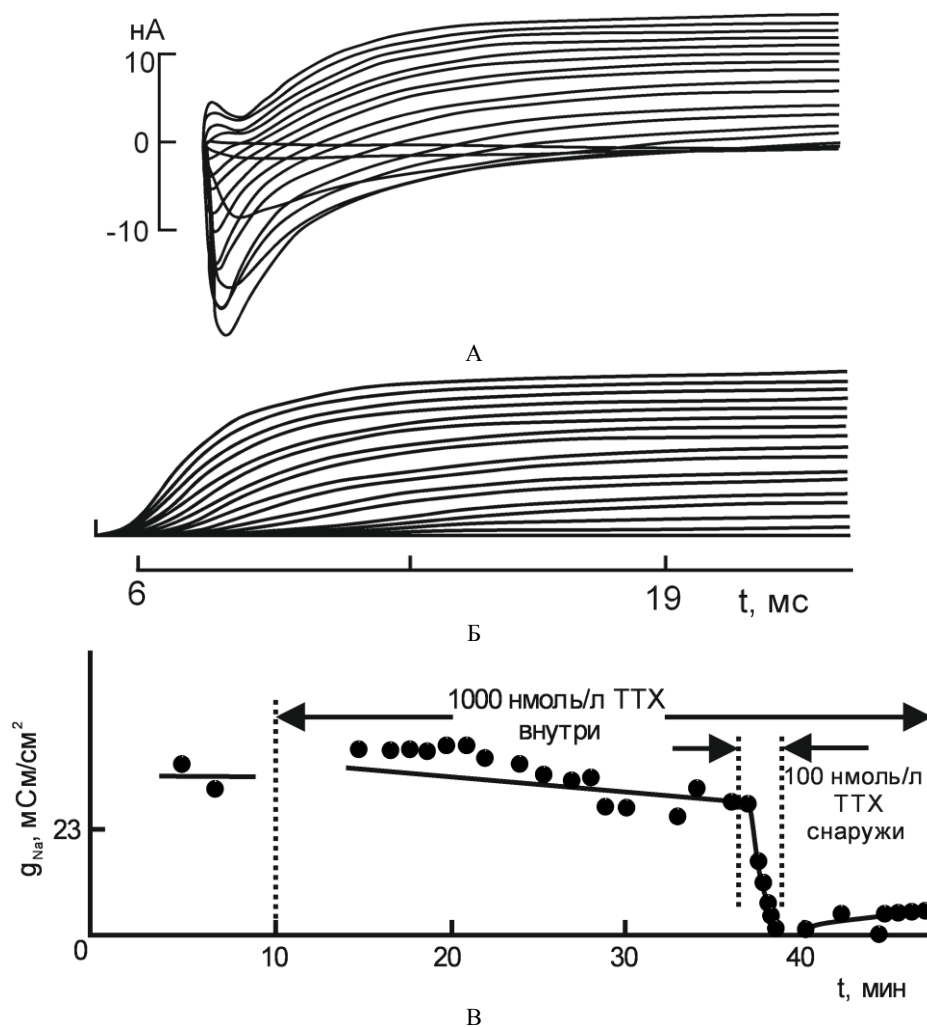


Рис. 15.4. Влияние тетродотоксина на мембрану нервного волокна: А – ионные токи перехвата Ранвье в растворе Рингера; Б – при добавлении в омывающий раствор тетродотоксина до концентрации  $3 \cdot 10^{-7}$  моль/л; В – натриевая проводимость мембраны гигантского аксона при введении тетродотоксина в перфузирующую жидкость, а затем при добавлении в омывающий раствор (Hille, 1970)

1000 раз, а седалищного нерва тритона (*T. torosa*) в 30000 раз больше, чем седалищного нерва лягушки. Как уже отмечалось, по механизму своего действия ТТХ весьма близок с другим небелковым нейротоксином – сакситоксином (STX), продуцируемым токсическими динофлагеллатами. Однако существуют и некоторые различия в их свойствах. Так, ТТХ обладает более сильным гипотензивным действием. В свою очередь STX блокирует нервную проводимость седалищного нерва тритона, устойчивого к ТТХ, хотя оба токсина не действуют на мышцы фугу. Наконец, нагревание до  $100^\circ\text{C}$  при  $\text{pH} = 1$  в течение 25 мин устраняет токсичность ТТХ, но не действует на STX. Эти данные имеют важное значение для дифферен-

цировки этих близких по своим свойствам токсинов. Кроме того, натриевые ионные млекопитающие обладают разной чувствительностью к ТТХ и дифференцируются на ТТХ-чувствительные и ТТХ-резистентные.

Используя высокоспецифическое связывание меченного тритием ТТХ, удалось подсчитать плотность натриевых каналов в мембране аксонов различных животных. Было установлено, что на 1 мкм<sup>2</sup> поверхности гигантского аксона кальмара приходится 13 каналов. Впоследствии эти данные были уточнены, и плотность натриевых каналов в аксоне кальмара была принята равной 553 мкм<sup>-2</sup>, а в портняжной мышце лягушки – 380 мкм<sup>-2</sup>. Другой аспект использования специфического взаимодействия ТТХ с рецептором натриевого канала связан с попыткой выделить комплекс ТТХ – рецептор для его последующего изучения.

Специфическое блокирование нервной проводимости характеризует ТТХ как мощный местный анестетик. В настоящее время в некоторых странах уже налажено производство обезболивающих препаратов на основе ТТХ, применяемых при неоперабельных формах рака, проказе. Кроме того, имеются сведения о положительном терапевтическом эффекте препаратов ТТХ при бронхиальной астме, судорожных состояниях<sup>141</sup>.

Важное практическое значение имеет разработка методов идентификации ТТХ в биологических тканях для профилактических и лечебных мероприятий. Наиболее распространенный способ обнаружения ТТХ – изучение токсичности данного образца на мышах. В последнее время применяются более точные количественные методы, например газовая хроматография. Чувствительность метода 0.4 мкг ТТХ/проба, что позволяет определить 83.7% токсина в содержимом желудка.

### 15.1.2. Сигуатера

*Сигуатера* – название обычно нелетального, пищевого отравления, вызываемого рифовыми рыбами в тропической и субтропической областях. Термин сигуатера происходит от местного названия моллюска *Cittarium (Livona) pica* – «сигуа», впервые ввезенного на Кубу испанскими конкистадорами. Этим словом обозначали пищевые отравления брюхоногими моллюсками, сопровождающиеся желудочно-кишечными и неврологическими расстройствами. Позднее также стали называть отравления рыбами.

Токсин, который ответствен за сигуатеру, называют *сигуатоксином*. К сигуатеровым относят около 400 видов рыб. Для отравлений этого типа предложен термин «ихтиосаркотоксизм». Наиболее неприятная особенность сигуатеры заключается в том, что его может вызвать рыба, которая еще накануне была вполне съедобной. Такие спорадические вспышки особенно опасны на некоторых островах Полинезии. В настоящее время частота отравлений сигуатеровыми рыбами составляет около 50000 случаев в год, однако эта цифра считается заниженной. Сигуатера зафиксирована в большинстве островных тропических районах. Здесь эта проблема имеет важное значение, так как рыба – практически основной источник животного белка в этом регионе, население которого быстро увеличивается. В настоящее время среди наиболее опасных сигуатеровых рыб необходимо

---

<sup>141</sup> Однако анальгетик под названием Тестин<sup>®</sup>, проходивший клинические испытания при лечении онкобольных, в дальнейшем был снят с испытаний.



указать следующие: лутриан (*Lutianus bohar*, *L. monostigma*, *Glabilutianus nematophorus*), мурена (*Gymnothorax javanicus*, *Lycodontis javanicus*), рыба-хирург (*Stenochaetus striatus*), барракуда (*Sphyaena barracuda*), группер (*Epinephelus fuscoguttatus*), каранкс (*Caranx sexfasciatus*), сериола (*Seriola anteovitata*), рыба-попугай (*Scarus gibbus*), макрель (*Scomberomorus commerson*).

**Клиника отравления.** Признаки отравления могут развиваться через несколько часов, а могут появиться и на следующий день. Вначале ощущается покалывание и онемение языка и губ, металлический привкус и сухость во рту, тошнота. Больной жалуется на сильные боли в животе, конечностях, суставах. Иногда на коже обнаруживается сыпь, волдыри. Очень характерным неврологическим нарушением является извращение температурной чувствительности, когда больному холодные предметы кажутся горячими. И наоборот. При тяжелых формах наблюдаются нарушение координации движений, параличи и парезы скелетной мускулатуры, кома и смерть. Все же смертность от сигуатеры сравнительно низкая. Выздоровление длительное, иногда несколько месяцев. Симптоматику отравления сигуатерой можно разделить на 4 группы: 1) желудочно-кишечные – рвота, диарея; 2) сердечно-сосудистые – гипотензия, брадикардия; 3) неврологические – извращение чувствительности; 4) прочие – астеня, артралгия. Как правило, желудочно-кишечная форма вызывается травоядными рыбами (рыба-хирург и др.), а сердечно-сосудистая – хищными (лутриан, барракуда).

**Химический состав и механизм действия яда.** Изменчивость сигуатеры чрезвычайно затрудняет ее исследование. Тем не менее, в 1967 г. удалось выделить сигуатоксин. Наибольшее количество сигуатоксина содержится в печени, мышцах, внутренних органах, откуда он извлекается метанолом и хлороформом. Токсичность наиболее очищенного препарата из печени мурены для мышей составила 10 мкг/кг, что сравнимо с ТТХ. Сигуатоксин – липофильное вещество с молекулярной массой 1500, содержащее азотистые группы (рис. 15.5). Весьма возможно, что сигуатера вызывается более чем одним токсином, на что указывает сложность симптоматики.

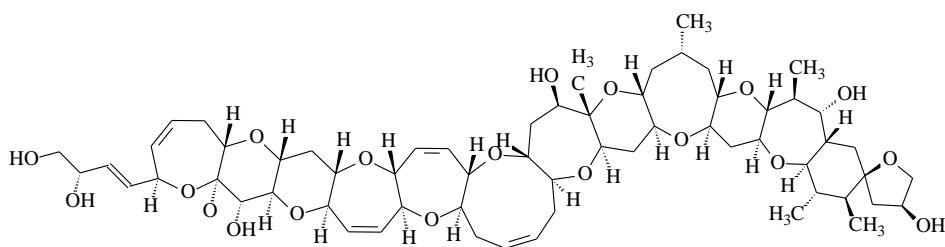


Рис. 15.5. Сигуатоксин

Сигуатоксин стимулирует увеличение проницаемости нервных мембран для натрия как в ЦНС, так и на периферии за счет селективного воздействия на потенциал-зависимые  $\text{Na}^+$ -каналы в нервных и мышечных клетках. В синаптических окончаниях и синапсосомах вызывает высвобождение нейромедиаторов (ГАМК, ацетилхолина, катехоламинов). Антагонистами его являются ТТХ и кальций. Поэтому в качестве антидотов можно рекомендовать двухвалентные ионы (соли кальция и магния). При обработке изолированного предсердия кролика сигуатоксином наблюдается двухфазное действие: начальная брадикардия и снижение амплитуды

ды сердечных сокращений сменяются положительным ино- и хронотропным эффектом. Первая фаза имеет холинергическую природу, на это указывает ее чувствительность к атропину. Вторая фаза связана с увеличенным высвобождением катехоламинов, так как предупреждается резерпином и гуанетидином. Сведения об антихолинэстеразной активности сигуатоксина носят противоречивый характер, ибо не подтвердились для высокоочищенных препаратов.

Поскольку сигуатеру вызывают ценные в промысловом отношении рыбы (рифовые окуни, груперы), важно уметь отличать ядовитых рыб от съедобных. Для скрининга сигуатоксина используют различных животных. Кошки весьма чувствительны к токсину, однако у них часто бывает рвота при поедании недоброкачественной рыбы, что затрудняет количественную оценку. Характерное отравление у кошек сопровождается развитием через 20 ч после приема пищи паралича задних конечностей, диарреи, гиперсаливации. На третьи сутки животные погибают в условиях комы. В качестве тест-объектов используют также мандулы, но они отличаются большой индивидуальной чувствительностью. Мыши менее чувствительны к сигуатоксину, но более удобны для массовых обследований. Симптомы отравления у мышей следующие: снижение двигательной активности, диаррея, лакримация, гиперсаливация, диспноэ, паралич и смерть в интервале от 40 мин до 48 часов. Токсичность экстрактов из лугианы, мулены и других составляет для мышей при внутривентральном введении 500–1000 мкг/г. Интересно, что комары *Aedasa egypti* также чувствительны к сигуатоксину, и с их помощью можно определить ядовитость рыб. В настоящее время для оценки количества сигуатоксина в тканях подозрительных на сигуатеру рыб начинают применять высокочувствительный радиоиммунный анализ, позволяющий выявлять ядовитых рыб в 93% проб.

Происхождение сигуатеры до сих пор является предметом оживленных дискуссий и интенсивных исследований. Наиболее вероятной считается гипотеза, согласно которой токсины аккумулируются (и быть может подвергаются метаболическим превращениям) в организме рыб по пищевым цепям. Травоядные рыбы питаются водной растительностью, планктоном, содержащими токсические вещества, хищники поедают травоядных и, наконец, те и другие являются пищей человека. Полагают, что первичным агентом, вызывающим сигуатеру, является гамбиертоксина (GTXs), продуцируемые динофлагеллатами *Gambierdiscus toxicus* и рассматриваемые как прекурсоры сигуатоксинов (CTXs). Эти токсины накапливаются по пищевым цепям, включающим беспозвоночных, травоядных и хищных рыб. Сигуатоксины составляют семейство жирорастворимых, термостабильных циклических полиэфирных молекул, структурно подобных бреветоксинам, хотя и более токсичным. Сигуатоксины, являясь липидорастворимыми, в основном накапливаются во внутренних органах рыб, хотя отравления людей связаны в подавляющем числе случаев с принятием в пищу мышц рыб. Кроме *Gambierdiscus toxicus*, в качестве источника сигуатоксинов рассматриваются и другие динофлагеллаты – *Ostreopsis* и *Coolia*. Виды рода *Ostreopsis* продуцируют *остреотоксин* и аналоги палитоксина, из динофлагеллат рода *Coolia* выделен кулиатоксин. Динофлагеллаты рода *Prorocentrum*, сосуществующие с *Gambierdiscus toxicus*, не продуцируют сигуатоксины, но содержат дериваты окадаиковой кислоты, которые вызывают так называемое «отравление диарейными токсинами моллюсков»<sup>142</sup> (diarrhetic shellfish poisoning, DSP), усиливающее симптомы сигуатеры.

---

<sup>142</sup> См. главу 1.

Динофлагеллаты, связанные с сигуатерой и распространенные в бентосе, часто ассоциируются с макроводорослями. Распределение сигуатеровых организмов в Мировом океане носит пятнистый характер и часто регион с высоким уровнем поражения сигуатерой соседствует с относительно благополучными районами. Одной из важнейших причин вспышки «цветения» динофлагеллат считают повышение температуры морской воды, что актуализирует проблему глобального потепления.

*Gambierdiscus toxicus* также продуцирует водорастворимые высокотоксичные **маитотоксины**.

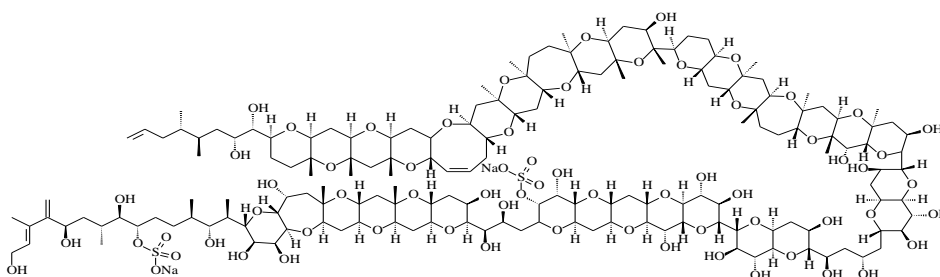


Рис. 15.6. Маитотоксин

Так, например, из рыбы-хирурга *Stenochaetus striatus* наряду с жирорастворимым сигуатоксином выделен водорастворимый маитотоксин (рис. 15.6), названный по местному названию этой рыбы на о. Таити. Наибольшее количество его содержится в желудке и кишечнике. Однако полагают, что маитотоксины не вносят существенный вклад в сигуатеру, так как их накопление в мышцах незначительно. В 1982 г. удалось получить из динофлагеллат *G. toxicus* очищенный маитотоксин,  $DL_{50}$  которого для мышей составляла всего 0.17 мкг/кг, то есть почти в 50 раз меньше, чем для одного из самых сильных токсинов – ТТХ. Он обладает сильным действием на гладкую мускулатуру, вызывая ее сокращение в концентрациях  $10^{-10}$ – $10^{-8}$  г/мл. В основе механизма его действия лежит усиление входа  $Ca^{2+}$  внутрь клетки через  $Ca^{2+}$ -каналы. Маитотоксин, так же как и сигуатоксин, по-видимому, накапливается в организме рыб по пищевым цепям.

Другой пример связан с рыбой-попугаем *Scarus gibbus*, отравление которой вначале проходит по сигуатеровому типу, однако через 10 суток появляются новые угрожающие симптомы: нарушение статического и динамического равновесия, дисметрия, тремор, что указывает на повреждение мозжечка. Болезнь в острой форме длится около недели, и требуется более месяца для полного выздоровления. Исследования показали, что в кишечнике рыбы-попугая кроме сигуатоксина и маитотоксина присутствует новый полярный токсин, вызывающий паралич – **скаритоксин**. Однако из печени рыбы-попугая был выделен только сигуатоксин и высказано предположение, что сигуатоксин может быть предшественником скаритоксина. Тем не менее, причина отсутствия скаритоксина в печени не ясна. Удалось отделить скаритоксин от сигуатоксина элюцией из хроматографического материала хлороформом, тогда как сигуатоксин элюируется смесью хлороформ: метанол (1:1). После очистки токсичность скаритоксина для мышей составила 30 мкг/кг. Токсин, сходный со скаритоксином, выделен также из лугиана *Glabrilutanus nematophorus*.

### 15.1.3. Галлюциногены

Некоторые виды кефали и султанок вызывают отравления, сопровождающиеся галлюцинациями (ихтиоаллиэйнотоксизм). Первая вспышка отравления была зарегистрирована в 1927 г. в Японии, когда несколько десятков человек отравились султанкой *Upeneus arge*. Больные жаловались на галлюцинации и кошмары, которые их преследовали, особенно во время сна. Полагают, что токсин локализуется в голове рыбы. Из других симптомов отмечают зуд и чувство жжения в горле сразу же после приема пищи, мышечную слабость, частичный паралич ног. Симптомы появляются через 10 мин – 2 ч и могут длиться 5–24 ч, причем отравление вызывается как сырой, так и вареной рыбой. На Гавайях в июне – августе опасны два вида кефали (*Mugil cephalus*, *Neomuxus chaptalli*) и два вида султанок (*Mulloidichthys hyssamoensis*, *Upeneus arge*), вызывающие галлюцинации.

Другое сообщение о подобных отравлениях связано с так называемыми «сонными рыбами» на о. Норфок в море Фиджи у берегов Австралии. Подозрение падает на *Kyphosus vaigiensis* (Girpeliidae), после приема в пищу которой у людей развиваются кошмары, галлюцинации, вскоре переходящие в длительный сон. Однако воспроизвести эти феномены в эксперименте на животных пока не удалось.

### 15.1.4. Ихтиотоксины

Наряду с рассмотренными отравлениями ядовитыми рыбами, по предложению Холстеда в особую группу выделяют отравления, вызываемые зрелыми половыми продуктами, тогда как другие части тела рыб вполне съедобны. Симптомы отравления ихтиотоксинами: расстройство желудочно-кишечного тракта, рвота, боли в животе, диаррея. Подобные ихтиотоксины вырабатываются в икре и молоках свыше 50 видов рыб, в числе которых можно указать *Acipenser* sp., *Abramis brama*, *Barbus* sp., *Cyprinus carpio*, *Tinca tinca*, *Perca fluviatilis*, *Stichaeus grigorjewi*, *Schizothorax intermedius* и др. В качестве примера можно назвать «барбусовую холеру», вспышки которой наблюдались в Европе. В Средней Азии ядовитыми икрой и молоками обладает маринка *S. Intermedius* (рис. 15.7).

Имеются сведения, что яд, содержащийся в икре маринок, усачей и османов (Сурпинidae), – *ципринидин* – вызывает падение АД, адинамию, снижение температуры тела, паралич скелетной и дыхательной мускулатуры, а в токсических дозах – остановку сердца.

Токсическими свойствами обладает *Stichaeus grigorjewi* (стихей Григорьева). Это придонная рыба, достигающая длины 60 см. Обитает на глубинах от 10 до 150 м на каменистых, песчаных и илисто-песчаных грунтах. Для нереста подходит к прибрежной зоне, где на каменистых грунтах в мае-июне откладывает клейкую икру в виде больших комков. Морской вид, обычный в уловах вдоль всего побережья Приморья. Широко распространён в Японском и Охотском морях и у тихоокеанских берегов Японии. Имеет ограниченное промысловое значение. Часто отмечается в качестве прилова при промысле минтая и камбал. Мясо съедобно, используется в пищу, однако икра ядовита. Отравление сопровождается диареей, тошнотой и рвотой, болью в животе, поносом, учащенным и нерегулярным пульсом, цианозом, лихорадкой и головокружением. Лечение симптоматическое:



Рис. 15.7. Маринка *Schizothorax intermedius* (Wikipedia Commons)

очищение желудка, активированный уголь. Из икры *Stichaeus grigorjewi* выделен токсический липопротеин, названный *диногунеллином* (рис. 15.8). Его  $DL_{50}$  для мышей составляет 25 мг/кг.

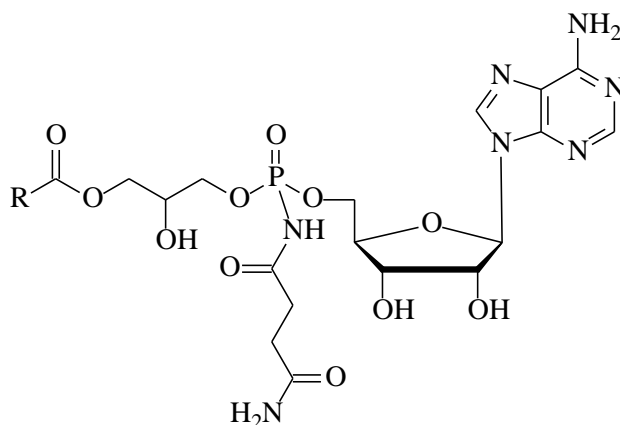


Рис. 15.8. Диногунеллин из *Stichaeus grigorjewi*

Токсический компонент, близкий по химическому составу с диногунеллином, получен также из икры мраморника *Scorpaenichtys marmoratus*. Ядовита икра также у панцирников или каймановых рыб (*Lepisosteidae*). Из икры миссисипского панцирника *Lepisosteus spatula* выделено кардиотоксическое вещество, угнетающее деятельность сердца черепахи.

### 15.1.5. Ихтиокринотоксины

В особую группу выделяют также рыб, вырабатывающих ядовитую слизь кожными железами или отдельными клетками, которую называют *ихтиокринотоксинами*. Как правило, эти токсины имеют горький вкус, токсичны для рыб и обладают гемолитическим действием. Успехи в изучении их химической природы позволили выделить несколько родов каменных окуней из сем. *Serranidae* в новое

семейство Grammistidae, в том числе *Grammistes sexlineatus*, *Pogonoperca punctata*, *Ryptic ussaronaceus* и некоторые другие. Рассмотрим некоторые наиболее изученные ихтиокринотоксины.

**Пахутоксин.** Из кожи кузовка *Ostracion meleagris* (Ostraciontidae) выделен пахутоксин (от паху – местное название рыбы на Гавайях), или острацитоксин. Обычно для получения токсина рыбу помещают в дистиллированную воду, из которой его экстрагируют *l*-бутанолом. После хроматографической очистки выход пахутоксина составляет 60 мг (на взрослую рыбу). Его структурная формула приведена на рис. 15.9.

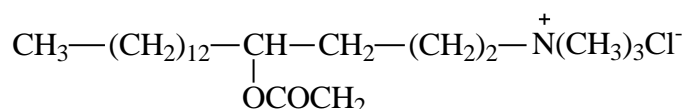


Рис. 15.9. Структурная формула пахутоксина

Пахутоксин обладает сильным гемолитическим и ихтиотоксическим действием. У рыб, пораженных этим токсином, нарушается жаберное дыхание, координация движений. Кроме того, пахутоксин вызывает снижение чувствительности щупалец анемоны и медуз, а также тормозит фертилизацию яиц морского ежа. В последнее время создан синтетический пахутоксин. Из кожного секрета другого кузовка *Lactophrys triqueter* выделен кристаллический токсин, отличающийся от пахутоксина только отсутствием β-ацетоксигруппы.

**Граммистины.** Каменные окуни (Grammistidae) продуцируют очень большое количество слизи, смертельной для других рыб<sup>143</sup>. Слизь очень горького вкуса, обладает гемолитическим, ихтиотоксическим и бактерицидным действием, обусловленным присутствием *граммистин*ов, продуцируемых специальными слизистыми клетками кожи. Из *Grammistes sexlineatus* выделены семь граммистинов (Gs A, Gs B, Gs C, Gs D, Gs E, Gs F и Gs G), представляющих собой простые полипептиды. Кроме того, из *Pogonoperca punctata* выделены шесть граммистинов (Pp1, Pp2a, Pp2b, Pp3, Pp4a и Pp4b). Все выделенные граммистины характеризуются наличием α-спиральных участков и могут быть разделены на три структурные группы. Группа I содержит граммистины, которые состоят из 24 или 25 аминокислотных остатков. Группа II представлена граммистинами, состоящими из 13 аминокислотных остатков. Наконец, в группу III входит граммистин Pp3 и его аналоги из 25 и более аминокислотных остатков (рис. 15.10).

Исследование граммистинов Gs1, Gs2, Pp1 и Pp3 показало, что они связываются с мембранными фосфолипидами и вызывают лизис клеточных мембран. Они также обладают антибактериальной активностью в отношении широкого спектра бактерий, включая грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы. Полагают, что граммистины являются новым семейством амфифильных антибактериальных пептидов, обладающих α-спиральной структурой.

<sup>143</sup> *Grammistes sexlineatus* – разнообразно окрашенную рыбу – любят содержать в морских аквариумах. При их разведении нередко происходит неожиданная гибель других обитателей аквариума. Предполагается, что в случае испуга эти рыбки могут выделять жидкость, ядовитую для других видов рыб.

Группа 1	1	10	20
Gs F (=Gs 1)	LFGFLIKIIPSLFG	ALSNI	GNRNQ
Gs G (=Gs 2, Pp 4a)	LFGFLIPLLP	PHIIGAIPQV	IGAIR
Pp 4b	LFGFLIPLLP	PHLIGAI	PQVIGAIR
Группа 2	1	10	
Gs B	IGGIISFFK	RLF	
Gs D (=Pp 1)	FIGGIISFFK	RLF	
Gs E (=Pp 2b)	FIGGIISEIKK	LF	
Pp 2a	FIGGIISLIK	LF	
Группа 3	1	10	20
Gs A	WWRELLKKLAFTAAGHLG	SVLAAKQ	SGW
Gs C	NWRKIILGKI	AKVAAGLLG	SMLAGYQV
Pp 3	NWRKIILGQIASV	GAGLLG	SLLAGYE

Рис. 15.10. Первичная структура известных граммистинов. Выделены идентичные аминокислотные последовательности (Sugiyama et al., 2005)

**Пардаксин.** Это класс лизирующих токсинов, выделенных из слизистых желез рыб рода *Pardachirus*, которые секретируют их для отпугивания хищных рыб, таких как акулы. В природе мишенью пардаксина являются жабры рыб. Наиболее изучена мраморная солея<sup>144</sup> *Pardachirus marmoratus* (Soleidae), секретирующие железы у которой расположены у основания дорзального и анального плавников, их общее количество может достигать 100–200. Активное начало – пардаксин – имеет  $DL_{50}$  для мышей при внутрибрюшинном введении 24.6 мг/кг. При введении наркотизированным крысам пардаксина в дозе 0.5 мг/кг наблюдается сильный гипотензивный эффект. Возможно, что его гипотензивное действие связано со способностью усиливать высвобождение ацетилхолина из постганглионарных нервных окончаний. В концентрации  $7 \cdot 10^{-5}$  моль/л токсин вызывает увеличение эстеразной активности мембранной фракции, полученной из жабер рыб и ракообразных. Интересно, что в низкомолекулярной фракции секрета кожных желез найден также фактор, нейтрализующий гемолитическое и ихтиотоксическое действие пардаксина. Этот же фактор угнетает токсическое действие мелиттина – основного цитолитического полипептида пчелиного яда – и снижает гемолитическое действие ядов змей и скорпионов.

В низких концентрациях пардаксин вызывает раздражение, а при высоких – гибель. В концентрациях от 3 до 40 мкМ пардаксин также убивает бактерии и

<sup>144</sup> Представитель семейства Солеевые или Косоротые. Мраморная павлинья солея или камбала обитает в песчаных районах рифа. Называется также «рыбой Моисея»: согласно преданию, когда Моисей проводил евреев через море, он ударил по воде палкой и попал в камбалу, которую рассёк пополам. Распространена в Красном море и от восточного побережья Африки до Шри-Ланки. Выделяет для защиты от хищников ядовитое вещество пардаксин, на основе которого пытались получить репеллент против акул.

способен лизировать эритроциты ( $EC_{50}$  50 мкМ), действуя на липидный бислой клеточной мембраны. Пардаксин состоит из 33 аминокислотных остатков

G-F-F-A-L-I-P-K-I-I-S-S-P-L-F-K-T-L-L-S-A-V-G-S-A-L-S-S-S-G-G-Q-E

и представляет собой амфифильный  $\alpha$ -спиральный пептид со структурой «спираль–поворот–спираль», подобный другим мембрано-активным полипептидам мелиттину и цекропину. В центре петли, разделяющей две спирали, находится пролин (Pro13), по которому происходит изгиб молекулы. Для проявления избирательности действия этого пептида важен состав липидного компонента мембран.

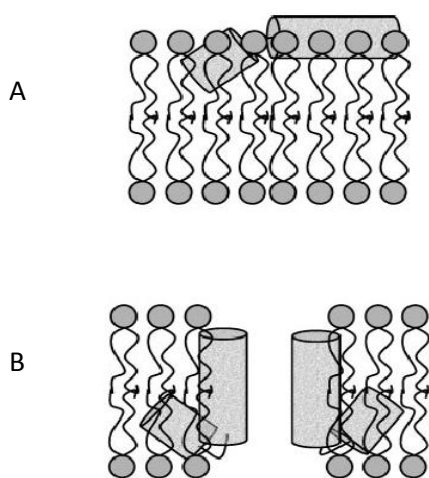


Рис. 15.11. Схема мембранолитического действия пардаксина: А – лизис по механизму «ковра», В – формирование бочкообразной поры (Hallock et al., 2002)

В зависимости от состава липидов, амфифильные С-концевые спирали нескольких мономеров токсина располагаются либо параллельно плоскости мембраны, образуя так называемый «ковер» (рис. 15.11), либо внедряются в бислой и формируют «бочкообразную» пору. В первом случае мембрана подвергается деструкции за счет образования в ней локальных дефектов. Во втором сформированные поры вызывают лизис клетки. Холестерин и анионные липиды подавляют способность этого токсина разрушать липидные бислои. В настоящее время произведён синтез пардаксина.

**Другие ихтиокринотоксины.** Гемолитический токсин риптицин выделен из слизи *Rypticus saponaceus*. Его молекулярная масса 2700. Он характеризуется большим содержанием гидрофобных аминокислот. В воде, содержащей слизь каменных окуней, гуппи могут погибнуть в течение нескольких минут. Внутрибрюшинное введение риптицина мышам вызывает паралич конечностей, затруднение дыхания и смерть через 24–48 ч. Если кошкам скормить экстракт слизи каменного окуня, у них развиваются симптомы отравления, сходные с сигуатерой: диаррея, атаксия, рвота, гиперсаливация, паралич ко-



нечностей, кома, смерть может наступить через 5 сут. Рептицин обладает также гипотензивным действием.

Гемолитические токсины, сходные по химическим и биологическим свойствам с граммистином, выделены из бычков *Gobiodon* sp. (Gobiidae) и ежовых уток *Diademichthys lineatus* (Gobiesocidae).

Давно замечено, что мурены *Gymnothorax nudivomer* (Muraenidae) производят много кожной слизи, которая при попадании на руки вызывает боль. Фармакологический анализ слизи показал, что она летальна для мышей, обладает гемолитическим действием, причем активные начала слизи имеют белковую природу. Гемолизин, выделенный из слизи, очень нестоек, и его активность быстро падает даже при лиофилизации. Молекулярная масса гемолизина ~100000 Да, он чувствителен к трипсину. В коже мурены обнаружены специальные клетки, секретирующие токсическую слизь.

#### 15.1.6. Ихтиохемотоксины

Токсины, содержащиеся в сыворотке крови некоторых рыб, принято называть ихтиохемотоксинами. Отравление наступает, как правило, при приеме с пищей больших количеств свежей крови этих рыб. В эксперименте введение животным даже небольших количеств крови ядовитых рыб вызывает быструю смерть. К ядовитым относятся морской угорь *Conger conger*, мурена *Muraena helena*, пресноводный угорь *Anguilla vulgaris*. Симптомы отравления: диаррея (причем стул часто с кровью), рвота, саливация, цианоз, нерегулярный пульс, парестезия, параличи, дыхательные расстройства, в тяжелых случаях смерть. Летальный фактор можно осадить из сыворотки сульфатом аммония с последующей экстракцией этанолом. Белковая природа ихтиохемотоксинов доказывается их чувствительностью к протеазам.

#### 15.1.7. Другие токсины пассивно-ядовитых рыб

Сильные нейротоксины обнаружены у большеголова атлантического *Hoplosthetus atlanticus* – *гопlostатин* и кубохвоста *Tetrogonurus cuveri* – *кубо-токсин*. Гоплостатин хотя и близок по своим химическим характеристикам к ТТХ и макулотоксину, не исключено, что его молекула претерпевает в организме большеголова метаболические превращения, что приводит к образованию нового токсина.

Очень опасны отравления, вызываемые некоторыми сельдевыми рыбами и анчоусами (*клупеотоксизм*). Первые признаки отравления появляются уже во время еды – резкий металлический привкус во рту. Затем быстро развиваются диаррея, рвота, недомогание. Артериальное давление падает, кожные и слизистые покровы бледнеют, больной впадает в кому, за которой следует смерть. В некоторых очень тяжелых случаях смерть может наступить через 15 мин после приема пищи. Смертность при отравлении *Clupanodon thrissa*, *Engraulis* spp. и других может достигать 42%. К сожалению, ни механизм действия, ни химизм яда не известны, хотя высказываются подозрения на связь с палитоксином и/или сигуатерой.

Среди других промысловых рыб, часто вызывающих отравление, следует назвать тунца. Токсичными могут быть как мясо, так и икра, особенно у несвежей

рыбы. Отравленные испытывают общее недомогание, головокружение, покраснение лица и шеи, ощущение жара в теле, затем могут появиться отеки, тахикардия. Все эти симптомы указывают на аллергическую природу отравления. И действительно оказалось, что мясо тунца богато аминокислотой гистидином, которая путем декарбоксилирования (возможно бактериальной декарбоксилазой) превращается в физиологически активный амин гистамин, вызывающий аллергические реакции. По данным газовой хроматографии, в мясе таких рыб может содержаться до 335 мг гистамина на 100 г мяса, что превышает обычные цифры почти в 100 раз. Кроме того, в ядовитых особях тунцов могут содержаться такие токсические вещества, как путресцин, кадаверин, спермидин.

## 15.2. ЯД КРУГЛОРОТЫХ (Cyclostomata)

Круглоротые (Cyclostomata) – полифилетическая группа позвоночных животных, наряду с вымершими Ostracodermi ранее считалась одним из классов Бесчелюстные («низшие позвоночные»). В эволюционном отношении они являются предшественниками рыб. Круглоротые включают две группы: миноги и миксины, которые раньше считались отрядами одного класса, а сейчас относятся в разные классы, а иногда даже подтипы типа хордовые. К настоящему времени описаны около 45 видов. Существует ряд признаков, отличающих круглоротых от рыб и произошедших от них четвероногих:

- нет чешуи;
- нет парных конечностей;
- вместо позвоночника имеется хорда (спинная струна);
- овальный или круглый рот, снабжённый всасывающими структурами и эпидермальными зубами.

Их спинная струна из-за образования хрящей обрела большую твёрдость, чем хорда у ланцетников, а также имеет зачатки позвонков, но настоящий позвоночник ещё не развит. Небольшой мозг, сравнимый по объёму с мозгом рыб, защищён хрящево-кожной черепной коробкой. Органом обоняния являются семь отверстий, расположенных между обоими глазами. Несмотря на узкие плавники, круглоротые умеют быстро передвигаться в воде. Их особенностью является умение «присасываться» к рыбам и с их помощью передвигаться. Питаются червями, насекомыми и икрой рыб. Некоторые круглоротые – полупаразиты.

Круглоротые имеют змеевидно удлинённое, голое тело, достигающее 40 см длины. В теле различают 3 отдела: голову, туловище и хвост, причём эти отделы переходят друг в друга постепенно. Парные конечности отсутствуют. На спинной стороне хорошо заметны 2 кожистых непарных плавника, последний из которых переходит непосредственно в хвостовой плавник (рис. 15.12).

Голова небольшая, ротовое отверстие находится на дне присасывательной воронки, окаймлённой кожными лепестками. На внутренней стенке присасывательной воронки сидят «роговые зубы». На кончике языка, который обычно отчётливо виден в ротовом отверстии, также сидят роговые пластинки, несущие мелкие «роговые зубы» (рис. 15.13). Язык мощный, буравящий, снабжён скелетом. Жаберный скелет имеет вид ажурной решетки или корзинки, не расчленённой на отделенные друг от друга жаберные дуги. Скелет круглоротых образован хрящом и соединительной тканью,



Рис. 15.12. Минога *Petromyzon marinus* (Wikipedia Commons)



Рис. 15.13. Овальный рот морской миноги, содержит концентрические кольца острых зубов, с костистым языком (Wikipedia Commons)

костной ткани в скелете нет. Орган обоняния, в противоположность аналогичным органам всех прочих представителей позвоночных, непарный.

Он открывается на переднем конце рыла одной ноздрей, ведущей в обонятельный мешок, от дна которого отходит своеобразный гипофизарный вырост, расположенный между передней частью мозга и нёбом. Для всех круглоротых характерно отсутствие челюстей, в связи с чем их относят к особому разделу бесчелюстных позвоночных Agnatha, и расположение ротового отверстия на дне предротовой присасывательной воронки округлой формы. В коже у круглоротых содержится большое количество одноклеточных желез, выделяющих слизь, имеющую защитное значение.

**Миксины.** Особенно сильно развиты кожные железы у миксин, у которых имеются, кроме того, специальные многоклеточные слизеотделительные железы, расположенные снизу по бокам всего тела (рис. 15.14).

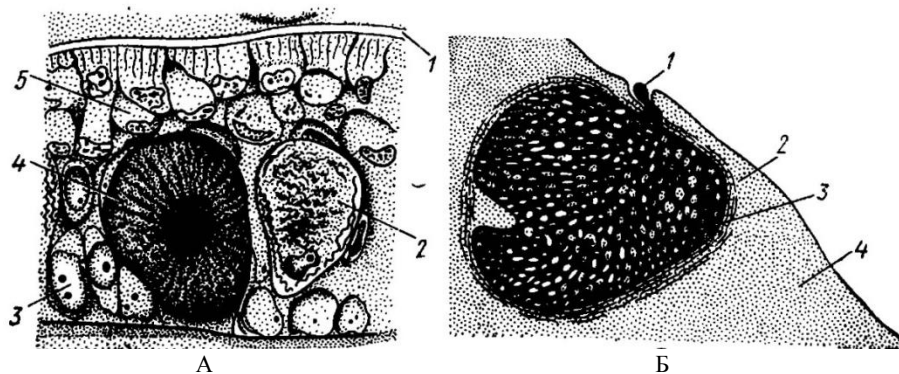


Рис. 15.14. Слизистые железы миксины *Muxine glutinosa* (Холстед, 1970): А – продольный срез эпидермиса; 1 – слизистый слой; 2 – трихогенные клетки; 3 – неидентифицированные клетки; 4 – большие слизистые клетки; 5 – малые слизистые клетки; Б – срез через слизистую железу, расположенную в каудальной части миксины; 1 – экскреторный проток; 2 – соединительная ткань; 3 – слизистые клетки (темные) и трихогенные (светлые); 4 – эпидермис

Миксины являются исключительно морскими обитателями, придерживающимися, как правило, неглубоких участков морей в умеренных и субтропических поясах северного и южного полушарий. Они очень чувствительны к солёности воды и при снижении ее ниже 25% погибают. Миксины ведут паразитический образ жизни, нападая на различных рыб, в том числе и хозяйственно ценных, чем наносят местами существенный вред рыболовству. Некоторые их виды употребляются в пищу после тщательной очистки тела от слизи, которая может вызвать отравление.

У пиявкоротых миксин (*Eptatretus*), например *E. stoutii*, обитающей у берегов Северной Америки от Аляски до Калифорнии, обнаружен мощный кардиостимулирующий агент – *эптатетрин*. Он довольно неустойчив и легко инактивируется при нагревании, изменении pH и др. Эптатетрин способен нормализовать биохимические процессы в миокарде в условиях экспериментальной ишемии, предотвращая развитие шокового состояния. Все это дает основание считать это соединение перспективным для использования в терапии сердечно-сосудистых заболеваний. Отметим, что сами пиявкороты очень удобны как источник сырья. Они неприхотливы, легко переносят длительное отсутствие воды, могут подолгу голодать.

**Миноги.** Так же, как и миксины, миноги встречаются преимущественно в северном полушарии, населяя при этом лишь умеренную зону. В отличие от миксин среди них есть морские (проходные) и пресноводные формы, так как размножаются они в пресной воде, проходя стадию личинки, называемую пескоройкой. По характеру питания эта группа также более разнообразна – наряду с типичными паразитическими видами есть и непаразитические, питающиеся детритом, водорослями и т.д. Некоторые миноги во взрослом состоянии вообще не питаются.

Миноги употребляются в пищу, а некоторые из них (например речная минога *Lampetra fluviatilis*) являются ценными промысловыми видами. Мясо их обладает

высокими питательными и вкусовыми качествами. Однако в литературе описаны случаи отравления миногами, что связывают с токсическим действием секрета кожных желез. Кроме того, их кровь обладает ядовитыми свойствами. В эксперименте введение свежей сыворотки крови миноги мышам (0.3–0.4 мл) вызывало у них отравление. Наблюдалась потеря чувствительности, парезы, нарушение координации движений. *In vitro* кровь миноги характеризуется слабым гемолитическим действием.

Другой аспект ядовитости миног связан с так называемыми буккальными железами, которые иногда принимают за слюнные. Оказалось, что эти железы секретуют антикоагулирующее вещество, которое облегчает питание паразитических форм кровью жертвы. Изучение этого вещества показало, что оно способно удлинять время свертывания крови не только рыб, но и человека. Кроме антикоагулянтных свойств вещество обладает и гемолитическим действием. Гистологическое исследование буккальных желез выявило, что они по своему строению напоминают ядовитые железы змей. Таким образом, наличие буккальных желез у миног является хорошей иллюстрацией адаптации к особенностям их биологии.

\* \* \*

Подведем некоторые итоги рассмотрению ядовитых рыб и круглоротых. Практическое значение рыб общеизвестно; также хорошо известно, что среди них много ядовитых, степень изученности которых весьма различна, а в некоторых случаях и явно недостаточна. Интенсификация рыболовного промысла неуклонно ведет к сокращению доли традиционно вылавливаемых для пищевых целей видов рыб и увеличению числа новых видов, нуждающихся в тщательной биологической характеристике. В настоящее время пристальное внимание уделяется комплексной утилизации пищевых и непищевых продуктов рыболовства, среди которых многие служат ценным сырьем для различных отраслей народного хозяйства – фармацевтической, пищевой, парфюмерной промышленности. В рассматриваемом плане изучение ядовитых рыб относится к важной медико-биологической проблеме, решение которой позволит не только успешно бороться с отравлениями, имеющими в некоторых районах мира эпидемиологическое значение, но и поставить на службу человека уникальные биологически активные вещества, содержащиеся в ядовитых рыбах. Прежде всего обращает на себя внимание тот факт, что несмотря на большое разнообразие форм ядовитости у этих животных, все они имеют четко выраженную защитную направленность. У ядовитых колючеперых рыб (*Trachinidae*, *Scorpaenoidae*, *Batrachoididae*), вооруженных ранящим аппаратом в виде колючек и шипов, последние, в силу своего анатомического расположения, не могут использоваться для нападения и выполняют лишь защитную функцию. Исключение могли бы составить скаты, подвижный хвост которых вооружен ядовитым шипом. Однако особенности биологии скатов и многочисленные наблюдения также указывают на защитное назначение ядовитого аппарата. Здесь же следует упомянуть о буккальных железах миног, питающихся кровью своих жертв. Это, видимо, единственный пример связи ядовитого органа с ротовым аппаратом, не имеющим своего аналога среди рыб. Большой интерес представляет вопрос об эволюции ядовитых аппаратов у рыб и рыбообразных. Некоторые авторы считают, что вначале защитный аппарат формировался на основе колючек, к которым позднее присоединились ядовитые железы, происхождение

которых можно вести от слизистых желез кожи. Защитные функции слизистых кожных желез хороша известны у разных групп животных: червей, моллюсков, круглоротых, рыб, амфибий. Как правило, у гидробионтов и амфибий кожные железы защищают организм не только от хищников, но и от заселения его микроорганизмами. Рассмотренные примеры можно условно отнести к средствам «индивидуальной химической защиты». Другой тип защиты – надорганизменный, популяционный – связан с локализацией токсинов преимущественно во внутренних органах, так как в этом случае ценой гибели отдельной особи повышаются шансы сохранения популяции в целом. Видимо, не случайно концентрации токсинов таких рыб максимальны в период нереста, что также можно трактовать как адаптацию, направленную на поддержание численности популяции. Примером тому могут служить яды *Tetraodontidae*, *Cyprinidae* и других рыб с ядовитыми половыми продуктами. Если биологическая целесообразность этого явления поддается логическому объяснению, то молекулярные механизмы поразительной устойчивости ядообразующих животных к своему яду (например фугу к тетродотоксину) не раскрыты. Между тем сравнительный анализ действия селективных ядов на чувствительные и устойчивые к ним биосистемы – один из путей к расшифровке интимных сторон их молекулярной организации. Несколько замечаний о ядовитости ценных в пищевом отношении рыб. Вопрос этот особенно актуален в связи с наблюдаемым демографическим «взрывом» и все более ощутимом дефиците источников пищевого белка. Поэтому методы профилактики сигуатеры, а также отравлений тунцами, сельдевыми, осетровыми, лососевыми и другими видами съедобных рыб приобретают особую значимость. В решении этих вопросов большую роль играют исследования биологии и экологии потенциально ядовитых рыб, токсичность которых часто носит вторичный характер в результате инфицирования динофлагеллатами (сигуатеровые рыбы) или микроорганизмами (осетровые и др.). Кроме того, необходимо развивать и совершенствовать быстрые и эффективные методы инструментального скрининга (например радиоиммунный анализ) для выявления ядовитых рыб.

## АМФИБИИ (Amphibia)

И сказал Господь Моисею: скажи Аарону:  
прости руку твою с жезлом твоим на реки,  
на потоки и на озера и выведи жаб на землю Египетскую.  
Аарон простер руку свою на воды Египетские;  
и вышли жабы и покрыли землю Египетскую.

*Исх. 8:5,6*



Э. Геккель, 1904

## 16.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АМФИБИЙ

Земноводные или Amphibia<sup>145</sup> – класс позвоночных четвероногих животных, в числе прочих включающий тритонов, саламандр, лягушек и червяг. Термин *амфибии* первоначально использовался как общее определение для животных, которые могут жить на суше и в воде, в том числе тюленей и выдр. Пережив эпоху своего расцвета в каменноугольном и пермском периодах, амфибии представлены в современной фауне более 6700 (по другим данным – около 5000) современными видами, что делает этот класс сравнительно немногочисленным. В России обитают 28 видов. Традиционно класс Амфибий включает в себя всех четвероногих позвоночных, которые не являются амниотами. Амфибии в самом широком смысле (*sensu lato*) были разделены на три подкласса, два из которых являются вымершими. К земноводным относят всех четвероногих с личиночной стадией развития, а группу, которая включает в себя общих предков всех живых земноводных и всех их потомков, принято называть беспанцирными. Таким образом, все современные амфибии находятся в составе подкласса Беспанцирные (*Lissamphibia*) и включают следующие отряды:

- Отряд Бесхвостые (*Anura* – лягушки и жабы): с юрского периода по настоящее время – 5602 текущих вида в 48 семействах.
- Отряд Хвостатые (*Caudata*, или *Urodela* – саламандры, тритоны): с юрского периода по настоящее время – 571 текущий вид в 10 семействах.
- Отряд Безногие (*Gymnophiona*, или *Apoda* – червяги): с юрского периода по настоящее время – 190 текущих видов в 10 семействах.

Отделившись от кистеперых рыб в среднедевонское время (около 320 млн лет назад), амфибии до сих пор носят в себе черты строения, свойственные водным и наземным позвоночным, что соответствует их адаптации к жизни на грани двух сред: водной и воздушно-наземной. Размножение и развитие у большинства видов происходит в водной среде, а взрослые особи обитают на суше.

Все земноводные имеют гладкую тонкую кожу, сравнительно легко проницаемую для жидкостей и газов. Строение кожи характерно для позвоночных животных: выделяется многослойный эпидермис и собственно кожа (кориум). Кожа богата кожными железами, выделяющими слизь. У некоторых слизь может быть ядовитой или облегчающей газообмен. Кожа является дополнительным органом газообмена, снабжена густой сетью капилляров, через нее же частично выделяются продукты обмена. Голая кожа амфибий всегда увлажнена из-за выделения секрета многочисленных кожных желез и испарения через нее воды. Это имеет значение и для дыхания земноводных, так как кожа у них является дополнительным органом дыхания.

В жизненном цикле земноводных четко выделяются четыре стадии развития: яйцо, личинка (головастик), период метаморфоза, взрослая особь.

Большинство земноводных проводит жизнь во влажных местах, чередуя пребывание на суше и в воде, однако есть некоторые чисто водные виды, а также виды, проводящие жизнь исключительно на деревьях. Недостаточная приспособленность земноводных к обитанию в наземной среде обуславливает резкие изменения их образа жизни в связи с сезонными изменениями условий существования. Земноводные способны впадать в длительную спячку при неблагоприятных

---

<sup>145</sup> Слово «амфибия» происходит от древнегреческого ἀμφίβιος (*amphíbios*), что означает «оба вида жизни», ἀμφί значит «обоих видов» и βίος значит «жизнь».



условиях (холод, засуха и т.п.). У некоторых видов активность может меняться с ночной на дневную при понижении температуры ночью. Земноводные активны только в тёплых условиях. При температуре  $+7 - +8^{\circ}\text{C}$  большинство видов впадают в оцепенение, а при  $-1^{\circ}\text{C}$  – погибает. Но некоторые земноводные способны переносить длительное замораживание, пересыхание, а также регенерировать значительные утраченные части тела.

Яды амфибии широко распространены в природе и часто служат различным организмам для химической защиты. Эти яды либо продуцируются *de novo*, либо поступают в организм по пищевым цепям. Среди позвоночных амфибии отличаются наличием гранулированных кожных желез, в которых содержатся яды. Эти соединения включают амины, пептиды, белки, стероиды, водо- и жирорастворимые алкалоиды. За исключением алкалоидов, большинство ядов, по-видимому, продуцируются амфибиями *de novo*. Кожные железы амфибий содержат большое количество структурных классов алкалоидов, ранее в природе не известных. К ним относятся батрахотоксины, которые в последнее время обнаружены и у птиц, гистрионикотоксины, гефиротоксины, декагидрохинозолины, пумилиотоксины, гомопумилиотоксины, эпибатидины, самандарины. Некоторые алкалоиды амфибий имеют трофическое происхождение и продуцируются мелкими членистоногими. К ним относятся индолизидиновые и пирролизидиновые алкалоиды, продуцируемые муравьями, трициклические кокцинеллины из жуков и пирролизидиновые оксими, возможно из многоножек. Источники других алкалоидов кожи амфибий, включая батрахотоксины, декагидрохинозолины, гистрионикотоксины, пумилиотоксины и эпибатидины, неизвестны, но есть предположение, что источником могут быть орибатидные клещи. Не исключено, что их продуцентами являются симбиотические микроорганизмы либо другие неизвестные пока источники. Некоторые исследователи полагают, что многие биологические вещества амфибий следует характеризовать скорее как «вредные» (*poxius*), чем «ядовитые» (*poisonous*), хотя в высоких дозировках они, несомненно, являются ядами. Среди земноводных нет вооруженных активно-ядовитых животных, обладающих специальным аппаратом для введения яда в тело жертвы или врага. Слюнные железы амфибий выделяют секрет, вообще лишенный пищеварительных ферментов. Но в связи со специфической функцией кожи как органа дыхания, у многих амфибий сильное развитие получили кожные железы, секрет которых обладает у *Caudata* и *Anura* в ряде случаев сильным токсическим действием. Кроме того, секрет кожных желез обладает антимикробным действием и защищает влажную кожу амфибий от заселения микроорганизмами. Химизм биологически активных веществ у земноводных характеризуется видоспецифичностью. Так, индолалкиламины обычно встречаются в больших количествах у жаб, фенольные амины – у лептодактилид, вазоактивные пептиды в большом количестве характерны для квакш, особенно рода *Phylomedusa*. Индолалкиламины и буфодиенолиды обычны в паротидах жаб и их кожных железах, а также в коже родственных видов ателопов и возможны у *Dendrophryniscus* и *Melanophryniscus*. Водорастворимый алкалоид тетродотоксин встречается у тритонов, жаб рода *Brachycephalus* и *Atelopus*. Липофильные алкалоиды найдены у саламандр, дендробатид и др. Однако более 70 родов амфибий, относящихся к 11 семействам, не имеют алкалоидов в своей коже.

### 16.1.1. Отряд Хвостатые (Caudata)

Среди хвостатых земноводных наиболее изучен яд некоторых саламандр (Salamandridae). К этому семейству относят около 40 видов, распространенных в Евразии, Северной Африке и Северной Америке. Огненная, или пятнистая саламандра *Salamandra salamandra* (рис. 16.1А), обитающая в странах Средиземноморья, также встречается в предгорных и горных лесах Карпат, где держится в увлажненных местах, чаще по берегам ручьев и речек. Общая длина ее не превышает 30 см, а окраска состоит из сочетания блестяще-черного фона с ярко-желтыми или оранжевыми пятнами, размер и форма которых весьма изменчивы. Такой характер окраски относят к апосематическому (предостерегающему) типу. И действительно, по бокам головы этого животного располагаются паротидные (надлопаточные) железы, выделяющие токсический секрет.



Рис. 16.1. Хвостатые амфибии: А – саламандра (*Salamandra salamandra*); Б – тритон (*Taricha torosa*) (Wikipedia Commons)

Из других ядовитых представителей данного семейства заслуживает упоминания еще один – калифорнийский тритон *Taricha torosa* (рис. 16.1Б), встречающийся в лесах у тихоокеанского побережья Северной Америки.

### 16.1.2. Отряд Бесхвостые (Anura)

Из представителей отряда бесхвостых наиболее изучен яд некоторых жаб (сем. Bufonidae), древолазов (сем. Dendrobatidae) и жерлянок (сем. Alytidae).

**Семейство Bufonidae.** Обыкновенная, или серая жаба *Bufo bufo* (рис. 16.2А) встречается в Северо-Западной Африке и на значительной территории Евразии, вплоть до 65° с. ш., а на восток – до Кореи и Японии. Предпочитает различные леса, хотя обитает и в степной зоне. Обыкновенная жаба – самая крупная из жаб нашей фауны (ее длина до 20 см), окрашена сверху в бурый цвет, снизу – в грязно-белый (окраска, впрочем, весьма изменчива в разных частях ареала).

Не менее широко распространена зеленая жаба *Bufo viridis*. Ареал вида охватывает Северную Африку (включая северную часть пустыни Сахара), Европу к востоку от Франции и к югу от Скандинавии (кроме самого юга Швеции), Переднюю Азию на юг до Аравийского полуострова и на восток до Пакистана. Зеленая жаба – значительно более сухолюбивый и теплолюбивый вид, чем серая жаба. Она способна выносить большие потери воды, приспособлена к жизни в очень засушливых условиях пустынь, где может быть обнаружена далеко от воды. Верхняя часть тела светло-серая, иногда бежевая или зеленоватая, с крупными

четко очерченными темно-зелеными пятнами различной формы, а также с красными точками (часто на вершине бугорков) или без них. Иногда вдоль спины проходит светлая полоска. Низ тела беловатый, с пятнами или без них.

**Семейство Dendrobatidae.** Древолазы – бесхвостые земноводные. Представители обитают в дождевых лесах Центральной и Южной Америки. Некрупные амфибии, достигающие размеров от 1.5 до 6, реже 7–8 см, которых можно разделить на две группы: ночных, обладающих тёмным защитным окрасом, и дневных – обладающих ядовитым кожным секретом и яркой предупреждающей окраской. В семействе выделяются два рода: Листолазы (*Phyllobates*) с пятью видами и Древолазы (*Dendrobates*) с 47 видами (рис. 16.2Б–Г). Распространены только в Центральной и Южной Америке: от юга Гондураса до Перу, севера Парагвая, Боливии и Бразилии до 20° южной широты. Встречаются от низменностей дождевых лесов до полупустынных и нагорных редколесий. Голова древолазов пирамидальной формы, нос усечен, между глазами впадина, а сами глаза, расположенные по бокам головы, выступают лишь слегка.



А



Б



В



Г

Рис. 16.2. Бесхвостые амфибии: А – жаба обыкновенная *Bufo bufo* (фото М.В. Пестова), Б – изящный древолаз *Dendrobates histrionicus*, В – ужасный листолаз *Phyllobates terrificus*; Г – двухцветная филломедуза *Phyllomedusa bicolor* (Wikipedia Commons)



Рис. 16.3. Змея *Leimadophis epinephelus* (Wikipedia Commons)

Язык удлинённый, не имеющий выемки. Большой частью рот беззубый; у двухцветного листолаза (*Phyllobates bicolor*) из Перу на верхней челюсти имеются мелкие зубки. Туловище стройное, с гладкой кожей. Тонкие конечности относительно коротки. Присоски на пальцах передних ног больше, чем на пальцах задних. Древолазы ведут дневной образ жизни, особенно активны в утренние и сумеречные часы. Самцы крупнее самок или оба равны по размерам. Некоторые виды держатся на земле, куда не проникают лучи солнца, но иногда могут карабкаться очень высоко.

Однако у этих амфибий есть естественный враг – небольшая змея – костариканский леймадофис *Leimadophis epinephelus* (рис. 16.3), которая питается молодыми листолазами. Возможно, что слюна змеи обеспечивает детоксикацию яда листолазов.

**Сем. Alytidae.** Круглоязычные, или дискоязычные (Alytidae) – семейство бесхвостых земноводных. Ареал семейства охватывает Западную Европу, Северо-Западную Африку, Израиль и, возможно, Сирию. Наиболее изучены жерлянки, или «уки»<sup>146</sup> (род *Bombina*). Длина тела до 6–7 см. Барабанные перепонки отсутствуют, зрачки треугольные. Между пальцами задних лапок – плавательные перепонки. Кожа бугристая, сверху грязно-зелёная или буровато-серая, снизу – жёлтая или красная, с тёмными пятнами, насыщена ядовитыми железами (рис. 16.4). В роде 6 видов, обитающих в Европе, Турции, Северной и Восточной Азии. На территории России – 2 вида. В Европейской части России, на севере до 58° с. ш., водится краснобрюхая жерлянка (*Bombina bombina*), обитающая на равнинах в зоне степей, широколиственных и смешанных лесов. Желтобрюхая жерлянка (*Bombina variegata*) включена в категорию LC Красного списка МСОП. Она обитает на большей части Южной и Центральной Европы в ручьях, болотах, реках, озёрах, водохранилищах, на высоте 100–2100 м над уровнем моря. Была занесена в Великобританию, однако достоверно не известно, сохранились ли там популяции жерлянки.

<sup>146</sup> Брачные песни жерлянок («уканье») слышны днём.



Рис. 16.4. Жерлянки: А – краснобрюхая жерлянка *Bombina bombina*; Б – желтобрюхая жерлянка *Bombina variegata*

Дальневосточная жерлянка (*Bombina orientalis*) населяет кедрово-широколиственные леса на юге Дальнего Востока. Эти животные большую часть жизни проводят в водоёмах, обычно на хорошо прогреваемых мелководьях. Питаются жерлянки в основном водными беспозвоночными, но в некоторых частях своих ареалов они едят и наземных животных (жуков, двукрылых, дождевых червей). Активны обычно днём. Зимовку проводят на суше, в норах, ямах и под постройками. Размножение происходит в воде. Самка откладывает на подводные растения от 80 до 300 икринок.

### 16.1.3. Ядовитый аппарат амфибий

Ядовитые железы амфибий представлены паротидами – скоплением кожных желез, расположенных в околушной области (иногда их называют надлопаточными железами). Ядовитые железы имеют альвеолярное строение, типичное для амфибий. Каждая альвеола имеет выходное отверстие наружу, закрытое эпителиальной пробкой (рис. 16.5). В железе содержится 20–30 альвеол. Стенки альвеол состоят из секреторного эпителия. В процессе деления секреторных клеток дочерние клетки вытесняются в просвет железы и там распадаются, образуя вязкий белый секрет, имеющий специфический запах миндаля или чеснока.

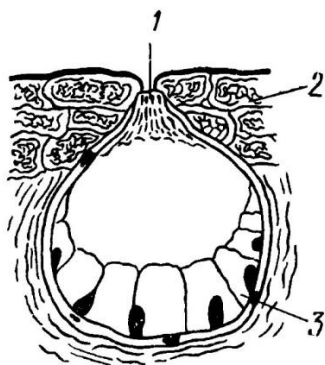


Рис. 16.5. Ядовитая железа жабы (Захаров, 1960):  
1 – слизистая пробка,  
2 – эпидермис,  
3 – железистая клетка

Накапливающийся секрет тормозит деление секреторного эпителия, но после опорожнения железы секреция возобновляется вновь. Так, например, сформировавшиеся железы жабы содержат до 70 мг ядовитого секрета. Мелкие кожные железы в отличие от паротид имеют открытые выводные протоки. Секрет малых желез, свободно изливающийся наружу, играет роль отпугивающего средства, а секрет паротид в основном оказывает отравляющее действие. При сдавливании железы ядовитый секрет выталкивает эпителиальную пробку и попадает в рот и глотку хищника, в результате чего может наступить общее отравление. Снаружи железа окружена эластичной соединительной тканью, но лишена собственных мышечных элементов. При сокращении мышц головы и шеи и натяжении кожи повышается давление в паротидах, эпителиальная пробка выталкивается и секрет изливается наружу.

Ядовитый секрет жаб и саламандры обычно получают путем механического выдавливания с помощью пинцета. Во избежание попадания яда на слизистые оболочки глаз, носа и рта рекомендуется надевать защитные очки и марлевые маски. Можно получить ядовитый секрет у саламандр и с помощью электрической стимуляции железы. Для этого через ванночку с дистиллированной водой, куда помещают предварительно обмытую саламандру, пропускают электрический ток напряжением 20–25 В в течение 5–10 с. Эту операцию повторяют 2–3 раза с интервалом в несколько секунд. Полученный секрет высушивают в темноте над  $\text{CaCl}_2$ . В высушенном виде он не теряет своих свойств годами. Электрическое «доение» является более щадящим по сравнению с механическим, так как после него наполнение железы наблюдается уже через 5 суток, тогда как при механическом – через 14 суток.

Индейцы Южной Америки (народность эмбера<sup>147</sup>) смазывают ядом, полученным из дендробатид, охотничьи стрелы (дротики) для духовых трубок. Для изготовления отравленных дротиков амфибию протыкают деревянной палочкой и нагревают над огнем, до появления на ее коже белой пены, содержащей яд. Затем наконечник дротика окунают в эту пену и высушивают. Отравленные дротики сохраняют свою ядовитость до 1 года.

## 16.2. ЯД БЕСХВОСТЫХ АМФИБИЙ (Anura)

Фармакологически активные компоненты яда бесхвостых амфибий представлены биогенными аминами и их дериватами, физиологически активными пептидами (бради- и тахикининами, опиоидными пептидами), гемолитическими белками, нейротоксическими алкалоидами и кардиотропными стероидами.

Представляет интерес биологическое значение этих токсинов для амфибий. Так, у листолазов (*Phyllobates*) наблюдается корреляция между яркой отпугивающей окраской и содержанием в их коже токсинов. В то же время близко родственные амфибии рода *Colostethus*, обладающие монотонной окраской, лишены токсических свойств. С другой стороны, у панамской дендробатиды *Dendrobates pumilio*, окраска которой колеблется от темно-голубой до красной, также найдены

---

<sup>147</sup> Эмбера, или эпера, – индейский народ, живущий на западе Колумбии, на севере Эквадора, на востоке Панамы и на юге Коста-Рики. Общая численность составляет около 70000 человек.

токсические алкалоиды. Эксперименты с дендробатидами показали, что питающиеся амфибиями змеи, такие как *Rhadinaea*, сразу же отказываются от дендробатид и активно пытаются очистить свою пасть.

Содержание серотонина в коже амфибий зависит от их местообитания. Так, у амфибий, ведущих полусухопутный образ жизни, содержание этого биогенного амина выше, чем у водных форм, что может иметь защитное значение.

Жабы рода *Bufo*, имеющие монотонную окраску, являются сухопутными животными и, как уже указывалось, обладают паротидами, которые могут выбрызгивать свое содержимое при надавливании. У жаб фармакологически активные вещества паротид включают кардиотонические буфодиенолиды, различные 5-гидроксииндольные производные и адреналин. Очевидно, такая смесь физиологически активных веществ хорошо защищает жаб.

Потрясенные жерлянки прогибают спину, выворачивают конечности, демонстрируя яркую окраску брюшка. Это оборонительное поведение, характерное для жерлянок, встречается также у ряда других видов амфибий, но получило название «рефлекс жерлянки». Показ ярких частей тела должен, по-видимому, предупредить нападающего о ядовитости. Ядовитый пенистый секрет кожных желёз и предупреждающая окраска предохраняют жерлянку от хищников, таких как змеи. В кожных выделениях содержится гемолитический агент – фринолизин, обнаруженный еще в начале прошлого века. При попадании ядовитой слизи жерлянок на слизистые оболочки человека он ощущает боль, жжение, иногда – озноб и головную боль.

Рассмотрим подробнее химический состав и механизмы действия биологически активных веществ амфибий.

### 16.2.1. Биогенные амины

Этот класс веществ встречается у многих амфибий. Содержание аминов иногда доходит до 100 мг/г кожи, а их качественный состав может быть основой для химической таксономии амфибий. Наиболее типичными являются серотонин и его N-метильные дериваты: N-метилсеротонин, буфотенин и буфотенидин. Этот тип соединений найден у квакш *Hyla*, свистунов *Leptodactylus*, лягушек *Rana*, жаб *Bufo*, причем у *L. pentadactylus* и *H. pearsoniana* уровень 5-гидроксииндолэтиламина может достигать 1–10 мг/г кожи. Эти соединения найдены также и у других амфибий: *Rhinoderma*, *Odontophrynus*, *Discoglossus*, *Bombina*, *Xenopus*, *Pleurodema*. У жаб наблюдается широкий спектр этих аминов – дегидробуфотенин, его сернокислый эфир буфотионин и др. Фенольный четвертичный амин – лептодактилин – найден у бесхвостых амфибий *Pleurodema*, *Leptodactylus*. В кожном секрете жаб найдены адреналин, в меньших количествах – норадреналин и дофамин. Гистамин, N-метилгистамин, N-ацетилгистамин и N-диметилгистамин обнаружены у *Leptodactylus* и *Hyla*.

Галлюциноген буфотенин (5-гидрокси-N,N-диметилтиптамин) – вещество класса триптамина (рис. 16.6). Структурно схож с серотонином – важным нейротрансмиттером головного мозга млекопитающих, а также родственен таким веществам-алкалоидам как псилоцин, диметилтриптамин. Содержится в большом количестве в яде колорадской жабы (*Bufo alvarius*), тростниковой жабы (*Bufo marinus*) и др.

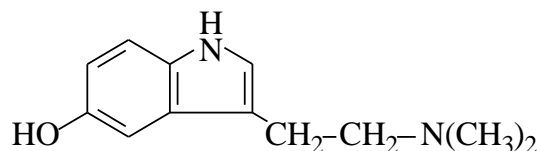


Рис. 16.6. Буфотенин

Заметим, что буфотенин содержится в семенах *Anadenanthera peregrina* (*Piptadenia peregrina*), грибах *Amanita mappa* и *Amantia muscaria*. Из семян *Anadenanthera peregrina*<sup>148</sup> аборигены Перу и Гаити изготавливают порошок, называемый «йопо». Кора и семена растений содержат буфотенин, диметилтриптамин, 5-метоксидиметилтриптамин и другие производные триптамина. Этот порошок употребляется ими интраназально при религиозных церемониях и для колдовства. Доза буфотенина, вызывающая психоделический эффект, варьируется от 5 до 100 мг, в зависимости от способа введения. В дозе 2 мг буфотенин вызывает лишь лёгкие соматические нарушения. Увеличение дозы до 16 мг (при быстром введении) приводит к тошноте, рвоте, мидриазу, нистагму, незначительному повышению пульса и артериального давления. Кроме того, при такой дозировке происходят перцептивные изменения, меняется чувство времени и пространства, появляются лёгкие зрительные галлюцинации, становится трудно выражать мысли. У больных шизофренией буфотенин вызывает кратковременное усиление заикности и небольшие соматические нарушения. У человека выделяется с мочой.

### 16.2.2. Пептиды и белки

Большая группа фармакологически активных пептидов, в том числе брадикинин, физалемин, церулеин и другие, найдены в коже различных амфибий.

#### Физиологически активные пептиды из кожи амфибий

##### Брадикинины

Брадикинин	R-P-P-G-F-S-P-F-R
Ранакинин R	R-P-P-G-F-T-P-F-R-I-A-P-E-I-V
Филлокинин	R-P-P-G-F-S-P-F-R-I-Y (SO <sub>3</sub> H)
Бомбинакинин O	R-P-P-G-G-F-S-P-F-R-K-F-H

##### Тахикинины

Филломедузин	pE-N-P-N-R-F-I-G-L-M-NH <sub>2</sub>
Физалемин	pE-A-D-P-D-L-F-Y-G-L-M-NH <sub>2</sub>
Уперолеин	pE-P-D-P-D-A-F-Y-G-L-M-NH <sub>2</sub>
Бомбезин	pE-G-R-L-G-N-G-W-A-V-G-H-L-M-NH <sub>2</sub>

##### Опиоидные пептиды

Дерморфин	Y- (d) A-F-G-Y-P-S-NH <sub>2</sub>
-----------	------------------------------------

##### Антимикробные пептиды

Бомбинин	G-I-G-A-L-S-A-K-G-A-L-K-G-L-A-K-G-L-A-G-H-F-A-N
----------	---

<sup>148</sup> Анаденантера (*Anadenanthera*) – род деревьев сем. Бобовые, включающий два вида, произрастающие в Южной Америке.



**Брадикинин.** Это физиологически и фармакологически активный пептид из кининовой группы белков, состоящий из девяти аминокислотных остатков. Брадикинин расширяет кровеносные сосуды и снижает артериальное давление. Ингибиторы АПФ<sup>149</sup>, которые используются для снижения артериального давления, замедляют распад брадикинина. Брадикинин воздействует на кровеносные сосуды, высвобождая простаглицлин, оксид азота(II). Считается, что брадикинин является основным фактором, обеспечивающим болевую чувствительность, являясь плазменным алгогеном. Брадикинин и его аналоги обнаружены у *Rana esculenta* и других *Rana*.

**Тахикинины.** В отличие от брадикинина, *тахикинины* вызывают быстрое сокращение внесосудистой мускулатуры (кишечных тканей), за что и получили свое название. Например, тахикинин под названием *уперолеин* обнаружен у *Uperolei arugosa* и *U. marmorata*.

Наиболее известный тахикинин – вещество Р – нейропептид из семейства тахикининов. Обнаруживается в головном и спинном мозге, энтеральной нервной системе, щитовидной железе, в коже и мышцах. Присутствует в нейронах желудочно-кишечного тракта: в пищеводе, толстой кишке, проксимальной части тощей кишки и, в особенно большом количестве, в двенадцатиперстной кишке. Субстанция Р обладает широким спектром биологической активности: оказывает сосудорасширяющее действие, влияет на артериальное давление крови, увеличивает капиллярную проницаемость, способствует дегрануляции тучных клеток, является хемоаттрактантом для лейкоцитов, активирует синтез и высвобождение медиаторов воспаления, вызывает сокращение гладкой мускулатуры, оказывает секретогенное действие, стимулирует высвобождение пролактина и пищеварительных гормонов. Отвечает за передачу болевых импульсов в центральную нервную систему. Клетки кожи голого землекопа<sup>150</sup> лишены субстанции Р, поэтому голые землекопы не чувствуют порезов и ожогов. Однако после инъекции этого нейротрансмиттера болевые ощущения появляются.

С другой стороны, тахикинины, подобно брадикинину, вызывают вазодилатацию и падение АД. Они, в отличие от брадикинина, устойчивы к энзиматическому разрушению в малом круге кровообращения, с чем также связывают их гипотензивное действие.

*Физалемин* был впервые обнаружен у *Physalaemus fuscumaculatus*, а затем у *Ph. centralis*. Он вызывает сильную вазодилатацию и длительную гипотензию. Другой особенностью физалемина является выраженное деполяризующее дей-

---

<sup>149</sup> Ингибиторы АПФ (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента) – группа природных и синтетических химических соединений, применяющихся для лечения и профилактики сердечной (обычно в дозах, не снижающих артериальное давление) и почечной недостаточности, для снижения артериального давления, в пластической хирургии, для защиты от ионизирующих излучений. Открыты при изучении пептидов, содержащихся в яде обыкновенной жарараки (*Bothrops jararaca*). Препараты на основе ингибиторов АПФ наиболее широко используются для лечения артериальной гипертензии и сердечной недостаточности.

<sup>150</sup> Голый землекоп (*Heterocephalus glaber*) – небольшой роющий грызун семейства землекоповых. Вид отличается уникальными для млекопитающих особенностями: сложной социальной организацией колонии, холонокровностью, иммунитетом к раку в целом, нечувствительностью к некоторым формам боли (термическим ожогам и химическим ожогам кислотами), выносливостью к высоким концентрациям CO<sub>2</sub>. Является одним из самых долгоживущих грызунов (до 28 и даже 31 года).

ствие на мотонейроны кошки. Этот эффект у него в 500 раз сильнее, чем у эквивалентного раствора глутаминовой кислоты, которая известна как возбуждающий медиатор в ЦНС. Физалеминоподобные пептиды найдены также у *Physalaemus slauyi*, *Phyllomedusa rohdei* и у других видов филломедуз. Фармакологическая активность физалемина в 3–4 раза выше, чем у сходного по свойствам эледозина<sup>151</sup>.

**Церулеин** был впервые выделен из кожи австралийской белой квакши *Hyla coerulea*, а затем его аналоги были найдены у большинства видов *Hyla* и некоторых видов *Leptodactylus* и *Phyllomedusa*. Церулеин – гипотензивный агент, он также стимулирует внесосудистую гладкую мускулатуру и, кроме того, усиливает секрецию желудка и поджелудочной железы и используется в медицине в качестве диагностического инструмента при заболеваниях поджелудочной железы. Показано, что церулеин способен вызывать трансдифференциацию альфа-клеток поджелудочной железы в инсулин-продуцирующие бета-клетки, причем этот уникальный эффект (в норме альфа-клетки не трансформируются в бета-клетки) наблюдался как в эксперименте, так и у людей с диабетом 1 типа независимо от возраста. К сожалению, побочные токсические эффекты церулеина (возможность панкреатита) пока сдерживают его клиническое применение.

**Бомбезин.** Из кожи жерлянок *Bombina bombina*, *B. variegata* выделен физиологически активный пептид бомбезин, оказывающий сильное влияние на секрецию желудочного сока и желчевыделение. Любопытно, что впоследствии бомбезин был обнаружен и в мозге млекопитающих, где основная функция пептида также заключается в регуляции функций желудка. Выявлены структурные и функциональные связи бомбезина с нейромидином В и гастрин-высвобождающим пептидом в мозге крысы. В эксперименте выявлена роль бомбезина в стимуляции роста раковых клеток кишечника.

Из кожи жабы-повитухи *Alytes obstetricans* (также сем. Alytidae) выделен алитезин, имеющий среди бомбезиноподобных пептидов наиболее близкую к бомбезину структуру и являющийся его аналогом. Бомбезин и алитезин различаются двумя аминокислотными остатками во 2-м и 6-м положениях:

бомбезин	Glp-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH <sub>2</sub> ,
алитезин	Glp-Gly-Arg-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH <sub>2</sub> .

Найден бомбезин и в сыворотке крови крысы, кролика и человека. У амфибий источником бомбезина помимо кожи могут быть ткани желудочно-кишечного тракта и головной мозг.

Бомбезин – эффективный терморегулятор. Внутрижелудочковое введение бомбезина кроликам в дозе 1 мкг/кг вызывает за 1 ч снижение ректальной температуры приблизительно на 2°C. Близкий по величине эффект проявляет и алитезин.

Внутривенное введение бомбезина собакам в дозе 1 мкг/кг стимулирует секреторную функцию поджелудочной железы в течение 2 ч, что сопоставимо с секрецией, вызываемой при скармливании 100 г мяса. Алитезин при длительной инфузии в дозе 1 мкг/кг за 1 час вызывает секрецию поджелудочной железы в 5 раз слабее, чем та же доза бомбезина. Таким образом, замена в молекуле бомбезина во 2-м положении глутамина на глицин и в 6-м положении аспарагина на треонин приводит к изменению влияния на секреторную функцию поджелудочной железы. N-концевые пентапептиды бомбезина и

<sup>151</sup> См. главу 5 «Моллюски».

алитезина существенно не влияют на секреторную функцию поджелудочной железы.

Как уже указывалось, в коже жерлянок (*Bombina*) содержится агент, обладающий гемолитическим действием – *фринолизин*. Изучение гемолизинов жерлянок показало, что гемолитический белок имеет молекулярную массу ~ 87000 и, видимо, состоит из двух субъединиц с молекулярной массой ~ 42000. Есть сведения, что в белковой фракции яда жерлянок обнаружена амилазная, фосфатазная лизоцимподобная и протеолитическая активность, что расширяет имеющиеся представления о наборе физиологически активных веществ в кожных железах амфибий.

### 16.2.3. Антимикробные пептиды

Антимикробные пептиды обнаружены у всех эукариотических организмов, в том числе у млекопитающих, насекомых, земноводных, и являются интегральной частью их врожденной иммунной системы. Катионные антимикробные пептиды (КАП) – класс макромолекулярных пептидных антибиотиков с широким спектром антимикробного действия. Отличительные черты КАП – суммарный положительный заряд и амфифильность, которые обеспечивают основной механизм действия КАП: нарушение целостности биомембран и лизис клеток. Такие антимикробные гемолитические пептиды, состоящие из 24 аминокислотных остатков, – *бомбинины* – были выделены из кожи жерлянки *Bombina variegata*:

G-I-G-A-L-S-A-K-G-A-L-K-G-L-A-K-G-L-A-E-H-F-A-N.

Некоторые из этих пептидов содержат D-алло-изолейцин вместо изолейцина.

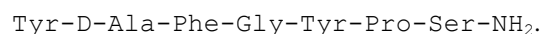
Дальнейшее изучение позволило выделить из кожи *Bombina variegata* фракцию пептидов, также обладающих антимикробной активностью и хотя родственных, но не идентичных бомбинину. Они состоят из уже 27 аминокислотных остатков, имеют константную С-концевую область (остатки 14–27) и переменный N-терминальный сегмент. Методами генной инженерии получены рекомбинантные пептиды, обладающие антимикробной активностью в отношении *Staphylococcus* sp. и *Escherichia coli*. Антимикробные пептиды амфибий могут стать эффективным средством борьбы с госпитальными инфекциями, которые не поддаются лечению антибиотиками. Исследования *темпооринов* А, В и G (из кожи травяной лягушки *Rana temporaria*), *эскулентина* 1b (из кожи прудовой лягушки *Rana esculenta*), и *бомбинина* (*Bombina variegata*) показали их высокую антибактериальную активность. При этом все темпорины эффективнее действовали на культуры грамотрицательных бактерий, тогда как бомбинин 2 был одинаково активен для всех видов микробов, что делает его наиболее перспективным.

Получен также рекомбинантный бинарный вектор с геном антимикробного пептида бомбинина (bom), с помощью которого проведена агробактериальная трансформация растений табака. Присутствие гена bom в геноме растений подтверждено методом ПЦР. Экспрессия гена bom в трансгенных растениях показана по ингибированию роста фитопатогенных бактерий *Erwinia carotovora* экстрактами трансформированных растений. Трансгенные растения имели нормальный фенотип. Таким образом, впервые получены трансгенные растения с геном бом-

бинина, обладающие высокой антибиотической активностью по отношению к фитопатогену *Erwinia carotovora*.

#### 16.2.4. Опиоидные пептиды<sup>152</sup>

Из кожи *Phyllomedusa sauvagei* выделен новый класс сильных опиоидных пептидов – *дерморфины*, обладающие уникальной структурой и наиболее высокой и продолжительной анальгетической активностью. Сильный анальгетический эффект объясняется высоким сродством дерморфинов к опиоидным рецепторам. Исследования химической структуры дерморфина показали, что это гептапептид с необычной для пептидов небактериального происхождения особенностью строения – присутствием аминокислотного остатка в D-конфигурации:



Дерморфин имеет более 300 природных и синтетических аналогов, обладающих различной активностью. Общим в первичной структуре всех природных дерморфинов является наличие N-концевой последовательности Tyr-D-Ala-Phe, в которой между двумя ароматическими кольцами Tyr и Phe присутствует остаток D-Ala. Установлено, что в экстрактах кожи лягушек присутствует только [D-Ala<sup>2</sup>]-дерморфин. Это один из немногих примеров включения D-аминокислоты в природную полипептидную цепь, причем замена ее на левовращающий изомер (L-аланин) ведет к потере активности.

Наиболее важными аминокислотными остатками в молекуле пептида являются Tyr<sup>1</sup> и Phe<sup>3</sup>: при их замене на другие аминокислотные остатки получаются менее активные аналоги, нежели исходный пептид. Дерморфины представляют большой интерес как с точки зрения их уникального строения, так и возможности их модификации и практического использования. Микроинъекции дерморфина (6 нмоль) крысам снижают порог индуцирования эпилептического приступа. На модели холодового стресса выявлено, что дерморфин (экспрессия мю-опиоидных рецепторов), но не дельторфин (дельта-рецепторы) обуславливает адаптационные реакции гипофиз-адреналовой системы, что приводит к высвобождению кортикостерона и бета-эндорфина.

Анальгетическая активность дерморфина в 11 раз больше, чем у морфина (рис. 16.7), а также превышает специфическую активность лей-энкефалина и мет-энкефалина. Два последних пептида относятся к эндогенным опиоидоподобным пептидам, обнаруженным в организме человека и животных.

---

<sup>152</sup> Опиоидные пептиды (opioid peptides) – большая группа физиологически активных пептидов с выраженным сродством к рецепторам опиоидного (морфинного) типа (мю-, дельта-, каппа-), давшая основание к введению понятия «нейропептиды». Эти пептиды, обладающие чрезвычайно широким спектром регуляторной активности, обнаружены в различных тканях – как в мозге, так и на периферии. В группу опиоидных пептидов, помимо широко известных энкефалинов и эндорфинов, входят пептиды группы динорфина, казоморфина, а также дельторфины, дерморфины и др.

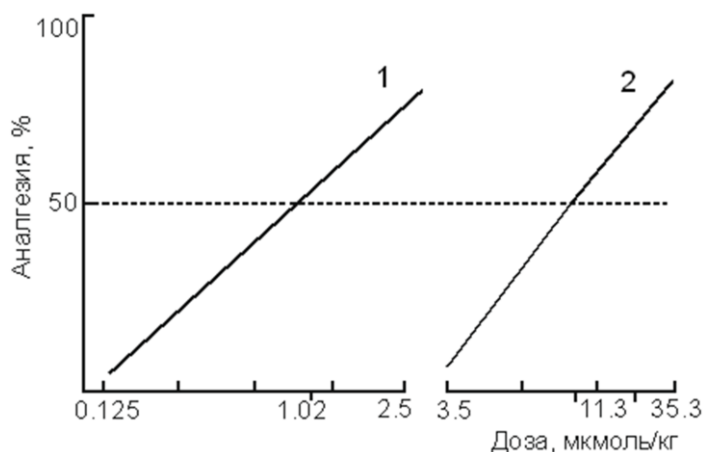
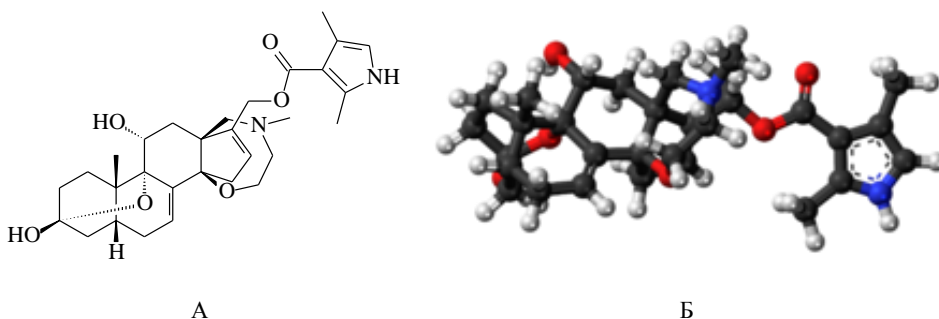


Рис. 16.7. Сравнение анальгезирующей активности дерморфина из кожных желез *Phyllomedusa sauvagei* (1) и морфина (2) при внутривенном введении мышам, оцениваемой по тесту «горячей пластинки» (Brokkardo et al., 1981)

### 16.2.5. Нейротоксические алкалоиды

**Батрахотоксин.** Систематическое изучение ядовитых неотропических лягушек началось в 1869 г., но только спустя почти 100 лет был выделен в чистом виде токсин, получивший название *батрахотоксин* (ВТХ). Впервые в 1962 г. ВТХ был выделен из кожных желез колумбийской лягушки (было собрано около 1000 особей) *Phyllobates aurotaenia*. Поскольку при транспортировке яд погибших животных разрушался, пришлось разработать специальный метод получения яда в полевых условиях. Батрахотоксин является эфиром батрахотоксинина А (derivata стероида прегнина) с 2,4-диметилпиррол-3-карбоновой кислотой (рис. 16.8). Представляет собой кристаллическое вещество, растворимое в полярных органических растворителях, нерастворимое в воде. Разлагается в сильнощелочных средах. В 1998 г. был получен синтетический батрахотоксин, причем его активность ( $DL_{50} \sim 1$  мкг/кг) не уступает природному ( $DL_{50} \sim 2$  мкг/кг).



16.8. Батрахотоксин: А – структура молекулы, Б – 3D-изображение

Естественная среда обитания древолазов – теплые регионы Центральной и Южной Америки, где влажность составляет около 80 процентов. В природе ВТХ содержится в коже 5 видов неотропических древолазов рода *Phyllobates*, обитающих на юге Центральной Америки и северо-западе Южной Америки, три из которых обитают в Колумбии. Из трех видов древолазов, выделяющих батрахотоксин (*Phyllobates terribilis*, *Phyllobates aurotaenia* и *Phyllobates bicolor*), наиболее токсичными являются *Phyllobates terribilis*.

До настоящего времени ведутся дискуссии относительно способа накопления батрахотоксинов в организмах древолазов. По одной из версий, он может содержаться в некоторых специфических продуктах, поглощаемых древолазами в природной среде обитания. Действительно, 1992 году было обнаружено, что токсин содержится в коже и перьях некоторых птиц, обитающих в Новой Гвинее, например двухцветной дроздовой мухоловки (*Pitohui dichrous*, *Pitohui kirhocephalus*, сем. Pachycephalidae), эндемика Новой Южной Гвинеи, а затем в 2000 г. – у синеголовой ифриты (*Ifrita kowaldi*)<sup>153</sup>. Было выдвинуто предположение, что позвоночные не продуцируют батрахотоксины *de novo*, а получают их по пищевым цепям. Поиски продуцентов ВТХ привели к успеху в 2004 г., когда батрахотоксин был обнаружен у жуков *Choresine* sp.<sup>154</sup> (сем. Melyridae), которые служат пищей ядовитым птицам Новой Гвинеи и, в частности, обнаружены в желудке дроздовой мухоловки. Принимая во внимание космополитическое распространение жуков сем. Melyridae, предполагается, что они могут служить источниками батрахотоксинов и у дендробатид Центральной Америки.

По другим версиям, яд может синтезироваться самими древолазами или бактериями-симбионтами. Однако о биосинтезе ВТХ известно мало. Полагают, что он и примерно 100 других менее токсичных и структурно подобных алкалоидов дендробатид продуцируются в гранулах «ядовитых» желез, имеющих морфологическое сходство у всех дендробатид. Содержание ВТХ в коже различных дендробатид значительно колеблется от неопределяемых значений до 1.9 мг на особь. Так, в популяциях панамской *P. lugubris* и костариканской *P. vittatus* амфибий содержание ВТХ не превышает 0.8 мкг. Наибольшее количество ВТХ наблюдается у *P. aurotaenia*, *P. bicolor*, *P. terribilis*. Последняя обитает в Западной Колумбии, где этих лягушек с древнейших времен использовали как природный источник яда для приготовления отравленных стрел и дротиков. К сожалению, эффективные антитоды против ВТХ не известны, за исключением ТТХ. Однако высокая токсичность последнего затрудняет его использование с терапевтическими целями. В коже взрослой *P. terribilis* длиной менее 50 мм может содержаться до 1.9 мг ВТХ. Из 5000 лягушек *P. aurotaenia* в среднем можно получить 11 мг ВТХ.

Большой интерес представляет природный иммунитет *Phyllobates*. Альвеолы кожных желез, очевидно, обеспечивают хранение ВТХ и предотвращают его распространение по организму. При нападении хищника даже небольшое повреждение тонкой кожи лягушки при условии высокой концентрации токсина может привести к аутоинтоксикации. Однако, как показали специальные исследования, мышцы и нервы *Phyllobates* нечувствительны к действию ВТХ, тогда как ткани *Rana pipiens*, *Dendrobates histrionicus* весьма чувствительны к этому токсину.

Содержание ВТХ в коже *Phyllobates* меняется при содержании лягушек в неволе. Так, в момент отлова среднее содержание ВТХ (в мкг) составляло 1140, че-

---

<sup>153</sup> Подробней об этих птицах см. главу 23.

<sup>154</sup> См. главу 12.

рез 1 год – 540, через 3 года – 320 и через 6 лет – 250. Но даже эти цифры значительно выше, чем у некоторых других лягушек. Маловероятно, что ВТХ так долго (в течение 6 лет) просто хранится в железах. Очевидно все же происходят его метаболические превращения (синтез и распад), но интенсивность метаболизма может быть снижена в связи с неадекватностью условий содержания в неволе. Интересно отметить, что выведенные в неволе две особи *P. terribilis* были относительно нетоксичны. Тем не менее, мышцы и нервы у потомства первого поколения, так же как и ткани токсичных особей, были устойчивы к действию ВТХ. Можно предположить, что устойчивость натриевых каналов к токсину в данном случае связана с модификацией их рецепторного участка, причем эта модификация находится под генетическим контролем, а не является следствием десенситизации в результате постоянного воздействия токсина.

Механизм действия ВТХ связан со стойким и необратимым повышением проницаемости покоящейся мембраны для ионов натрия. Это повышение натриевой проницаемости связано с появлением модифицированных каналов, которые характеризуются отсутствием инактивации во время деполяризации мембраны. Кроме того, модифицированные каналы практически полностью открыты при потенциале покоя для интактного волокна.

Действие ВТХ связывают с модификацией свойств «воротного механизма», регулирующего проницаемость натриевого канала. Под действием ВТХ в модифицированных каналах блокируется работа инактивационных ворот. Изменяется также режим работы и активационных ворот, которые остаются открытыми при значениях потенциала на мембране ниже -70 мВ, когда интактные каналы находятся в закрытом состоянии. В настоящее время ВТХ – один из самых мощных «инструментов» в изучении функции натриевых каналов возбудимых мембран.

При системном введении ВТХ обладает сильным кардиотоксическим действием, вызывая экстрасистолии, желудочковую фибрилляцию и смерть. Батрахотоксин оказывает также паралитическое действие на дыхательную мускулатуру, сердечную мышцу и мышцы конечностей. Попадая в кровь через слизистую оболочку, рану или трещину в коже, яд вызывает аритмию (экстрасистолию), ведущую к остановке сердца, в результате которой наступает летальный исход.

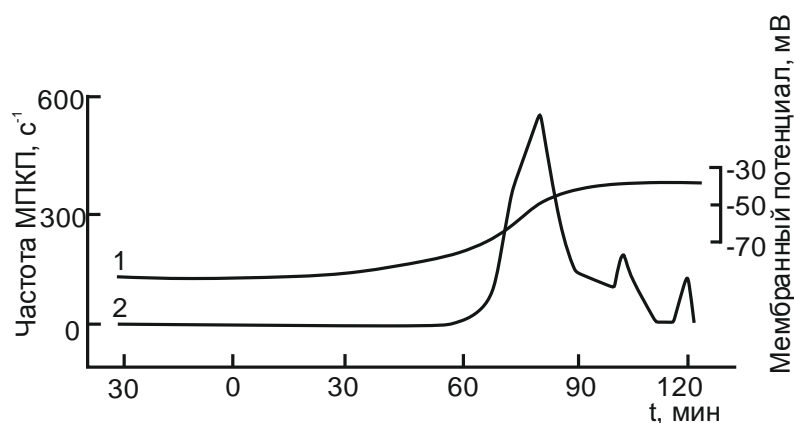


Рис. 16.9. Влияние батрахотоксина ( $10^{-8}$  моль/л) из кожных желез *Phylllobates aurotaenia* на мембранный потенциал (1) и частоту МПКП (2) диафрагмы крысы (Janson et al., 1974)

На изолированных нервно-мышечных препаратах характерным эффектом ВТХ является начальное увеличение частоты миниатюрных ПКП (с 6–8 до 600 с<sup>-1</sup>) с последующим блоком синаптической передачи. Это действие ВТХ зависит от температуры и ускоряется в 2 раза при ее повышении от 28 до 37°C. Одновременно наблюдается деполяризация мышечной мембраны, обусловленная увеличением ее Na<sup>+</sup>-проницаемости (рис. 16.9). К особенностям ВТХ относится его свойство блокировать быстрый аксональный транспорт, оцениваемое по скорости передвижения по аксону радиоактивного лейцина. Эти данные указывают на сложный характер нейротропного действия ВТХ.

**Гистрионикотоксины.** Семейство спиропиперидиновых алкалоидных токсинов, имеющих боковые цепи с ацетиленовыми, олефиновыми и аллениновыми группами – *гистрионикотоксинов* (НТХ) выделено из кожи колумбийской лягушки *Dendrobates histrionicus*. В 1971 г. из экстракта кожи 1110 амфибий были получены 200 мг смеси шести алкалоидов, для двух из которых (НТХ 283А (рис. 16.9) и НТХ 285А) впервые была установлена структура. Гистрионикотоксины известны в природе у дендробатид, относящихся к родам *Phyllobates*, *Dendrobates*, *Epidobates*.

В настоящее время известна структура 15 природных гистрионикотоксинов; кроме того, получены четыре синтетических деривата.

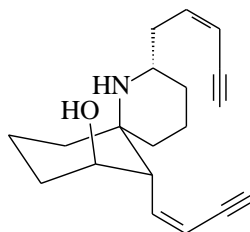


Рис. 16.10. Гистрионикотоксин (НТХ 283А) из *Dendrobates histrionicus*

Гистрионикотоксин сравнительно низкотоксичен и в дозе 5 мг/кг вызывает небольшое снижение двигательной активности у мышей. Гистрионикотоксины – мощные неконкурентные блокаторы нервно-мышечных передачи, а также ганглионарных и центральных Н-холинорецепторов. Действие гистрионикотоксина обратимо, он блокирует действие ацетилхолина на Н-холинорецепторы скелетных мышц позвоночных и электрических органов *Torpedo* (рис. 16.11). От других известных нейротоксинов этот токсин отличается наличием в его молекуле ацетиленовых групп. Изучение механизма действия гистрионикотоксина показало, что он и его аналоги высокоспецифично взаимодействуют с белковой фракцией из электрических органов *Torpedo*, отличных от белков, с которыми связывался ацетилхолин. Таким образом, рецептор для токсина представляет собой не сам Н-холинорецептор, а ионный канал субсинаптической мембраны, аллостерически связанный с холинорецептором.

Интересные данные получены при совместном использовании гистрионикотоксина и  $\alpha$ -бунгаротоксина, специфически блокирующего Н-холинорецептор. Оказалось, что гистрионикотоксин защищает холинорецептор от связывания с  $\alpha$ -бунгаротоксином, но не предотвращает блокирующего действия последнего на потенциал концевой пластины. Эти данные подтверждают сложное строение холинорецептора, рецептивная часть которого имеет сходство к  $\alpha$ -бунгаротоксину, тогда как структуры, обеспечивающие ионную проводимость, связываются с гистрионикотоксином.



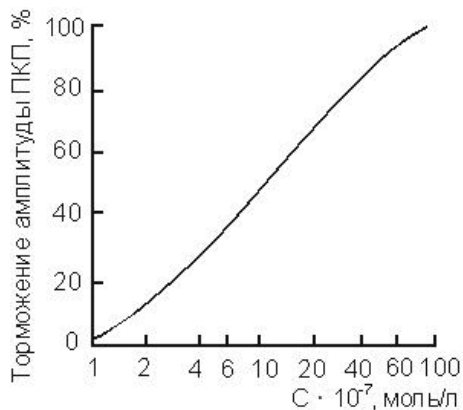


Рис. 16.11. Торможение гистрионикотоксином из кожных желез *Dendrobates histrionicus* амплитуды потенциала концевой пластинки, вызванного ионофорезом ацетилхолина. По оси абсцисс – логарифмическая шкала (Enwill, Narahashi, 1980)

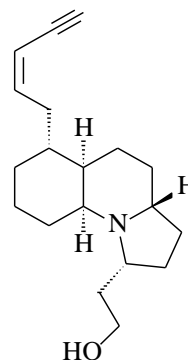
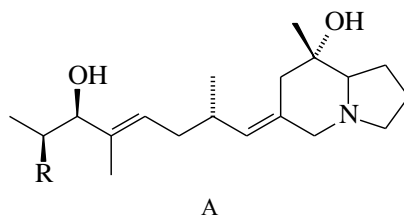


Рис. 16.12. Гефиротоксин (гистрионикотоксин D)

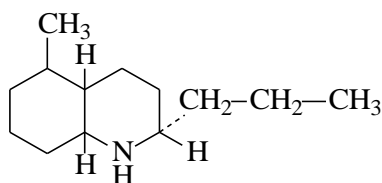
Другой алкалоид, относящийся к семейству гистрионикотоксинов – *гефиротоксин* (рис. 16.12) – практически не действует на нервно-мышечную передачу в скелетных мышцах (Н-холинорецепторах), но в дозах 5–10 мкмоль/л блокирует М-холинорецепторы гладкой мускулатуры.

**Пумилиотоксины.** Из кожи *Dendrobates pumilio* и *D. auratus* выделено семейство токсических алкалоидов: *пумилиотоксины А, В* и *С*. Содержание пумилиотоксинов А и В в коже лягушек достигает 50–500 мкг. Пумилиотоксины используются амфибиями для защиты от хищников, микроорганизмов и эктопаразитов. Как правило, обладающие пумилиотоксинами амфибии имеют апосематическую окраску. У высших животных токсины вызывают нарушение координации, увеличение тонуса экстензоров конечностей, развитие клонических сокращений скелетной и дыхательной мускулатуры и смерть. По сравнению с пумилиотоксинами А и В (MLD 2.5 мг/кг и 1.5 мг/кг соответственно), пумилиотоксин С обладает меньшей токсичностью (MLD 20 мг/кг). На изолированном препарате кишки крысы пумилиотоксин В вызывает ритмические сокращения, блокируемые ТТХ, что указывает на увеличение Na<sup>+</sup>-проницаемости под действием этого токсина.

*Пумилиотоксины А* структурно подразделяются на пумилиотоксины, аллопумилиотоксины и гомопумилиотоксины. Класс пумилиотоксинов А состоит из алкалоидов с индолизидиновым или хинолизидиновым кольцом. В С-7 положении у аллопумилиотоксинов находится гидроксильная группа, тогда как у пумилиотоксинов – водород. Оба соединения имеют в положении С-8 метильные и гидроксильные группы (рис. 16.13 и 16.14).

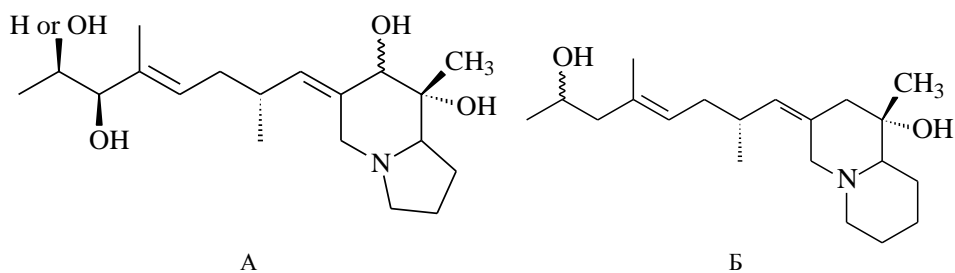


А



Б

Рис. 16.13. Пумилитоксины. А: пумилиотоксины А (R = H) и В (R = OH); Б: пумилиотоксин С



А

Б

Рис. 16.14. Общая структура аллопумилиотоксинов (А) и гомопумилиотоксинов (Б)

*Пумилиотоксин В* обратимо стимулирует деятельность изолированного сердца и усиливает нервно-мышечную передачу. Его эффекты легко устраняются отмыванием препарата. Механизм действия пумилиотоксинов А и В связан с облегчением перехода  $\text{Ca}^{2+}$  через клеточные мембраны и усилением сопряжения процесса возбуждения с сокращением мышц и секрецией медиаторов.

Классификация аллопумилиотоксинов учитывает изомеры, имеющие одинаковую молекулярную массу, а также оптическую активность молекулы. Например, имеются изомеры аллопумилиотоксина с молекулярной массой 339 г/моль: аллопумилиотоксин 339А и аллопумилиотоксин 339В. При этом установлено, что в коже амфибии *Dendrobates auratus* присутствует (+)-аллопумилиотоксин 339А. Однако такое соединение не обнаружено в коже *Dendrobates tricolor*. В то же время для кожи *Dendrobates tricolor* характерны алкалоиды 251D, 271, 341А и 323В. Аллопумилиотоксины обладают высокой биологической активностью, но очень редко встречаются в природе. Поэтому актуальна проблема их синтеза. В настоящее время синтезированы

(+)-аллопумилиотоксин 267А; (+)-аллопумилиотоксин 323В; (+)-аллопумилиотоксин 339А и аллопумилиотоксин 267А.

*Пумилиотоксин С* и его синтетические аналоги тормозят сокращения нервно-мышечного препарата диафрагмы крысы, вызванные прямой и непрямой электрической стимуляцией. В концентрации 40 мкМ наиболее сильный аналог РТХ-СII обратимо блокировал сокращения, вызванные непрямой стимуляцией, и заметно уменьшал амплитуду потенциалов концевой пластинки, а также амплитуду миниатюрных потенциалов концевой пластинки без повреждения мембранного потенциала мышцы. В условиях предварительной обработки диафрагмы альфа-бунгаротоксином РТХ-СII не снижал сокращений препарата, вызванных прямой стимуляцией. Показано, что РТХ-СII тормозит связывание  $^3\text{H}$ -пергидрогистрионикотоксина с мембраной электрического органа ската. Аналоги пумилиотоксина С, такие как РТХ-СI, РТХ-СII и РТХ-СIII, не влияли на связывание  $^{125}\text{I}$ -альфа-бунгаротоксина с холинорецепторами электрического органа ската и слабо тормозили связывание  $^3\text{H}$ -ацетилхолина, в то время как РТХ-СIV в концентрации 10 мкМ ингибировал связывание обоих лигандов. Поэтому пумилиотоксин С рассматривается как класс алкалоидов, способных блокировать нейромышечную передачу взаимодействуя с сайтами, ассоциированными с ацетилхолиновым рецептором, контролирующим ионный канал.

В последнее время описан новый вид *D. bombetes*, обитающий в Западных Андах (Колумбия), кожа которых также содержит пумилиотоксины. Представляет интерес сравнить токсичность различных стероидных алкалоидов из кожи амфибий. Так,  $\text{DL}_{50}$  (мкг/кг) для мышей при подкожном введении составляет для батрахотоксина – 2; гомобатрахотоксина – 3; самандарина – 300; батрахотоксинина А – 1000; пумилиотоксина А – 1500; пумилиотоксина В – 2500.

**Чирикитоксин.** Бесхвостые амфибии рода *Atelopus* (жабы), обитающие в Центральной Америке, содержат стероидные буфодиенолиды и различные гуанидиновые алкалоиды. Первые ингибируют калий-натриевую АТФазу, тогда как алкалоиды блокируют потенциал-зависимые натриевые каналы. В 1975 г. из кожи и яиц беременных самок коста-риканской жабы *Atelopus chiriquensis* (рис. 16.15) был выделен новый сильный, ТТХ-подобный нейротоксин – *чирикитоксин*. У других видов ателоп в коже может присутствовать ТТХ, например у *Atelopus varius*.

Молекулярная масса была определена равной 393, однако структурная формула была установлена только спустя 15 лет. Показано, что чирикитоксин отличается от ТТХ наличием остатка глицина в положении С-11 (рис. 16.16).

Уже первые исследования показали, что чирикитоксин, так же как и ТТХ, взаимодействует с потенциал-управляемыми натриевыми каналами и блокирует их. Затем было установлено, что чирикитоксин способен взаимодействовать и с калиевыми каналами. Эти свойства привлекли внимание исследователей к чирикитоксину, однако дефицит природных источников чирикитоксина тормозил дальнейшее изучение механизмов блокирования ионных каналов. Все изложенное способствовало работам по синтезу нейротоксинов, блокирующих ионные каналы, в том числе и чирикитоксина, полный синтез которого был осуществлен в 2014 г.



Рис. 16.15. *Atelopus chiriquiensis* (Wikipedia Commons)

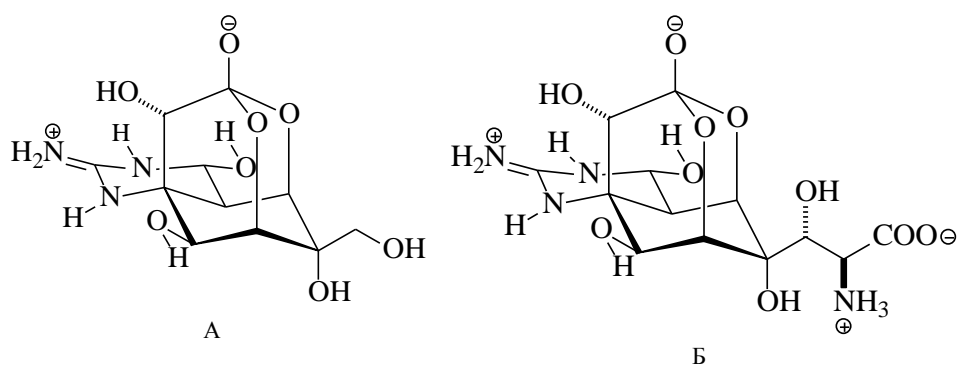


Рис. 16.16. Структура тетродотоксина (А) и чирикитоксина (Б)

На изолированных волокнах портняжной мышцы лягушки чирикитоксин конкурирует в эквимольных концентрациях с ТТХ за участки связывания в  $\text{Na}^+$ -каналах. Как указывалось, в отличие от ТТХ он блокирует и калиевые каналы возбудимой мембраны. Именно это его свойство позволило, исходя из известной структуры ТТХ и его аналогов, заключить, что калиевые каналы могут находиться в 0.5–1.5 нм от натриевых каналов. Если гипотеза об одновременном блокировании чирикитоксином  $\text{Na}^+$ - и  $\text{K}^+$ -каналов верна, то придется отказаться от прежних представлений о блокировании гуанидиновой группировкой ТТХ и STX (см. гл. 2 и 10)  $\text{Na}^+$ -канала. В этом случае радикал при С-11 чирикитоксина «не достал» бы  $\text{K}^+$ -канала. Согласно новой модели, молекулы ТТХ, STX и чирикитоксина закрывают устья  $\text{Na}^+$ -каналов не в виде «пробки», а ложатся на них как «крышки».

Интересно, что в яйцах ателопуса тетродотоксин и чирикитоксин находятся в связанной форме и не экстрагируются водой из гомогената яиц, но извлекаются 3%-ной уксусной кислотой. Вполне возможно, что присутствие ТТХ и его анало-



Рис. 16.17. *Atelopus zeteki* (Wikipedia Commons)

гов в организме в водонерастворимой форме в какой-то мере обеспечивает устойчивость лягушек *Atelopus* к высоким содержаниям токсина в их организме.

**Цетекитоксины.** Еще во второй половине XX века из кожи панамской жабы *Atelopus zeteki* (рис. 16.17) удалось выделить новые токсины – *цетекитоксины* (или ателопидотоксины). Их токсичность довольно высока: 11–80 мкг/кг для мышей при внутрибрюшинном введении.

Предварительные исследования показали, что цетекитоксины обладают слабым эффектом на ПД изолированного седалищного нерва лягушки или на нервно-мышечную передачу, вызванную стимуляцией седалищного нерва млекопитающих *in vivo*. Цетекитоксин блокировал вазоконстрикцию ушной артерии кролика при электрической стимуляции симпатического нерва. При этом гипотензивное действие цетекитоксинов не связано с ганглиоблокирующей активностью. Кардиотропное действие цетекитоксина включало атриовентрикулярный блок, аритмии и фибрилляцию желудочков. Эти данные указывали на фармакологические эффекты цетекитоксина, отличные от действия гуанидиновых алкалоидов (ТТХ и сакситоксина). Правда позже было показано, что цетекитоксин (ателопидотоксин) блокирует эффекты вератридина – активатора натриевых каналов в срезах мозга морской свинки, так же как ТТХ и сакситоксин. Влияние цетекитоксина на потенциал-зависимые натриевые каналы было в определенной мере неожиданным. Однако полученные в последнее время данные снимают эти противоречия и связаны с успехами в расшифровке структуры цетекитоксинов остававшейся загадкой на протяжении более 30 лет и разрешенной только в 2004 г., когда появились первые сведения о *цетекитоксине АВ*. Источником цетекитоксина АВ послужили 50 шкурок (общей массой 10 г) ателопов, предположительно *Atelopus zeteki*, отловленных в национальном парке El Cope (Панама) в октябре 1971 г. Эти шкурки хранились в метаноле при 20°C до 1986 г. Заметим, что токсичность экстракта шкурок ( $DL_{50}$  равна 10 мкг/кг для мышей при внутрибрюшинном введении), установленная в 1986 г., не изменилась до 1999 г. Для изучения структуры цетекитоксина АВ был использован образец массой около 0.3 мг, очищенный из экстракта, полученного в 1986 г. С помощью ЯМР и масс-спектрологии была детально изучена структура цетекитоксина АВ и показано, что он является аналогом сакситоксина (рис. 16.18).

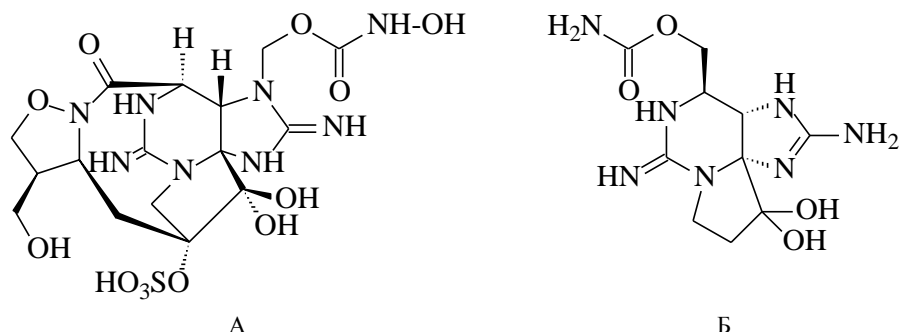


Рис. 16.18. Структура цетекитоксина АВ (А) и сакситоксина (Б)

Цетекитоксин АВ является мощным блокатором потенциал-зависимых натриевых каналов. Значение  $IC_{50}$  для натриевых каналов человеческого сердца составило 280 пмоль, для  $Na^+$ -каналов мозга крысы – 6.1 пмоль и для  $Na^+$ -каналов скелетной мышцы крысы – 65 пмоль, что превышает активность сакситоксина в 580, 160 и 63 раза соответственно. Происхождение сакситоксина, тетродотоксина и их аналогов является дискуссионным. В качестве продуцентов сакситоксина рассматриваются морские бактерии, а также пресноводные цианобактерии (виды *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena* и *Lyngbya*). Недавние исследования показывают, что продуцентами сакситоксина могут быть анаэробные бактерии (*Enterobacter* и *Klebsiella*). Полагают, что бактерии могут быть ответственны и за цетекитоксин АВ, обнаруживаемый у *Atelopus zeteki*. У близкородственного вида *A. varius*, как упоминалось, обнаружен ТТХ, вероятно продуцируемый симбиотическими микроорганизмами, поскольку у выращенных в неволе амфибий ТТХ отсутствует. Дальнейшее изучение цетекитоксина АВ – этого сильного и перспективного нейротоксина – должно ответить на вопрос как об источниках его продуцирования, так и помочь приблизиться к получению синтетических аналогов.

**Эпibatидин.** Продуцентом *эпibatидина* является древолаз *Epipedobates tricolor* – эндемик Эквадора (рис. 16.19). Кожа гладкая от темно-красного до коричневого цвета. Три желто-белые полосы на спине. На задних конечностях ярко-красные пятна. Вид встречается на склонах Анд в центральной части Эквадора на высоте от 1000 до 1769 м.

Животные ведут дневной образ жизни, обитая преимущественно на лесной подстилке и в невысокой растительности. Питаются мелкими членистоногими, такими как коллемболы, мелкие жуки и муравьи. Известны семь популяций вида, обитающих вдоль горных ручьев в провинции Боливар. Численность снижается в северной части ареала, где некоторые популяции исчезли. Основную угрозу для них представляют загрязнение воды, потеря среды обитания, отлов людьми в лечебных целях и заболевание хитридиомикоз, вызываемое грибом *Batrachochytrium dendrobatidis*.

Эпibatидин (рис. 16.20А) выделен в 1976 г. из эквадорской лягушки *Epipedobates tricolor*. Он обладает в 200 раз более сильным анальгетическим действием чем морфин, но в больших дозах вызывает у человека паралич. В отличие от опиатов, обезболивающее действие связано с влиянием на рецепторы никотина.



Рис. 16.19. *Epipedobates tricolor* (Wikipedia Commons)

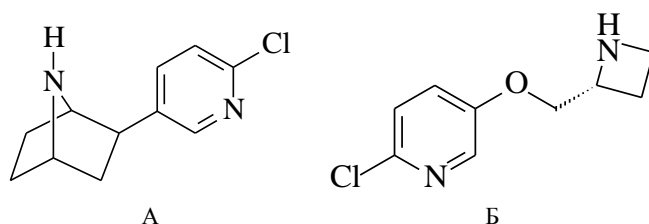


Рис. 16.20. Структура эпибатицина (А) и тебаницилина (Б)

Синтетические (+)- и (-)-эпибатицины также обладают выраженной анальгетической активностью в тесте «горячей пластинки» на мышах. Природный (+)-энантиомер с  $ED_{50}$  около 1.5 мкг/кг при внутрибрюшинном введении был примерно в 2 раза активней (-)-энантиомера. Анальгетическая активность эпибатицина блокировалась никотиновым антагонистом мекамиламином. Оба (+)- и (-)-энантиомера имеют высокое сродство (0.045 нмоль и 0.058 нмоль соответственно) с никотиновым сайтом, связывающим  $^3H$ -никотин в мембранах мозга крысы. Оба (+)- и (-)-энантиомера являются сильными агонистами, активирующими никотиновые рецепторы ганглионарного типа в клетках феохромоцитомы РС-12, с  $EC_{50}$  стимуляции вхождения натрия 72 и 111 нмоль соответственно.

(-)-Эпибатицин в 5 раз более сильный агонист центральных никотиновых рецепторов мышечного типа в клетках медуллобластомы TE671, чем его энантиомер. Полагают, что эпибатицины являются высокоселективными агонистами никотиновых рецепторов, поскольку не проявляют активность или очень слабоактивны в отношении опиоидных, мускариновых, адренергических, дофаминовых, серотониновых и ГАМКергических рецепторов.

В 1994 г. 7-азанорборнанными производными эпибатицина заинтересовались ученые из Эджвудского военно-химического центра, а в 1995 г. был утвержден двухлетний план по изучению иммобилизаторов из группы азабициклононанов. Предварительные эксперименты на животных показали, что синтезированные вещества обладают высокой активностью и более безопасны, чем производные

фентанила<sup>155</sup>. Они не попадают под действие международных соглашений и не являются контролируемыми DEA<sup>156</sup> наркотиками. Азабициклононаны – кристаллические вещества и могут применяться в виде аэрозоля. Относительным недостатком этих инкапаситантов<sup>157</sup> можно считать отсроченное начало действия, что, однако не мешает применять их в тех случаях, когда не требуется быстрого «нокаутирования». Специалисты фармацевтической фирмы Abbot, исследовав около 500 аналогов эпибатидина, в 1998 г. нашли вещество, не уступающее по силе эпибатидину, но лишенное его токсических свойств. Это препарат АВТ-594 (тебанициклин, эбанициклин), являющийся сильным синтетическим никотиновым (не опиоидным) анальгетиком (рис. 16.20Б). Есть сведения, что на стадии клинических испытаний у тебанициклина были выявлены выраженные побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта. Однако исследования производных эпибатидина продолжаются в связи с очевидными клиническими перспективами.

### 16.2.6. Кардиотонические стероиды

Наиболее изучен секрет надлопаточных желез амфибий, относящихся к роду *Bufo* (жабы). Так, например, ага (рис. 16.21), или жаба-ага (тростниковая жаба, *Bufo marinus*) родом из Южной и Центральной Америки ядовита на всех жизненных стадиях. Когда взрослая жаба потревожена, её железы выделяют молочно-белый секрет, содержащий буфотоксины; она способна даже «выстреливать» им в хищника. Яд аги – сильнодействующий; воздействуют преимущественно на сердце и нервную систему, вызывая обильное слюноотделение, конвульсии, рвоту, аритмию, повышение кровяного давления, иногда временный паралич и смерть от остановки сердца. Для отравления достаточно простого контакта с ядовитыми железами. Яд, проникший через слизистую оболочку глаз, носа и рта, вызывает сильную боль, воспаление и временную слепоту. Выделения кожных желёз аги традиционно употребляются населением Южной Америки для смачивания наконечников стрел. Индейцы чоко из западной Колумбии «доили» ядовитых жаб, помещая их в бамбуковые трубки, подвешенные над костром, затем собирали выделенный жёлтый яд в керамическую посуду. Токсичность яда жаб по сравнению с другими амфибиями низка. Тем не менее, в литературе описаны случаи смертельных отравлений этим ядом человека, например в Аргентине, где кожа жаб использовалась для уменьшения зубной боли. Чаще имеет место отравление жи-

---

<sup>155</sup> Фентанил (Phentanylum) – опиоидный анальгетик, мощный агонист  $\mu$ -опиоидных рецепторов. Выпускается в виде цитрата. Применяется главным образом как анальгетик в анестезиологии.

<sup>156</sup> Управление по борьбе с наркотиками (англ. *Drug Enforcement Administration, DEA*) – агентство в составе Министерства юстиции США, занимающееся исполнением федерального законодательства о наркотиках.

<sup>157</sup> Инкапаситанты (франц., ед. ч. *incapacitant*, от лат. *incapax* – неспособный) – принятое в зарубежных странах название группы ОВ, временно (от нескольких часов до нескольких суток) выводящих из строя живую силу. Вызывают у человека психические или физические отклонения, которые препятствуют выполнению поставленных задач. Смертельное действие для инкапаситантов нехарактерно. Выводящие из строя дозы примерно в 500–2000 раз ниже смертельных. Основные представители – хинуклидил-3-бензилат и стафилококковый энтеротоксин.





Рис. 16.21. Жаба-ара *Bufo marinus* (Wikipedia Commons)

вотных, особенно собак, неосторожно хватающих жаб. У отравленных собак наблюдаются обильное выделение слюны, тахикардия, аритмия, отек легких, судороги и смерть.

Обычно жабий яд получают выдавливанием из паротид. Выбрызгивающийся секрет собирают на стеклянную пластинку, высушивают, а затем счищают. Выдавливание производят либо пинцетом с мягкими браншами, либо прокатывая пластинку по спине жабы. Свежеполученный яд жаб представляет собой вязкую жидкость белого цвета. При высыхании на воздухе он превращается в тонкие пластинки желтовато-коричневого цвета и сохраняет физиологическую активность в течение многих лет.

**Химический состав и механизм действия.** Физиологически активные вещества яда жаб по своей химической природе могут быть отнесены к нескольким группам соединений (табл. 16.1).

Первая из них – производные индола: триптамин, серотонин, уже упоминавшийся ранее буфотенин, а также его четвертичная соль – буфотенидин. Буфотенин и буфотенидин обладают прессорным действием на артериальное давление. Повышение АД крови может вызвать также и адреналин, присутствующий в яде жаб.

Вторая группа – кардиотонические стероиды, которые представлены в яде жаб свободными и связанными генинами (агликонами). По своей химической природе генины жабьего яда – производные циклопентанпергидрофенантрена, имеющие в качестве боковой цепи шестичленное ненасыщенное лактонное кольцо (так называемые буфодиенолиды). Кроме буфодиенолидов, являющихся  $C_{24}$ -стероидами, в яде жаб имеются карденолиды –  $C_{23}$ -стероиды. Это гомологи буфодиенолидов, но отличаются от последних наличием пятичленного насыщенного лактонного кольца. Буфодиенолиды и карденолиды жаб близки по своему строению с агликонами сердечных гликозидов растений (препараты дигиталиса (наперстянки), строфанта,

Химический состав ядов жаб (Орлов, Крылов, 1978)

Жабий яд					
Амины		Стероиды			
катехоламины	производные индола	кардиотонические вещества		стероиды	
Адреналин	Серотонин, триптамин	Буфогенины	Буфогенины (свободные генины)		Буфотоксины (связанные генины)
			Буфотенин, буфогенидин, буфотионин и др.	Буфодиенолиды	
		Буфалин, буфоталин, гамабуфоталин, цинобуфагин и др.		Олеандригенин и др.	Буфотоксин, гамабуфотоксин, цинобуфотоксин и др.

ландыша и др.). Среди связанных генинов наиболее изучен буфотоксин (рис. 16.22) – эфир буфогенина с дипептидом субериларгинином.

В качестве буфогенина в буфотоксине присутствует буфодиенолид буфоталин. Выделенные к настоящему времени из яда жаб буфотоксины имеют сходное строение и различаются, как правило, радикалами стероидной части молекулы.

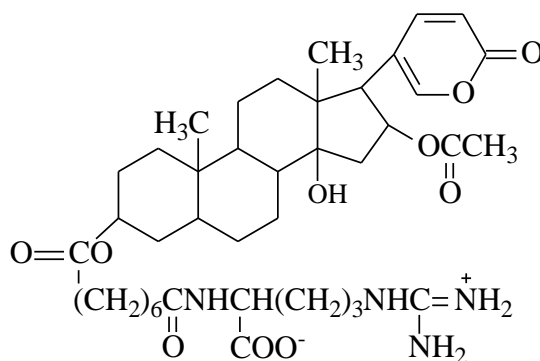


Рис. 16.22. Буфотоксин

Таблица 16.2

**Основные буфодиенолиды, присутствующие в яде разных видов жаб рода *Bufo*  
(Орлов, Крылов, 1978)**

Буфодиенолиды	<i>Bufo bufo</i> (Европа, Азия)	<i>Bufo marinus</i> (Южная Америка)	<i>Bufo mauritanicus</i> (Северная Америка)	<i>Bufo gargarizans</i> (Китай)	<i>Bufo formosus</i> (Япония, Тайвань)	<i>Bufo paracnemis</i> (Южная Америка)	<i>Bufo regularis</i> (Южная Африка)	<i>Bufo viridis</i> (Европа, Азия, Северная Африка)
Буфалин	+	-	+	+	+	+	+	+
Буфоталин	+	-	-	+	-	+	+	+
Буфоталидин (геллебригенин)	+	-	+	+	-	+	+	-
Буфоталнин	+	-	+	-	+	-	+	+
Маринобуфагин	+	-	+	-	-	+	+	-
Телоцинобуфагин	-	+	-	+	-	-	-	-
Цинобуфагин	-	-	-	+	-	-	-	+
Гамабуфоталин	-	-	-	+	+	+	-	-
Резибуфогенин	-	-	+	+	+	-	+	+

Аналогами буфоталина в яде разных видов жаб являются буфалин, буфоталидин, телоцинобуфагин, гамабуфоталин, маринобуфагин, резибуфогенин и др. (табл. 16.2). Из ферментов в яде жаб обнаружена в достоверных количествах только фосфолипаза А<sub>2</sub>. Стерины, также присутствующие в яде жаб, весьма инертны в токсическом отношении. Некоторые буфодиенолиды уже получены синтетическим путем. Включение радиоактивной метки в буфогенины при введении жабам меченого холестерина указывает на роль последнего в биосинтезе буфогенинов яда.

Своеобразие химического состава яда жаб накладывает отпечаток и на характер его физиологического действия. Выделяют три группы животных по их реактивности к жабьему яду. К первой группе относятся грызуны (мыши, крысы, кролики), отравление которых характеризуется расстройством кровообращения и дыхания, тоническими судорогами и параличом конечностей. Вторую группу составляют собаки, у них наблюдаются в первую очередь нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы. Третья группа представлена амфибиями, для которых характерно развитие паралича задних конечностей и тетануса передних.

Еще в 1904 г. выдающийся русский фармаколог Н.П. Кравков обратил внимание на дигиталисоподобное действие яда жаб, вызывающее усиление деятельности сердца. В дальнейших исследованиях отечественных и зарубежных ученых этот эффект был детально проанализирован. Характерным действием системного введения жабьего яда является брадикардия и повышение АД, связанное с усилением сердечных сокращений. Интересно, что стимулирующее действие на изоли-

рованное сердце цинобуфагина из яда *Bufo b. gargarizans* наблюдается даже на сердечной мышце, утомленной в результате 7–8-часовой работы.

Сравнение этого эффекта стимуляции сокращений сердца ядами разных видов жаб показало их качественное сходство в проявлении кардиостимулирующего действия, которое не ослаблялось после 30-летнего хранения сухого яда (рис. 16.23). Таким образом, следует сделать вывод об общности кардиостимулирующего эффекта ядов жаб на сердце разных животных и общности составляющих компонентов ядов разных видов жаб, а также о стабильности их свойств, как низкомолекулярных соединений, при хранении.

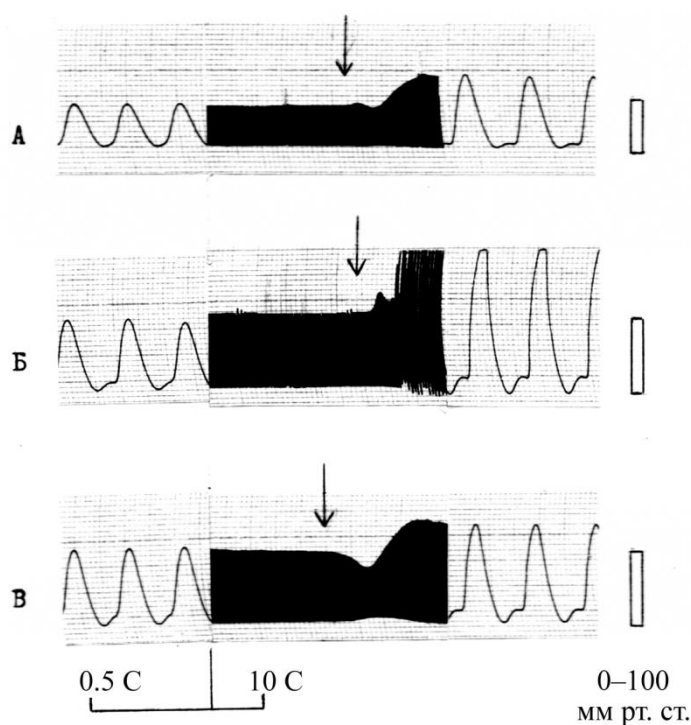


Рис. 16.23. Действие яда зеленой (А – нативного, В – после 30 лет хранения) и тростниковой (Б) жаб на сократительную активность (давление в левом желудочке) изолированного сердца крыс при добавлении ядов в перфузат в дозе 50 мкг (Крылов, 2002)

По силе положительного инотропного действия наиболее активны буфалин и гамабуфоталин, менее активны резibuфогенин и цинобуфагин. Показано, что яд жабы по своему физиологическому действию на функции сердечно-сосудистой системы близок к сердечному гликозиду строфантину К, причем кардиостимулирующее действие яда в основном связано с входящими в его состав буфодиенолидами. В то же время существуют и определенные различия в действии буфодиенолидов и сердечных гликозидов. В частности, буфодиенолиды, имеющие шестичленное лактонное кольцо с двумя ненасыщенными связями, почти всегда более активны, чем соответствующие карденолиды (C<sub>23</sub>-стероиды). Биологическая активность кардиотонических стероидов в их действии на сердце определяется не

только наличием пяти- или шестичленного лактонного кольца в боковой цепи, но и природой заместителей при C<sub>5</sub>-стероидной части молекулы и характером боковой цепи при C<sub>10</sub>.

Известно, что основным механизмом повышения сократительной активности миокарда для инотропных агентов является увеличение в период систолы количества свободных ионов кальция в цитоплазме кардиомиоцитов. Увеличение достигается повышением медленного (кальциевого) тока через каналы мембраны кардиомиоцита. В частности, именно такой механизм увеличения инотропной активности показан для катехоламинов, метилксантинов, гистамина и ряда других инотропных агентов. Однако опыты с непосредственным измерением кальциевого тока, проведенные на трабекулах предсердия лягушек, показали, что добавление в омывающий трабекулу раствор яда жабы в концентрации 10<sup>-6</sup> г/мл не влияло на медленный входящий (кальциевый) и быстрый входящий (натриевый) ток, что отражалось в достоверном совпадении вольт-амперных характеристик. Более того, повышение концентрации яда в растворе приводило к уменьшению кальциевого тока на 30–40%. Как яд, так и буфадиенолиды не влияли также на потенциал покоя и лишь незначительно уменьшали значение потенциала действия, в то же время повышая сократительный ответ трабекулы (рис. 16.24). Таким образом следует заключить, что увеличение контрактильной активности изолированного сердца при действии яда происходит без увеличения кальциевого тока, насыщающего кардиомиоцит во время плато потенциала действия. Предварительная обработка сердца лягушки ЭДТА, связывающим как внеклеточный, так и внутриклеточный кальций, предотвращала или замедляла развитие инотропного эффекта жабьего яда. Следовательно, при действии яда на сердце роль кальция остается несомненной, однако, как видно из полученных результатов, реализуются иные механизмы повышения уровня внутриклеточного кальция – без изменения медленного входящего кальциевого тока.

Представляется, что наиболее реальный из них – повышение в цитоплазме уровня свободного кальция за счет натрий-кальциевого обмена. Показано, что работа такого обменника, возвращающего кальций, попавший в клетку во время плато ПД, во внеклеточное пространство в обмен на внешний натрий, может измениться на противоположный обмен, то есть при чрезмерном повышении концентрации натрия внутри клетки он будет выводиться из нее в обмен на внешний кальций. Таким образом, в этих условиях концентрация свободного кальция внутри кардиомиоцита будет возрастать. Именно так сегодня объясняется кардиотонический эффект сердечных гликозидов: умеренная блокада Na-K-АТФазы, по-видимому, являющейся для них рецептором, приводит к повышению концентрации ионов натрия внутри клетки и активации работы обменника в обратном направлении – выносу натрия из клетки и закачиванию дополнительного кальция в клетку с соответствующим усилением сократимости кардиомиоцита. Во всяком случае показано, что увеличение сократимости миокарда кошек при действии сердечных гликозидов также не связано с их влиянием на медленный входящий кальциевый ток.

Названный механизм наиболее вероятен, т.к. ранее было показано умеренное торможение натрий-калиевого насоса при действии яда зеленой жабы. В опытах на модели клеточной мембраны, в качестве которой была использована кожа лягушки, было установлено, что как яд, так и выделенные из него буфадиенолиды

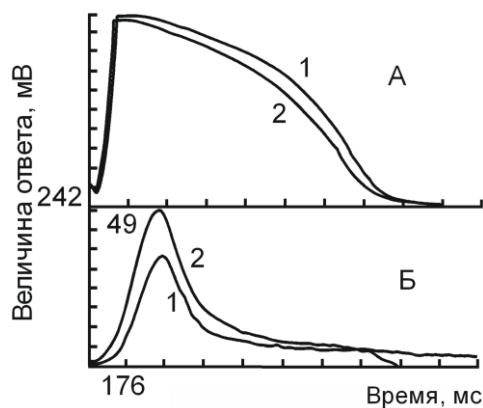


Рис. 16.24. Потенциал действия (А) и сокращение (Б) трабекулы предсердия лягушки: 1 – в норме, 2 – после добавления в омывающий раствор яда зеленой жабы ( $2 \times 10^{-5}$  г/мл) (Крылов, 2002)

тормозят активный транспорт ионов натрия через кожу. Другим доказательством блокирования Na-K-АТФ-азы миокарда явились опыты с применением блокаторов и донаторов сульфгидрильных групп фермента при добавлении токсических доз яда в перфузат изолированного сердца. Было выявлено, что донатор сульфгидрильных групп цистеин замедляет, а блокатор их – сулема – ускоряет развитие контрактуры при введении токсических доз яда.

Учитывая ранее полученные результаты о неучастии адренорецепторов сердца и неясной роли цАМФ миокарда в реализации кардиотонического эффекта жабьего яда при действии на изолированное сердце кошек, следует заключить, что основной механизм указанного эффекта яда обеспечивается буфадиинолидами и сходен с вышеописанным механизмом действия сердечных гликозидов (карденолидов) растений.

Таким образом, по характеру кардиостимулирующего действия, его механизму при непосредственном действии яды жаб (буфадиинолиды) можно отнести к кардиотоникам группы сердечных гликозидов, согласно классификации современных кардиотонических средств. Действительно, как видно из опытов, основными механизмами положительного инотропного эффекта являются следующие: умеренная блокада сульфгидрильных групп Na-K-АТФ-азы плазмалеммы – модуляция Na-Ca-обмена – повышение уровня внутриклеточного кальция – увеличение контрактильной функции миофибрилл кардиомиоцитов – систолический инотропный эффект. Вместе с тем, у яда жабы имеется ряд свойств, позволяющих расположить его рядом с кардиотоническими средствами из других групп. Сюда можно отнести его преимущество перед сердечными гликозидами по скорости наступления кардиостимулирующего действия, а также выявленные эффекты увеличения препаратом яда энергообеспечения миокарда, его метаболизма и торможение перекисного окисления липидов.

Другим важным свойством яда жаб является стимулирующее действие на дыхание. В эксперименте введение жабьего яда животным позволяет восстановить дыхательные движения даже после полной остановки дыхания.

Нейротропные свойства токсичных доз жабьего яда показаны на различных функциональных уровнях. Так, он блокирует передачу возбуждения в вегетативных ганглиях, нервно-мышечном соединении, а также синапсах центральной

нервной системы. Очевидно, буфотоксины обладают холинергическим эффектом. При введении крысам буфалина у животных наблюдаются судороги на фоне увеличения содержания в мозге ацетилхолина.

Неожиданный аспект применения буфодиенолидов обнаружился во взаимоотношениях светлячков родов *Photuris* и *Photinus*. Самки *Photuris* охотятся на самцов *Photinus*, подражая их свечению и таким образом привлекая последних. При этом самки, поедая жертву, получают с пищей особые стероиды, названные «люцибуфагины» и отпугивающие пауков, например *Phidippus*, которые, в свою очередь, охотятся на *Photuris*. Люцибуфагины являются производными буфалина (рис. 16.25) – буфодиенолида, присутствующего в яде многих видов жаб (табл. 16.2). Самцы *Photuris* также содержат люцибуфагины, но в меньшем количестве, чем самки. Поскольку у вновь появившихся на свет светлячков *Photuris* люцибуфагинов нет, предполагается, что эти буфодиенолиды у самцов *Photuris* также являются результатами охоты на *Photinus*.

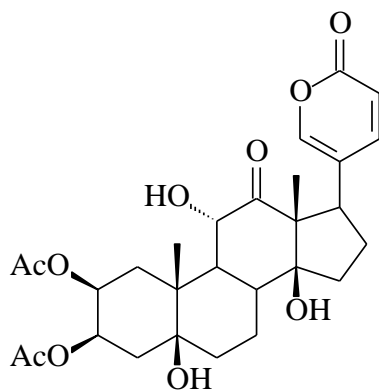


Рис. 16.25. Люцибуфагин (буфалин)

В последние годы вновь усилился интерес к изучению лечебных свойств этого яда. В нетоксических дозах он обладает антибиотическим действием по отношению ко многим видам свободноживущих и паразитических форм, что позволяет рекомендовать препарат из яда жаб в качестве антигельминтного средства. Биостимулирующие свойства позволили успешно применить яд при экспериментальных шоках различной этиологии (пептоновом, ожоговом). Весьма интересным является радиозащитное действие яда жаб, связанное с его стимулирующим влиянием на систему кроветворения. Кроме того, он предотвращает повреждение стенки кровеносных сосудов в острый период лучевой болезни. Положительные результаты были получены при использовании жабьего яда и его препаратов в экспериментальной терапии злокачественных опухолей. Введение яда в стимулирующих дозах вызывало полное рассасывание опухолей у 18–20% животных, задержку в росте саркомы-45 у других, а также общее увеличение продолжительности жизни.

Другой перспективной областью применения жабьего яда (препаратов на его основе) является сердечно-сосудистая патология, где в настоящее время получены обнадеживающие результаты. Таким образом, жабий яд является природным

источником соединений с выраженными биостимулирующими и антибиотическими свойствами, что позволило уже сегодня в ряде стран освоить выпуск лекарственных препаратов на его основе.

### 16.3. ЯД ХВОСТАТЫХ АМФИБИЙ (Caudata)

Токсические свойства кожного секрета саламандр (Salamandridae) известны с далекой древности, о них упоминал еще Плиний Младший. Одно из первых экспериментальных исследований их яда датировано 1768 г., а начиная с середины XIX столетия стали появляться регулярные работы, посвященные химии и фармакологии яда саламандр.

Активное начало кожного секрета саламандр было названо в 1868 г. *самандарином*, структура самандарина установлена в 1971 г. (рис. 16.26). Самандарин образует кристаллы, растворим в этаноле и подкисленной воде; из растворов осаждается солями аммония и фосфорномолибденовой кислотой. Кроме самандарина, в кожном секрете саламандр обнаружены минорные алкалоиды: *самандарон*, *O*-*ацетилсамандарин*, *самандаридин*, *циклонеосамандарон* и др.

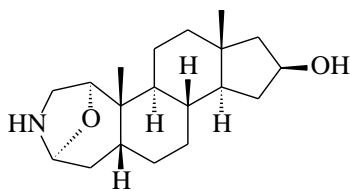


Рис. 16.26. Самандарин

Сам секрет получают от обездвиженных  $\text{CO}_2$  животных, отсасывая его из кожных желез с помощью стеклянной трубки, подсоединенной к водяному насосу. Существуют и другие способы получения секрета, например механическое выдавливание. Свежеполученный секрет кожных желез имеет pH около 8, является беловатой клейкой жидкостью, которая быстро застывает на воздухе, превращаясь в хрупкие пластины. Кроме алкалоидов, в яде саламандр присутствуют серотонин и гемолитические белки. Выход сырого секрета может достигать 12 мг на животное. Токсичность кожного секрета саламандр довольно велика и в основном определяется активностью самандарина. Так, летальные дозы (в мг/кг) самандарина при подкожном введении составляют для лягушки 19, мыши – 3.4, кролика – 1. Как уже упоминалось, содержание в неволе дендробатид, используемых колумбийскими индейцами для приготовления отравленных стрел, приводит к потере токсичности. Однако огненные саламандры, содержащиеся и выращенные в неволе, оставались ядовитыми.

Отравление ядом саламандр вызывает развитие характерных симптомов: беспокойства, появления эпилептиформных судорог, мидриаза. Во время развития судорожного припадка в ЭЭГ регистрируется характерная пик-волновая активность. Под действием яда животных прогрессивно ослабевают рефлексы вплоть до полного исчезновения. Дыхание становится слабым, наблюдаются сердечные аритмии. Судороги – один из наиболее типичных симптомов отравления самандарином – длятся в течение нескольких минут и после небольшого перерыва возоб-



новляются с новой силой. В терминальной фазе отравления наблюдается паралич, особенно задних конечностей. Как правило, смерть экспериментальных животных наступает в течение 5 ч. При вскрытии погибших животных отмечаются кровоизлияния в легких, сердце, мозге, печени. При системном введении яда саламандры причиной смерти является остановка дыхания, тогда как сердце довольно устойчиво к его действию. В экспериментах на изолированном сердце этот яд, в отличие от яда жаб, вызывает начальное угнетение амплитуды сердечных сокращений с последующим развитием брадикардии и остановкой сердца в диастоле (рис. 16.27). Наблюдаемое при отравлении самандарином повышение АД может быть связано с его прямым воздействием на сосудодвигательный центр. Самандарин обладает также сильным местным анестезирующим действием.

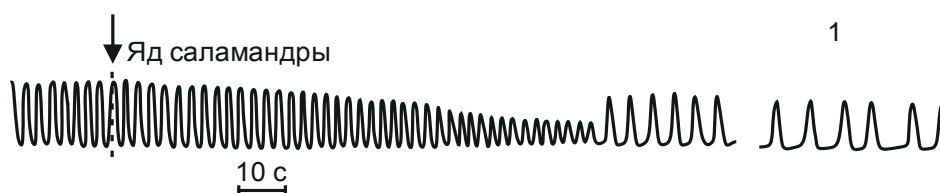


Рис. 16.27. Действие яда саламандры *Salamandra salamandra* на изолированное сердце лягушки (Крылов, Ошевский, 1981): стрелкой отмечен момент добавления яда ( $5 \times 10^{-4}$  г/мл); 1 – через 5 мин

Токсическими свойствами обладает секрет кожных желез безлегочных саламандр (Plethodontidae), из которых выделен токсин с молекулярной массой  $\sim 225000$ . Токсичность его колеблется от 64 до 464 мг/кг (в зависимости от образца). У мышей токсин вызывает гипертонус мышц разгибателей, клонические подергивания мышц конечностей, нарушение локомоции, падение мышечного тонуса, а в высоких дозах – судороги. Кожный секрет безлегочных саламандр токсичен для потенциальных врагов – кур и соек и, следовательно, выполняет защитную функцию. Для человека саламандры серьезной опасности не представляют. Следует отметить выраженную антимикробную активность алкалоидов саламандр, среди которых наиболее эффективен самандарон. Последний угнетает рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжей, грибов, но не эффективен по отношению к *Staphylococcus aureus*.

Из хвостатых амфибий интерес представляет калифорнийский тритон *Taricha torosa* (рис. 16.28). Еще в 1932 г. американский эмбриолог Твитти заметил, что яйца тритона, трансплантированные тигровой амбистоме *Ambystoma tigrinum*, вызывают паралич последней. Тридцать лет спустя из яиц *T. torosa* был выделен кристаллический токсин, названный тарихатоксином, обладающий паралитическим действием.

Изучение химической структуры тарихатоксина методами электронного и ядерного магнитного резонанса позволило установить его идентичность с тетродотоксином, ранее выделенным из рыбы фугу. Из 100 кг яиц тритонов удалось получить 200 мг кристаллического токсина с активностью 3000 м.е./мг.  $DL_{50}$  тарихатоксина 9 мкг/кг для мышей. В яйцах *T. torosa* содержание тарихатоксина достигает 25 мкг/г. В меньших количествах он находится в яйцах некоторых других видов тритонов.



Рис. 16.28. Ядовитый желтобрюхий тритон (*Taricha granulosa*) в защитной позе – демонстрирует предупреждающую окраску брюшной стороны тела (Wikipedia Commons)

\* \* \*

При сравнительно-токсикологическом анализе ядовитых аппаратов амфибий можно отметить определенное упрощение их строения. Действительно, по сравнению с рыбами амфибии утратили такие защитные приспособления, как ядовитые колючки и шипы. С другой стороны, у амфибий еще отсутствуют ядовитые органы, связанные с ротовым аппаратом, что наблюдается у рептилий. Последнее обстоятельство в значительной мере связано с особенностями питания амфибий, рацион которых в основном состоит из мелких беспозвоночных. Унаследовав от первично-водных организмов кожные слизистые железы, амфибии используют их не только для обеспечения дыхательной функции кожи, постоянно увлажняемой слизью, но и для защиты от врагов. Выработка раздражающих и ядовитых веществ – одна из наиболее древних защитных функций эктодермы, достаточно вспомнить ядовитость немертин, полихет, иглокожих, кишечнополостных. У амфибий, кроме того, кожа играет важную роль в регуляции транспорта воды, ионов и газов. Не исключено, что некоторые компоненты кожного секрета могут принимать участие в регуляции транспорта ионов через кожу. В первую очередь это относится к стероидам и алкалоидным компонентам. Хотя прямых экспериментальных доказательств этому пока нет, разработка вопроса о биорегуляторной роли ядовитых желез для организма-хозяина может оказаться перспективной.

Защитные функции кожных желез амфибий не вызывают сомнений. Повидимому, специализация кожных слизистых желез привела к возникновению ядовитых альвеолярных желез, которые у некоторых амфибий сгруппировались в морфологически обособленные паротиды. Спектр активности ядовитых секретов кожных желез амфибий достаточно широк – от высокотоксичных соединений типа батрахотоксина до обезболивающих пептидов – дерморфинов. Кроме того, в

ряду токсических компонентов кожных желез имеются биогенные амины, тахи- и брадикинины, кардиотонические стероиды, гемолитические белки.

Обращает на себя внимание тот факт, что редукция ранящего аппарата ядовитых желез неизбежно отражается на химической природе секретируемых ими ядов. Так, у амфибий на первый план выступают токсические алкалоиды и стероиды, не разрушающиеся в организме хищника пищеварительными ферментами при парентеральном введении и, следовательно, способные обеспечить токсический эффект. У рептилий природа вновь вернется к белковым токсинам, но при этом «позаботится» о вооружении змей ядовитыми зубами. Дополнительным аргументом в пользу данной точки зрения является то, что тахикинины амфибий имеют пироглутамат на С-конце и амидированную N-концевую аминокислоту, что также повышает устойчивость этих пептидов к деградации пептидазами. Таким образом, ядовитый секрет кожных желез амфибий предназначен для поражения хищников при попадании в пищеварительный тракт либо на открытые слизистые поверхности – это максимум того, чего можно добиться, не имея ранящего аппарата. Быть может, это и не самый лучший способ защиты от естественных врагов, хотя сам факт существования амфибий не позволяет утверждать это с полной категоричностью. Гораздо большую опасность для амфибий представляет хозяйственная деятельность человека, и, очевидно, одной только регистрацией исчезающих видов в Красной книге не обойтись, но это тема специального обсуждения.

---

## ЧАСТЬ IV

# ЯДОВИТЫЕ АМНИОТЫ: Рептилии (Reptilia), Млекопитающие (Mammalia), Птицы (Aves)

- Глава 17. Общая характеристика ядовитых рептилий (Reptilia)
- Глава 18. Аспиды (Elapinae)
- Глава 19. Морские змеи (Hydrophiinae)
- Глава 20. Гадюковые змеи (Viperidae)
- Глава 21. Шпильковые змеи (Atractaspididae) и Ужеобразные змеи (Colubridae)
- Глава 22. Ящерицы (Lacertilia)
- Глава 23. Млекопитающие (Mammalia) и Птицы (Aves)



Wikipedia Commons

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЯДОВИТЫХ РЕПТИЛИЙ (Reptilia)

И жало мудрая змеи  
В уста замершие мои  
Вложил десницею кровавой.

*А.С. Пушкин*



**А**мниоты, или высшие позвоночные (Amniota) – монофилетическая группа (клада) позвоночных животных, характеризующихся наличием зародышевых оболочек. Известны с раннего карбона. Группа входит в состав надкласса Tetrapoda (четвероногие); включает в себя пресмыкающихся, птиц, а также млекопитающих.

Пресмыкающиеся, или Рептилии (Reptilia) – класс (по традиционной классификации), или парафилетическая группа (по кладистической классификации), преимущественно наземных позвоночных животных: современных черепах, крокодилов, клювоголовых, амфисбен, ящериц и змей. В XVIII–XIX веках пресмыкающиеся вместе с амфибиями объединялись в группу гады – холоднокровные наземные позвоночные. В мире известно около 9400 видов пресмыкающихся, на территории России обитает 72 вида.

Пресмыкающиеся – первый класс настоящих наземных позвоночных, который вместе с птицами и млекопитающими образует группу амниот – высших позвоночных. В отличие от низших позвоночных, или анамний (рыб, амфибий), относящихся к первично-водным животным, амниоты относятся к первично-наземным, и переход к жизни в воде для некоторых из них – вторичный процесс. Освоение наземно-воздушной среды обитания первыми рептилиями обеспечивалось как за счет преобразований в различных системах органов, так и за счет изменения характера размножения и эмбрионального развития.

Современные рептилии представляют собой лишь разрозненные остатки богатого и разнообразного мира пресмыкающихся, населявших в мезозойскую эру не только всю сушу, но и все моря земного шара. В мезозое происходит формирование всех групп пресмыкающихся. Последняя группа – змеи – сформировалась в меловом периоде. В конце мезозоя пресмыкающиеся были вытеснены более прогрессивными позвоночными – птицами и млекопитающими – и вымерли, за исключением четырех групп, доживших до нашего времени. К ним относятся отряды Клювоголовые, Чешуйчатые, Крокодилы и Черепахи. Таким образом, современные рептилии представлены только четырьмя отрядами, сохранившимися из шести подклассов в прошлом:

- Отряд Клювоголовые (Rhynchocephalia) имеет лишь одного современного представителя – гаттерию, являющуюся наиболее древней и примитивной из ныне живущих пресмыкающихся. Сохранилась только в Новой Зеландии и на прилегающих островах.

- Отряд Чешуйчатые (Squamata) объединяет ящериц (Lacertilia), хамелеонов (Chameleontes) и змей (Ophidia, Serpentes). Это наиболее молодая и единственная группа пресмыкающихся, которая находится в настоящее время в полном расцвете, будучи представлена 5700 видов.

- Отряд Крокодилы (Crocodylia) населяет в числе около 20 видов материковые водоемы тропиков. Они представляют собой прямых потомков гигантских высокоорганизованных пресмыкающихся мезозоя.

- Отряд Черепахи (Chelonia) – тоже древняя группа, дожившая до наших дней благодаря своеобразному защитному приспособлению – панцирю. Содержит довольно много (около 330 видов) сухопутных, пресноводных и морских форм.

Наиболее известен своими ядовитыми представителями отряд Чешуйчатые, который включает самое большое видовое разнообразие современных пресмыкающихся. Достаточно сказать, что в три других отряда входит только около 250–300 видов. Большинство систематиков выделяют три подотряда чешуйчатых: Ящерицы (Lacertilia), Амфисбены (Amphisbaenia), которые иногда объединяются

вместе с ящерицами, и Змеи (Serpentes). Среди амфибиев ядовитые представители неизвестны. Новая классификация чешуйчатых выделяет 5 подотрядов:

- Змеи (Ophidia, Serpentes)
- Ящерицы (Lacertilia)
- Autarchoglossa
- Гекконообразные (Gekkota)
- Игуанообразные (Iguania).

Подотряд Serpentes также отличается большим разнообразием, в связи с чем у герпетологов возникают объективные трудности при выявлении универсальных биологических особенностей, характеризующих подотряд в целом. В книге рассматриваемые ядовитые представители рептилий отнесены к следующим систематическим группам:

#### **Отряд Squamata**

##### **Подотряд Ophidia (Serpentes)**

- Семейство Elapidae
  - Подсемейство Elapinae
  - Подсемейство Hydrophiinae
- Семейство Viperidae
  - Подсемейство Viperinae
  - Подсемейство Crotalinae
  - Подсемейство Azemiopinae
  - Подсемейство Causus
- Семейство Atractaspididae
- Семейство Colubridae
  - Подсемейство Colubrinae

##### **Подотряд Lacertilia (Sauria)**

- Семейство Helodermatidae
- Семейство Varanidae

### **17.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ (Подотряд Ophidia)**

Змеи (Ophidia, Serpentes) – подотряд отряда Чешуйчатые (Squamata) класса Пресмыкающиеся (Reptilia). Змеи освоили практически все жизненные пространства Земли, кроме воздушного. Они встречаются на всех материках, кроме Антарктиды и нескольких крупных островов, таких как Ирландия и Новая Зеландия<sup>158</sup>, а также множества мелких островов Атлантического океана и центральной части Тихого океана. Змеи распространены от Полярного круга на севере до южной оконечности Американского материка. Особенно многочисленны они в тропических областях Азии, Африки, Южной Америки и в Австралии. В настоящее время на Земле насчитывается 3460 видов змей (по состоянию на январь 2014 года), объединяемых в 23 семейства и 6 надсемейств. Змеи предпочитают обитать на территориях с жарким климатом. Обитают в различных экологических условиях –

---

<sup>158</sup> В Новой Зеландии нет наземных змей. Два вида морских змей – желтобрюхие пеламиды (*Pelamis platurus*) и ужевидный морской крайт (*Laticauda colubrina*) в водах Новой Зеландии все же редко, но встречаются. Змеи в Новой Зеландии в буквальном смысле объявлены вне закона. Держать и разводить этих пресмыкающихся категорически запрещено.



А



Б



В



Г



Д



Е

Рис. 17.1. Представители ядовитых змей: А – кольчатый плоскохвост *Laticauda laticauda*; Б – египетская кобра *Naja haje*; В – водяной щитомордник *Agkistrodon piscivorus*; Г – ромбический гремучник *Crotalus adamanteus*; Д – гюрза *Macrovipera lebetina*; Е – эфа *Echis carinatus* (Wikipedia Commons)



лесах, степях, пустынях, в предгорьях и горах. Змеи в основном ведут наземный образ жизни, но некоторые виды живут под землей, в воде, на деревьях. При наступлении неблагоприятных условий (например при похолодании) змеи впадают в спячку. Самые крупные змеи, живущие на Земле – сетчатый питон и водяной удав анаконда. Длина самых мелких змей из ныне живущих – *Leptotyphlops carlae* – не превышает 10 сантиметров. Размер большинства змей не превышает одного метра.

Все известные змеи – хищники. Питаются разнообразными животными: позвоночными и беспозвоночными. Существуют виды змей, которые специализируются на поедании определённого вида добычи, то есть стенофаги. Например, рачий уж (*Regina rigida*) питается почти исключительно речными раками, африканские яичные змеи (*Dasyplectis*) – только яйцами птиц. Неядовитые змеи заглатывают добычу живьём (например ужи), либо предварительно умерщвляют её, сжимая челюстями и придавливая телом к земле (стройные полозы) или удушая в кольцах тела (удавы и питоны). Ядовитые змеи убивают добычу, вводя в её тело яд при помощи специализированных ядопроводящих зубов. Ядовитые змеи составляют около четверти всех известных видов (рис. 17.1).

Всего же на планете известны свыше почти 620 видов ядовитых змей чуть более чем из 100 родов. Отметим, что ядовитые змеи пользуются ядом в первую очередь для охоты (чтобы убить жертву), а не для самозащиты. Однако яд некоторых видов змей достаточно токсичен, чтобы убить человека, на которого они не охотятся.

### 17.1.1. Строение ядовитого аппарата змей

Рассмотрение ядовитого аппарата змей целесообразно начать с описания строения черепа (рис. 17.2). Череп змей характеризуется заметно редуцированными предчелюстной и верхнечелюстными костями, потерей слезной кости и обеих височных дуг (верхней, образованной заглазничной и чешуйчатой костями, и нижней, состоящей из скуловой и квадратно-скуловой костей).

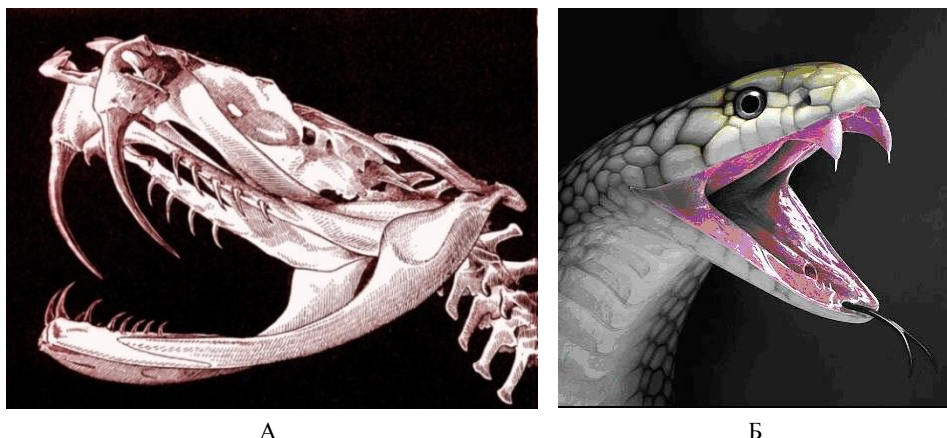


Рис. 17.2. Череп (А) и голова змеи с открытой пастью (Б) (Wikipedia Commons)

Квадратная кость при этом стала относительно независимой и чрезвычайно подвижной. Значительным уровнем кинетичности (подвижности) обладают также крыловидные, верхнечелюстные и верхневисочные кости. В итоге практически все кости черепа змей, кроме монолитной мозговой коробки, оказываются чрезвычайно подвижными. Такое уникальное состояние внутричерепного кинетизма и обилия гибких зон специалисты называют гиперкинетизмом, подчеркивая тем самым беспрецедентно широкий размах мобильности черепа змей, включающей даже независимую друг от друга подвижность правой и левой половинок нёбно-верхнечелюстной области, снабженной зубами. Последняя работа этих частей заключается в протаскивании добычи в пищевод одной половиной, в то время как другая выносится вперед для захвата следующего участка тела жертвы. Этот процесс может длиться порой часами, и, чтобы не задохнуться от долгого проглатывания добычи, змеи несколько выдвигают вперед (за пределы сдавливаемой жертвой области) трахеальную трубку, расположенную в корне языка (рис. 17.2Б). Голова любой змеи невелика по отношению к размерам добычи, которую змея способна проглотить целиком. Это связано с тем, что нижняя челюсть крепится к черепу связками, которые могут сильно растягиваться. Кроме того, нижняя челюсть в центре имеет эластичную связку, которая также обеспечивает высокую растяжимость змеиной пасти.

Зубы змей прикреплены к внутренней стороне челюстей, в связи с чем их называют плевродонтными, и располагаются на верхнечелюстных, нижнечелюстных, нёбных и крыловидных, а у ряда видов – и на межчелюстных костях. Большинство максиллярных зубов змей цельные (сплошные) – их называют проглифодонтными, но у некоторых групп *Serpentes* модифицированные зубы могут быть полыми (трубчатыми или с глубокой бороздой). Змей с гладкими, лишенными каналов или желобков зубами называют аглифоидными, а группу змей с такими зубами – *Aglyphodonta*.

Совершенствование ядовитого аппарата змей схематично показано на рис. 17.3. Отдельные зубы, находящиеся на переднем или заднем конце верхней челюсти, увеличивались в размерах, а на их поверхности появлялась бороздка, по которой стекал яд. Затем при замыкании бороздки образовался внутренний канал, открывающийся недалеко от вершины зуба, что существенно улучшило проникновение порции яда в тело жертвы. Такие зубы, приспособленные не только для удержания добычи, но и для ее обездвиживания путем введения в тело жертвы яда, который стекает по борозде (каналу), часто называются ядовитыми клыками. Они могут быть отделены от остальной части зубного ряда беззубым промежутком (диастемой). Самые крупные клыки (до 4.5 см) имеет габонская гадюка (*Bitis gabonica*).

По характеру расположения ядовитых зубов змей разделяют на заднебороздчатых (опистоглифоидных – *Opisthoglypha*) и переднебороздчатых (протероглифоидных – *Proteroglypha*).

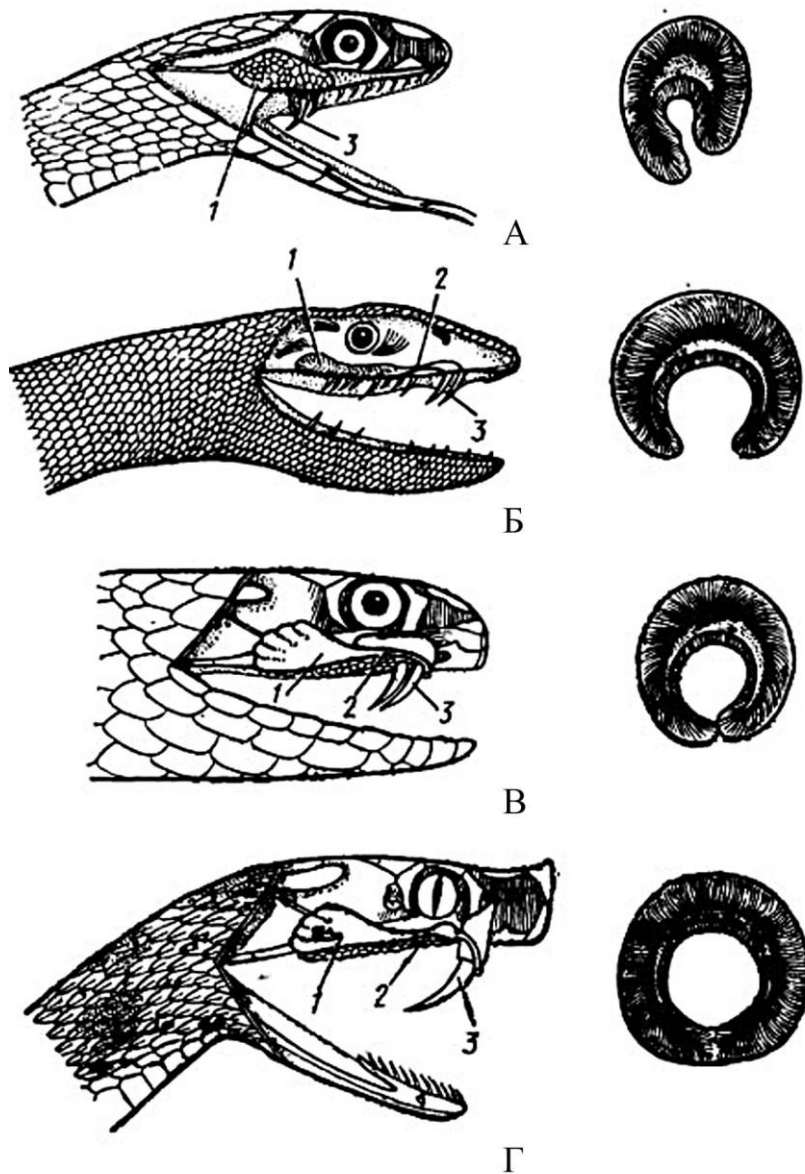


Рис. 17.3. Схема строения ядовитого аппарата змей (справа – поперечный срез ядовитого зуба (Физали, 1922): 1 – ядовитая железа; 2 – проток железы; 3 – ядовитые зубы; А – ужеобразные Colubridae; Б – морские змеи Hydrophiinae; В – аспиды Elapinae; Г – гадюковые Viperidae

У *Opisthoglypha* (к ним относят ядовитых ужеобразных) на задней поверхности максиллы (верхнечелюстной кости) в глубине пасти расположены удлиненные зубы, на поверхности которых имеется бороздка, по которой яд поступает в жертву, например – у бумсланга.

У *Proteroglypha* (аспидовые, морские, гадюковые и ямкоголовые змеи) имеется укороченная максилла с небольшим числом зубов, расположенных спереди на верхнечелюстной кости, первый из которых имеет уже хорошо сформированный канал. Если такие зубы не очень большие, то змее необходимо некоторое время удерживать жертву для введения яда.

Гадюковых и ямкоголовых змей часто выделяют в особую группу (трубчатые, или соленоглифоидные змеи – *Solenoglypha*), отличающуюся от остальных (бороздчатых) тем, что края (складки) ядовитой борозды у них как бы срослись, образовав внутренний ядовитый канал (трубку), открывающийся недалеко от вершины зуба. Однако у примитивной бирманской гадюки *Azemiops feae* отверстие ядовитого протока открывается продольной вертикальной щелью, образованной не сросшейся бороздой (рис. 17.4).

Большинство ядовитых змей имеют неподвижные ядовитые клыки, но у *Viperidae sensu lato* (гадюковые в широком смысле – включая ямкоголовых змей) они способны складываться внутрь при закрытии рта. Более того, у африканских земляных гадюк *Atractaspis* ядовитый зуб выходит наружу и при закрытой пасти, что дает возможность наносить укол не открывая пасть.

Ядовитые железы являются видоизменениями слюнных желез. У змей имеются как нижнегубные, так и верхнегубные слюнные железы. От последних обособлены железы Дювернуа, расположенные позади глаз и обладающие собственной соединительнотканной оболочкой. Они выделяют концентрированный и более богатый белками секрет, чем остальные слюнные железы. Формирование ядовитого аппарата у рептилий, как свидетельствуют данные палеонтологии, в отдельных случаях происходило, вероятно, очень рано, возможно даже, еще в конце палеозоя. Однако приобретение ядовитости в широком масштабе свойственно лишь змеям и наблюдается уже в неогене.

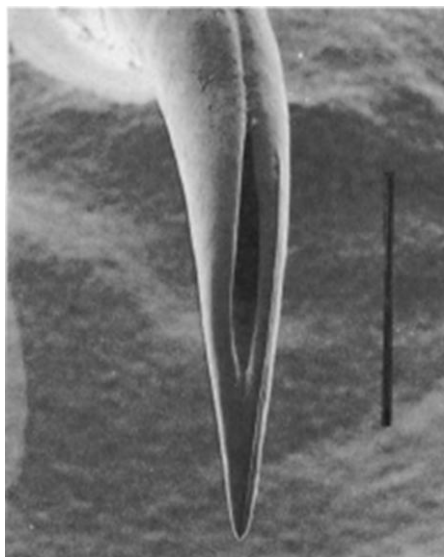


Рис. 17.4. Ядовитый зуб бирманской гадюки *Azemiops feae* (Mebs et al., 1994)

Они выделяют концентрированный и более богатый белками секрет, чем остальные слюнные железы.

Рассмотрим подробнее особенности строения ядовитого аппарата змей различных семейств. Ядовитый аппарат так называемых ложных ужей, или подозрительно ядовитых представлен ядовитыми железами (железа Дювернуа), протоки которых оканчиваются у основания увеличенных зубов, имеющих на своем переднем крае борозду, по которой и стекает яд (см. рис. 17.3А). Эти зубы сидят на заднем крае верхнечелюстной кости и отделены от других беззубым промежутком. В связи с этим определенные трудности представляет и получение яда у колюбрид. Так, для получения секрета железы Дювернуа подвязочной змеи *Thamnophis elegans vargans*

была разработана специальная микроаспирационная техника, позволяющая отсасывать секрет прямо от основания ядовитого зуба.

Морские змеи питаются рыбами, и это определило как особенности строения их ядовитого аппарата (см. рис. 17.3Б), так и высокую токсичность, нейротропное действие. Позади ядовитых зубов, расположенных на переднем конце верхней челюсти, находится до 18 мелких зубов, функция которых состоит в удержании пойманной добычи. Токсичность яда у разных видов очень различна.

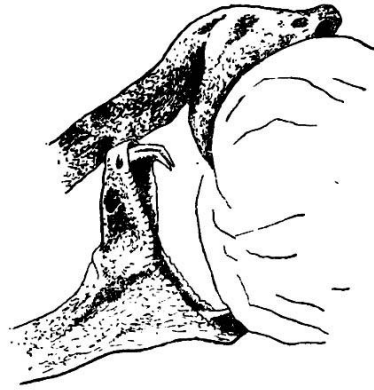
У аспидов крупные ядовитые зубы располагаются на переднем конце верхнечелюстной кости, которая заметно укорочена. Зубы прикреплены неподвижно, и число их сильно варьирует у разных видов: наблюдается тенденция к сокращению зубов у наиболее прогрессивных форм (от 8–15 у наиболее примитивных австралийских видов до 1 пары у американских аспидов и африканских мамб). Строение самого зуба аспидов (рис. 17.3В) наглядно демонстрирует происхождение канала в трубчатом зубе путем постепенного смыкания краев бороздки на поверхности зуба.

Длинные ядовитые зубы гадюковых змей находятся на самом переднем крае верхней челюсти и легко проникают через покровы животных. Значительное удлинение самого зуба потребовало выработки специального приспособления для его «укладки» при закрывании рта. При атаке пасть змеи раскрывается до  $180^\circ$ , что дает возможность занять зубу «боевое положение», обеспечивающее его входение в ткани жертвы перпендикулярно, то есть под углом, близким к  $90^\circ$ . Канал в зубе полностью замкнут, и на его поверхности нет даже следов бороздки (см. рис. 17.3Г). Весьма интересно, что при укусе у гадюковых и гремучих змей первой тела жертвы касается нижняя челюсть, которая как бы фиксируется, позволяя сделать прокол покровов тела ядовитыми зубами верхней челюсти (рис. 17.5). Это было обнаружено методом стробоскопического фотографирования.

На примере гадюк более подробно разберем строение ядовитого аппарата змей. Парные ядовитые железы располагаются в височной области позади глаз и имеют одинаковое строение у разных представителей семейства, отличаясь в сущности лишь величиной в зависимости от размеров змеи. Функционирующая часть железы представляет собой сплюснутый сверху мешочек в виде удлиненного треугольника, который окружен прочной соединительнотканной капсулой, прикрепленной к костям черепа тремя основными связками, которые растягивают ее и придают треугольную форму. Кроме этих связок имеется также много тонких апоневрозов, идущих от железы к верхней губе и в других направлениях. К капсуле с внутренней стороны, сверху и снизу прикрепляется массивная мышца из затылочно-височного комплекса, которая примыкает к костям черепа вместе с железой. Сокращаясь со всем затылочно-височным комплексом при открывании рта, эта мышца давит на железу, и яд через проток поступает к ядовитому зубу. Проток, изгибаясь, идет под глазом вдоль верхнегубной слюнной железы, слегка расширяется в передней трети своей длины и открывается в складку слизистой оболочки, окружающей основание зуба. Отсюда яд по каналу, пронизывающему зуб, попадает в тело жертвы.



А



Б

Рис. 17.5. Механизм укуса змеи: А – фото М.В. Пестова, Б – по Карг (1977)

Ядовитая железа гадюк состоит из нескольких частей: основной железы, занимающей  $\frac{2}{3}$  задней части железы, первичного протока, двуразделенной придаточной железы и вторичного протока, ведущего к ядовитому зубу. Основная часть железы имеет сложное ячеистое строение. От соединительнотканной капсулы внутрь железы отходят массивные перегородки, состоящие из плотной соединительной ткани, богатой коллагеновыми волокнами. Эти перегородки идут к центру железы под острым углом к продольной оси железы и соединяются между собой более тонкими перегородками, образующими ячейки или трубочки округло-прямоугольного сечения, поверхность которых покрыта железистым эпителием (рис. 17.6). Выделяющийся секрет скапливается в центральной полости железы.

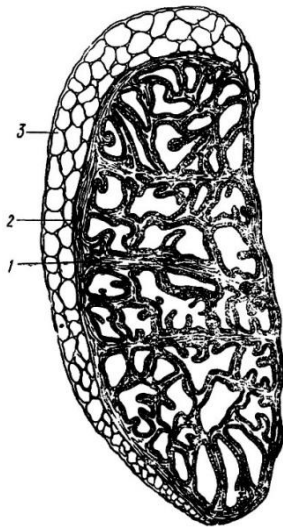


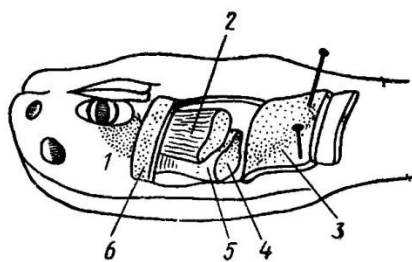
Рис. 17.6. Поперечный срез ядовитой железы *Vipera aspis* (Физали, 1922):  
1 – междольковая перегородка; 2 – мембрана; 3 – фасция височной мышцы-компрессора

Установлено, что меланоциты покровных тканей, мышц и самой железы играют защитную роль, экранируя яд от ультрафиолетового излучения (рис. 17.7). Они обнаружены в эпидермисе, дерме, подкожной клетчатке, мышцах, окружающих железу, стенке соединительнотканной капсулы и, наконец, в

трабекулах самой железы. Функционирование железы происходит непрерывно, то усиливаясь, то ослабевая. Соответственно этому меняется как форма клеток железистого эпителия (от плоского до призматического), так и характер складчатости внутренних перегородок: при резко выраженном наполнении септы истончаются и сплющиваются, видимо, за счет увеличения давления на них секрета, находящегося в просветах. Естественный укус или искусственное получение яда стимулирует секреторную активность железы, достигающей своего максимума через 7–8 дней.

Рис. 17.7. Локализация меланина (точки на рисунке) в тканях головы гремучей змеи (Po et al., 1978):

1 – эпидермис; 2 – мышцы; 3 – подкожная клетчатка; 4 – трабекулы ядовитой железы; 5 – стенка соединительной капсулы; 6 – дерма



Сравнительно-морфологические данные позволяют достаточно четко проследить эволюционные преобразования в ядовитом аппарате змей из различных семейств, что отражает основные особенности их питания. Естественная ядовитость слюны отдельных представителей змей легко объяснима с точки зрения наличия в ней различных протеолитических и других ферментов. Это свойство, безусловно, могло закрепляться в дальнейшем, так как существенно увеличивало эффективность охоты. Затем отдельные железы (верхнегубные, височные) специализировались на выработке ядовитого секрета. Одновременно с этим происходило, видимо, формирование и совершенствование аппарата для введения яда в тело жертвы.

Приобретение ядовитого аппарата и усовершенствование его оказалось биологически выгодным для змей. Средний видовой ареал у неядовитых, заднебороздчатых и переднебороздчатых змей существенно различается. У первой группы он равен 2.87 условной площадки, у второй – 3.95 и у третьей – 5.35. Время, которое потребовалось на выработку такого совершенного ядовитого аппарата, каким обладают змеи, охватывает промежуток порядка 60 млн лет.

### 17.1.2. Токсичность и ядопродуктивность змей

Существует большая вариабельность в токсичности яда различных змей (табл. 17.1). С возрастом в условиях неволи токсичность яда змей падает. Змеи обычно плохо переносят неволю, и содержание их в серпентариях с целью периодического получения яда – задача отнюдь не простая. Так, у среднеазиатских змей получение яда целесообразно проводить не чаще одного раза в месяц.

Однозначной зависимости между числом последовательных укусов, наносимых змеей, и количеством выделяемого при этом яда не наблюдается. Так, палестинская гадюка *Vipera palaestinae* при трех последовательных укусах выделяет примерно одинаковое количество яда, не зависящее к тому же от размеров тела жертвы (мышь и крысы). Напротив, австралийская тигровая змея *Notechi scutatus* с каждым укусом выделяет все меньше яда. С другой стороны, австралийский тайпан *Oxyuranus scutellatus* способен увеличивать количество яда, выделяемого при трех последовательных укусах, соответственно 20.8; 36.5 и 47.5 мг. Королев-

ская кобра *Ophiophagus hannah*, имеющая максимальные размеры среди ядовитых змей (5.5 м), может выделить до 420 мг сухого яда за «доение». Относительно низкая токсичность яда (DL<sub>50</sub> 1.2–3.5 мг/кг) при внутривенном введении компенсируется большим количеством выделяемого яда.

Таблица 17.1

**Ядопродуктивность и токсичность яда некоторых змей  
(Russel, Paffer, 1970)**

Вид	Длина взрослой особи, см	Выход яда (сухой остаток), мг	DL <sub>50</sub> , мг/кг
<i>Enhydrina schistosa</i>	30–48	7–20	0.01*
<i>Notechis scutatus</i>	30–56	30–70	0.04
<i>Vipera russelli</i>	40–50	130–250	0.08*
<i>Bungarus caeruleus</i>	36–48	8–20	0.09*
<i>Crotalus scutulatus</i>	22–40	50–90	0.23
<i>Naja naja</i>	45–65	170–325	0.40
<i>Dendroaspis angusticeps</i>	50–72	60–95	0.45*
<i>Vipera berus</i>	18–24	6–18	0.80
<i>Micrurus fulvius</i>	17–28	2–6	0.97
<i>Crotalus adamanteus</i>	32–65	370–700	1.89
<i>Echis carinatus</i>	16–22	20–35	2.30*
<i>Bitis arietans</i>	30–48	130–200	3.68
<i>Crotalus atrox</i>	30–65	175–320	3.71
<i>Bothrops atrox</i>	46–80	70–160	3.80
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	30–50	99–145	5.11
<i>Lachesis muta</i>	70–110	280–450	5.93

\*При внутривенном введении, в остальных случаях – при внутрибрюшинном.

### 17.1.3. Эпидемиология змеиных укусов

С древнейших времен и до наших дней укусы змей представляют серьезную опасность для здоровья человека. Несмотря на значительные успехи, достигнутые современной медициной в лечении отравлений змеиными ядами, смертность от укусов ядовитыми змеями по-прежнему довольно высока. Рис. 17.8 дает представление о географии и количестве змеиных укусов в мировом масштабе.

Статистика змеиных укусов и вызванных ими смертей по разным источникам весьма расходится. Так, по заниженным оценкам во всем мире происходит 421000 отравлений змеиными ядами, приводящими к 20000 смертельных исходов ежегодно. Однако по завышенным оценкам в мире может происходить 1841000 отравлений, заканчивающихся смертельным исходом в 94000 случаев. Если принять, что одно отравление приходится на каждые четыре змеиных укуса, то ожидаемое число змеиных укусов оценивается между 1.2 и 5.5 млн ежегодно, что может привести к смерти более 100 тыс. человек. Следует признать, что змеиные укусы представляют собой серьезную угрозу для общественного здравоохранения и приводят к повышению заболеваемости и смертности во всем мире. Наибольшую опасность они представляют в Южной Азии, Юго-Восточной Азии и Африке к югу от Сахары (табл. 17.2).



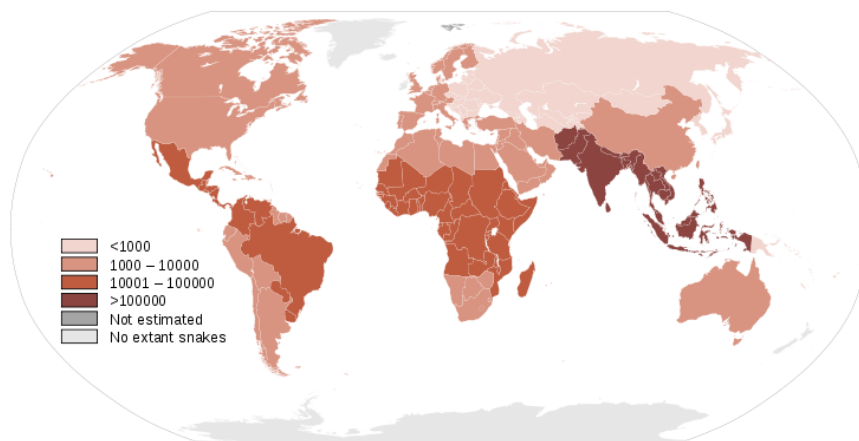


Рис. 17.8. Количество змеиных укусов в год в различных регионах земного шара (Kasturiaratne et al., 2008)

Таблица 17.2

Эпидемиология змеиных укусов в регионах мира (Chippaux, 1998)

Регион	Численность населения ( $\times 10^6$ )	Общее количество укусов	Количество отравлений	Количество смертей
Европа	730	25000	8000	30
Средняя Азия	160	20000	15000	100
США и Канада	270	45000	6500	15
Центральная и Южная Америка	400	300000	150000	5000
Африка	760	1000000	500000	20000
Азия	3500	4000000	2000000	100000
Океания	20	10000	3000	200
Всего	5840	5400000	2682500	123345

Надежной статистики змеиных укусов в России нет. По данным Международного общества токсикологов, в России ежегодно регистрируется свыше 500 случаев укусов ядовитыми змеями, из которых смертельным исходом заканчивается от 35 (7%) (по заниженным оценкам) до 62 (12.4%) (по завышенным оценкам) инцидентов. Дополнить эту информацию можно эпидемиологическими исследованиями на сопредельных территориях.

Так, за период 1995–2000 гг. в госпиталь университета Турку (Финляндия) обратились 68 пациентов, укушенных обыкновенной гадюкой *Vipera berus*. Смертельных исходов отмечено не было. У 10% пострадавших наблюдалось тяжелое течение отравления, у 21% – умеренной тяжести и у 35% – легкой. Наиболее тяжелые случаи имели место у детей в возрасте до 10 лет. Отмечена эффективность своевременного применения моновалентной противозмеиной сыворотки.

По состоянию на 1981 г. ВОЗ регистрировала ежегодно в Швеции около 1300 случаев укусов гадюкой обыкновенной, из которых были госпитализированы 12% пострадавших, а в 0.3% случаев укус заканчивался смертельным исходом. По более поздним сведениям в 1995 г. в Швеции был госпитализирован

Таблица 17.3

**Встречаемость наиболее опасных змей в странах Азии  
(Savai, 1980)**

Страна	<i>Agkistrodon</i> (щитомордник)	<i>Trimeresurus</i> (куфия)	<i>Vipera</i> (гадюка)	<i>Naja</i> (кобра)	<i>Ophiophagus</i> (кобра)	<i>Bungarus</i> (крайт)	<i>Hydrophis</i> (ластохвост)
Япония	++*	++*	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Корея	++	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Гонконг	(-)	++	(-)	+	+	+	+
Китай	++*	++	+	+	+	+	+
Тайвань	+*	++*	+	+	(-)	+	(-)
Филиппины	(-)	+	(-)	++*	+	(-)	+
Таиланд	++*	++*	+	++*	+	+	+
Малайзия	++*	+	(-)	++*	+	+	++*
Бирма	(-)	+	++*	+	+	+	+
Индонезия	+*	++	+	+	+	+	+
Шри-Ланка	+	(-)	++**	++**	(-)	++**	+
Индия	+	+	++*	++*	+	+	+

Условные обозначения: (+) – встречается в данной стране; (++) – широко распространена; (-) – не встречается; (\*) – сыворотка против яда данной змеи производится в стране; (\*\*\*) – сыворотка импортируется.

231 пациент, укушенный гадюкой обыкновенной. Максимальная тяжесть отравления наблюдалась не более чем в 11% случаев, тяжелая – в 13%, умеренная – в 29%, незначительная – в 47%. У нескольких пациентов с первоначально незначительными или умеренными симптомами отравления впоследствии развилась тяжелая картина отравления. Подчеркивается, что по сравнению с 1975 г. лечение было более эффективным, что связывают с применением моновалентной сыворотки.

Тяжесть клинической картины отравления змеиными ядами зависит от биологических особенностей как хищника (змеи), так и ее жертвы. Известно, что токсичность различных образцов змеиного яда, даже собранных у одного и того же вида змей, варьирует в зависимости от пола и физиологического состояния особи, ее возраста, степени упитанности, времени года, способа получения, высушивания и хранения яда, а также от географического распространения данной популяции змей. С другой стороны, важное значение имеет видовая чувствительность различных животных к одному и тому же яду. Следует также учитывать количество введенного в организм яда, место его инокуляции, особенности распространения в организме, превращения и выведения яда из организма жертвы. В аридных зонах, где мощным дополнительным патогенетическим фактором выступает повышенная температура окружающей среды, тяжесть картины отравления ядами змей может в значительной степени возрасти.

Проблема идентификации вида укусившей человека змеи имеет большое практическое значение, так как ни сам пострадавший, ни врач зачастую не могут правильно определить вид змеи, даже если ее удалось поймать или убить. Чаще всего больной обращается за врачебной помощью спустя опреде-

ленное время после укуса, когда яд уже начал действовать и необходимо срочно начинать лечение.

В местностях, где опасность представляют один-два вида ядовитых змей, особой сложности в выборе методов лечения не возникает. Обычно вводят моно- или поливалентную сыворотку и назначают симптоматическое лечение по медицинским показаниям. В более сложном положении оказывается врач в районах, изобилующих ядовитыми змеями (табл. 17.3). В этом случае тактика лечения должна обязательно учитывать особенности патофизиологических механизмов действия различных змеиных ядов, обусловленные в первую очередь своеобразием их химического состава. Применение иммуноферментного анализа (ИФА<sup>159</sup>, enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) позволяет точно определить вид укусившей змеи и, следовательно, правильно выбрать нужную моновалентную лечебную сыворотку.

#### 17.1.4. Общая характеристика химического состава змеиных ядов

Змеиные яды – сложный комплекс биологически активных соединений – ферментов (главным образом гидролаз, табл. 17.4), токсических полипептидов, ряда белков со специфическими биологическими свойствами (фактор роста нервов, антикомплементарный фактор), а также неорганических компонентов.

Фосфолипаза  $A_2$  – своеобразная «визитная карточка» змеиных ядов. Фосфолипаза  $A_2$  присутствует в змеиных ядах в виде изоэнзимов, вызывающих широкий спектр патологических эффектов: блокирование синаптической передачи на пресинаптическом и постсинаптическом уровнях, миотоксическое и кардиотоксическое действие, гемолиз, антикоагулянтное и антиагрегационное действие, гипотензию, внутренние кровоизлияния, отеки, повреждения органов и тканей. Структурно фосфолипазы  $A_2$  змеиных ядов могут быть разделены на два класса. Энзимы класса I представлены в ядах элапид и морских змей, а класса II – в ядах гадюк и гремучих змей, и они различаются первичной структурой. Кроме того, энзимы класса I имеют дисульфидную связь Cys11–Cys77, отсутствующую у ферментов класса II. Однако фосфолипазы класса II имеют альтернативную дисульфидную связь Cys51–Cys133 в С-концевой части молекулы (рис. 17.9).

---

<sup>159</sup> ИФА – высокочувствительный метод иммунохимического анализа на основе ферментсвязанного иммуносорбента, используемый для определения специфических антигенов в сложной смеси. В наиболее распространенном варианте этого теста применяют два препарата антител: первичные антитела, специфические для тестируемого белка, адсорбируют на твердую подложку, к которой добавляют определенное количество анализируемого образца; затем для выявления комплекса «антитело – антиген» добавляют вторичные антитела, специфичные для другого участка тестируемого белка, которые конъюгированы с ферментом. Фермент катализирует изменение окраски специального субстрата, добавляемого в последнюю очередь, что регистрируется фотометрически. Этот тест широко используется для диагностики различных заболеваний.

Таблица 17.4

## Основные ферменты змеиных ядов (Jimenez-Poggas, 1970)

Рекомендуемое (рабочее) название	Шифр	Систематическое название
<i>Ферменты, найденные во всех змеиных ядах</i>		
Гиалуронидаза	3.2.1.35	Гиалуронат лиаза
Фосфолипаза A <sub>2</sub>	3.1.1.4	Фосфатид-ацилгидролаза
5'-Нуклеотидаза (АМФаза)	3.1.3.5	5'-Рибонуклеотид-фосфогидролаза
Фосфодиэстераза (экзонуклеаза)	3.1.4.1	Фосфогидролаза ортофосфорных диэфиров
Дезоксирибонуклеаза (ДНКаза, эндонуклеаза)	3.1.4.6	Дезоксирибонуклеат-3-нуклеотидогидролаза
Рибонуклеаза (РНКаза, эндонуклеаза)	2.7.7.16	Полирибонуклеотид-2-олигонуклеотидтрансфераза (циклизующая)
Аденозинтрифосфатаза (АТФаза)	3.6.1.8	АТФ-пирофосфогидролаза
Нуклеотидпирофосфатаза (НАДаза, ДФНаза)	3.6.1.9	Динуклеотид-нуклеотидогидролаза
Оксидаза L-аминокислот *	1.4.3.2	L-аминокислот O <sub>2</sub> -оксидоредуктаза (дезаминирующая)
Экзопептидаза	3.4.3	Дипептид- и трипептидгидролаза
<i>Ферменты, найденные только или главным образом в яде Elapidae</i>		
Ацетилхолинэстераза**	3.1.1.7	Ацетилхолин-ацетилгидролаза
Щелочная фосфатаза*	3.1.3.1	Фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты
Кислая фосфатаза*	3.1.3.2	То же
<i>Ферменты, найденные в ядах Crotalidae, Viperidae</i>		
Протеазы		
Гидролаза L-аргининовых эфиров		

\* Не найдены в ядах морских змей.

\*\* Отсутствует в ядах *Micrurus nigrocinctus*, *Dendroaspis angusticeps*, *Naja nigricollis*, *Pseudechis colletti*.

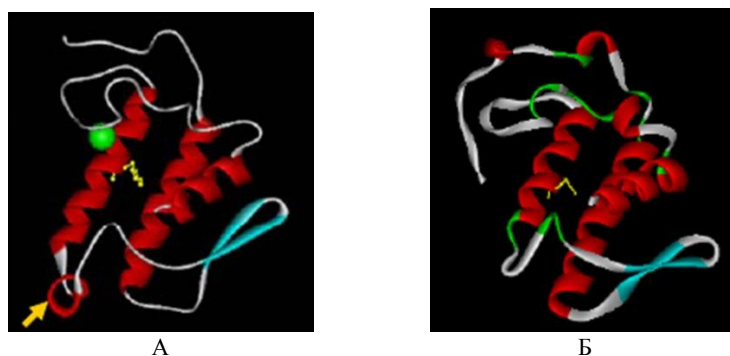


Рис. 17.9. Трехмерная структура изоэнзимов фосфолипазы A<sub>2</sub> змеиных ядов класса I (А) и класса II (Б). Стрелка показывает «панкреатическую», или «элапидную» петлю, присутствующую только у энзимов класса I (Pung, 2005)

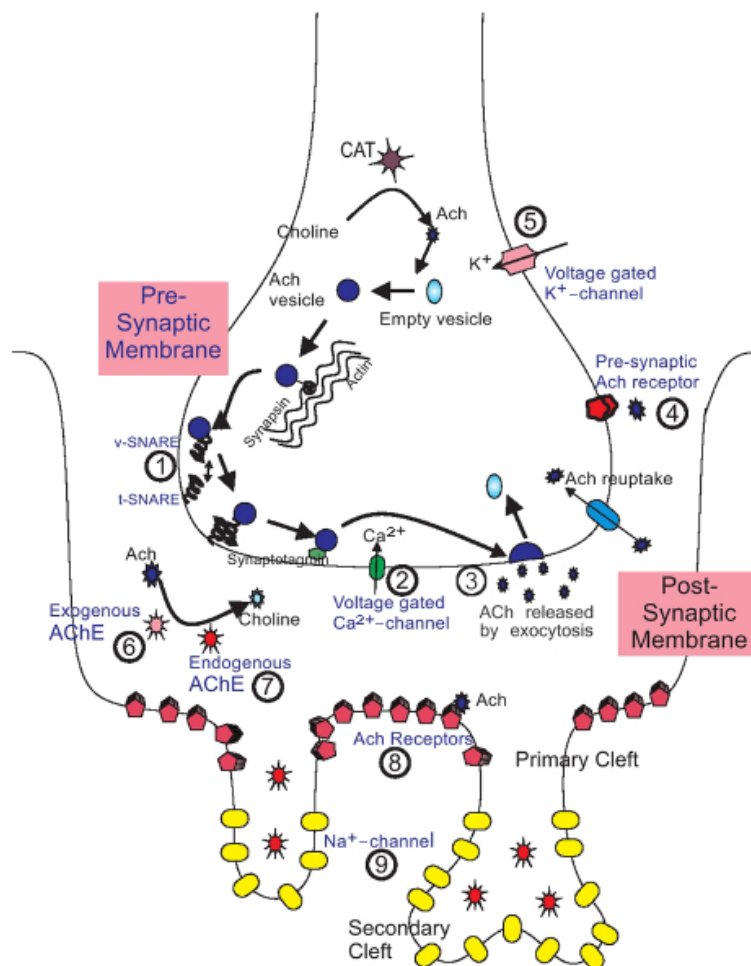


Рис. 17.10. Полимодальное действие нейротоксинов змеиных ядов на нервно-мышечный синапс. 1. Белки синаптических везикул:  $\beta$ -бунгаротоксин (*Bungarus* spp.), тайпоксин (*Oxyuranus scutellatus*). 2. Потенциал-управляемые кальциевые каналы: кальцисептин (*Dendroaspis* spp.),  $\beta$ -бунгаротоксин (*Bungarus* spp.). 3. Пресинаптическая мембрана: токсины с фосфолипаза  $A_2$  активностью. 4. Пресинаптический ацетилхолиновый рецептор: кандоксин (*Bungarus candidus*). 5. Потенциал-управляемые калиевые каналы: дендротоксин (*Dendroaspis* spp.). 6. Ацетилхолин: лизис экзогенной ацетилхолинэстеразы яда кобры (*Naja* spp.). 7. Ацетилхолинэстераза: ингибиторы эндогенной ацетилхолинэстеразы в змеиных ядах: фасцикулины (*Dendroaspis* spp.). 8. Пост-синаптический ацетилхолиновый рецептор:  $\alpha$ -бунгаротоксин (*Bungarus* spp.), кандоксин (*Bungarus candidus*), аземипсин (*Azemiops feae*), ваглерин (*Tropidolaemus wagleri*) (Ranawaka et al., 2013)

Яды большинства гадюк и гремухих змей, кроме нейротоксинов, обладают мощной системой ферментов с трипсино-, тромбино- и калликреиноподобным действием. В результате отравления развиваются обширные некрозы, геморрагические отеки, обусловленные как повышением сосудистой проницаемости, так и нарушениями в системе свертывания крови.

В состав яда многих видов змей входят токсические полипептиды (нейротоксины), специфически блокирующие синаптическую передачу в холинергических нервно-мышечных синапсах. Смерть отравленных животных и человека наступает, как правило, от недостаточности функции внешнего дыхания на фоне поражения ЦНС.

Все выделенные к настоящему времени из ядов змей токсические полипептиды по механизму действия в первом приближении можно разделить на несколько основных групп (рис. 17.10). К первой группе относятся токсины, специфически блокирующие Н-холинорецепторы постсинаптической мембраны скелетной мускулатуры и М-холинорецепторы некоторых отделов ЦНС и ВНС (постсинаптические нейротоксины).

Вторая группа представлена токсинами с высокой степенью избирательности, воздействующими на пресинаптические нервные окончания и нарушающими процесс высвобождения медиатора (пресинаптические нейротоксины).

К третьей группе можно отнести полипептиды (так называемые кардиотоксины и цитотоксины), активно воздействующие на мембраны клеток, в том числе и возбудимые, вызывая их деполяризацию, и получившие название мембраноактивных полипептидов (МАП).

В особую группу можно выделить токсины, ингибирующие ацетилхолинэстеразу нервно-мышечного синапса и т.д.

Принимая во внимание полимодальный характер действия змеиных ядов на синапс – наиболее уязвимую мишень в нервно-мышечной системе, не удивительно, что во многих случаях симптомы отравления змеиными ядами имеют сходную симптоматику с такими заболеваниями как миастенический синдром Ламберта – Итона, нейромитония, синдром Исаака, миастения гравис.

Содержание токсинов различных групп в ядах змей весьма неравномерно. Так, яд морских змей характеризуется высоким содержанием постсинаптических нейротоксинов, что характерно и для яда кобр (род *Naja*), содержащих кроме того и МАП. В яде индийских змей рода *Bungarus* (крайта, памы) найдены токсины всех трех групп; яд австралийских змей (тайпана, тигровой змеи) характеризуется преимущественным содержанием пресинаптических токсинов. Последние характерны также для гремучих и гадюковых змей.

Активность индивидуальных токсинов змеиных ядов весьма высока, и токсичность ядов в основном определяется содержанием в них токсических полипептидов (табл. 17.5).

Таблица 17.5

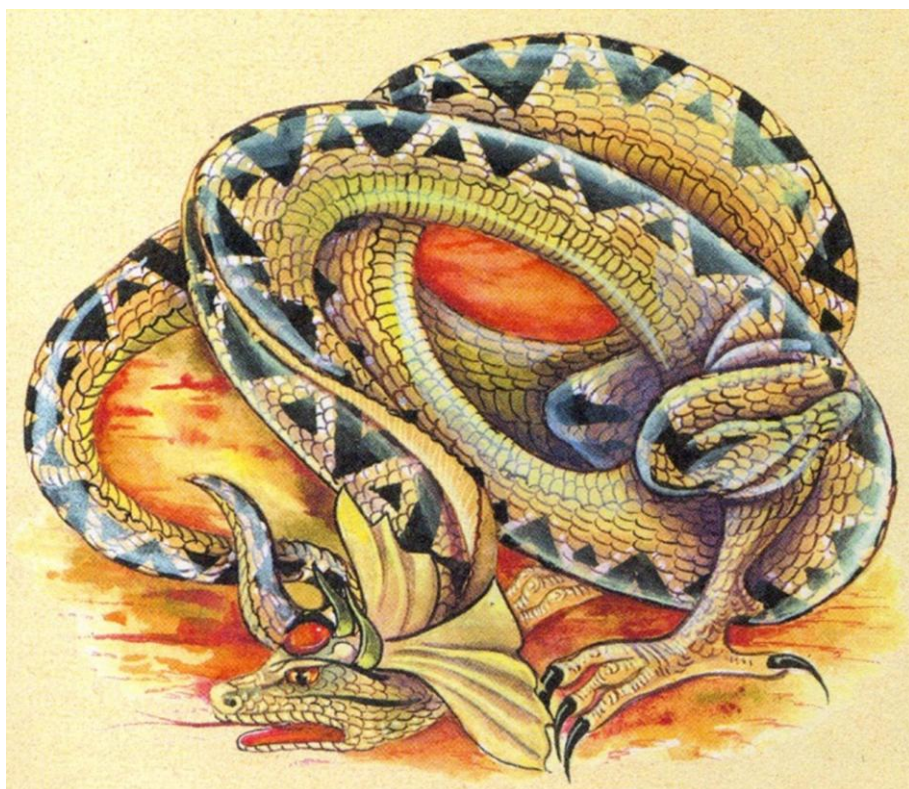
**Токсичность некоторых полипептидов из яда змей**

Токсин	DL <sub>50</sub> , мкг/кг
Тайпоксин ( <i>Oxyuranus scutellatus</i> )	2
Нотексин ( <i>Notechis scutatus</i> )	17
β-Бунгаротоксин ( <i>Bungarus multicinctus</i> )	25
Кобротоксин ( <i>Naja n. atra</i> )	74
Нейротоксин II ( <i>Naja oxiana</i> )	84
Кротоксин ( <i>Crotalus durissus terrificus</i> )	100
α-Бунгаротоксин ( <i>Bungarus multicinctus</i> )	1100
Цитотоксин ( <i>Naja oxiana</i> )	1300
Кардиотоксин ( <i>Naja n. atra</i> )	1480

Более подробная характеристика химического строения и механизма действия наиболее полно изученных нейротоксических полипептидов змеиных ядов будет дана при рассмотрении ядовитых змей соответствующих семейств.

## АСПИДЫ (Elapinae)

Как рассказывает легенда, однажды во время своих странствий Будда так измучился, шагая по раскаленной пустыне, что упал без сил. Проползавшая мимо кобра раздула свой капюшон и прикрыла им Будду от смертоносных палящих лучей Солнца, как зонтиком (впоследствии Будда изображался сидящим под укрытием кобры с семью капюшонами). Очнувшись в тени, Будда в знак благодарности прикоснулся к змее двумя пальцами, и следы от пальцев (два круглых пятна, похожие на очки) остались у нее навсегда.



### 18.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОДСЕМЕЙСТВА ELAPINAE

**П**одсемейство Elapinae (Аспиды – кобры, коралловые змеи и др.) входит в состав семейства Elapidae (Аспидовые змеи) и содержит 347 видов, объединяемых в 61 род, все представители которых являются ядовитыми. По современной классификации это семейство включает и группу морских змей, ранее составлявших отдельное сем. Hydrophidae, включённое теперь в сем. Elapidae на правах подсемейства Hydrophiinae. Таким образом, сем. Elapidae состоит из 2 подсемейств: Elapinae (Аспиды) и Hydrophiinae (Морские змеи) (табл. 18.1).

Таблица 18.1

Наиболее изученные в токсинологическом плане роды подсемейств Elapinae и Hydrophiinae

Подсемейство Elapinae	Подсемейство Hydrophiinae
Щитковые кобры ( <i>Aspidelaps</i> )	Смертельные змеи ( <i>Acanthophis</i> )
Крайты ( <i>Bungarus</i> )	Ластохвосты ( <i>Hydrophis</i> )
Мамбы ( <i>Dendroaspis</i> )	Плоскохвосты ( <i>Laticauda</i> )
Ошейниковые кобры ( <i>Hemachatus</i> )	Тигровые змеи ( <i>Notechis</i> )
Коралловые аспиды ( <i>Micrurus</i> )	Тайпаны ( <i>Oxuranus</i> )
Кобры ( <i>Naja</i> )	Пеламиды ( <i>Pelamis</i> )
Королевские кобры ( <i>Ophiophagus</i> )	Чёрные змеи ( <i>Pseudechis</i> )
Древесные кобры ( <i>Pseudohaje</i> )	Ложные кобры ( <i>Pseudonaja</i> )

Своим внешним видом (стройным телосложением, гладкой спинной чешуёй и крупными симметричными щитками на голове) аспиды напоминают ужей, поэтому их нередко называют также «ядовитыми ужами». Длина тела колеблется от 40 см у арizonского аспида (*Micruroides euryxanthus*) до 4 м у чёрной мамбы (*Dendroaspis polylepis*) и более 5.5 м у королевской кобры (*Ophiophagus hannah*). Голова у большинства видов закруглённая спереди и не отграничена от туловища шейным перехватом. Зрачок круглый, у рода смертельные змеи – вертикальный. Левое лёгкое рудиментарно или вообще отсутствует. Окраска разнообразная, но наиболее типичны два варианта. Крупные наземные и древесные формы (кобры, мамбы и др.) имеют серую, песочную, бурюю или зелёную окраску, однородную или с неясным рисунком. Более мелкие формы (коралловые и украшенные аспиды) имеют на теле яркий, контрастный рисунок, состоящий из чередования красных, жёлтых, чёрных колец.

Аспиды широко распространены в субтропической и тропической зонах всех материков, за исключением Европы (рис. 18.1).

В Австралии встречаются наиболее примитивные формы, и здесь же наблюдается наибольшая экологическая радиация этой группы – отмечается даже конвергентное сходство ряда видов с представителями семейства гадюк и ямкоголовых змей, которые не проникли на этот материк. Примером может служить австралийская смертельная змея *Acanthophis antarcticus*, которая по морфологии и пищевому поведению очень сходна с наземными гадюками. Из австралийских змей очень опасной также является тайпан *Oxuranus scutellatus*, достигающий 3–3.5 м в длину и обитающий в Северо-Восточной Австралии и на Новой Гвинее.





Рис. 18.1. Ареалы семейства Аспиды (Elapidae) (Дроздов, 1969)

Африка также рассматривается как древний центр формирования аспидовых, но здесь встречаются эволюционно более молодые и прогрессивные виды. Только здесь встречаются настоящие древесные виды (мамбы) и чисто водные аспиды (водяные кобры).

В Азии распространены еще более молодые и специализированные формы, наибольшее число видов здесь образуют крайты и украшенные аспиды. В Азии наибольшую известность получили два вида: королевская кобра, или гамадриад *Ophiophagus hannah* и индийская кобра, или очковая змея *Naja naja*. Среднеазиатская кобра (*N. oxiana*<sup>160</sup>), отличающаяся от индийской отсутствием характерного рисунка в виде очков на капюшоне, встречается на юге среднеазиатских республик бывшего СССР. Один из подвигов очковой змеи, обитающей на островах Ява, Калимантан и Малые Зондские, получил название плюющая кобра (*Naja sputatrix*) за способность выбрызгивать яд в сторону своего противника на расстояние свыше 2 м через отверстие в ядовитом зубе, что достигается резким сокращением мускулатуры, окружающей ядовитую железу (рис. 18.2). Эта же способность наблюдается и еще у некоторых подвигов и видов кобр, например у сиамской, или индокитайской черно-белой кобры *Naja siamensis*, а также у африканских: черношейной кобры *N. (Afronaja) nigricollis*, ошейниковой плюющей кобры (*Hemachatus haemachatus*) и др. Кстати, среднеазиатская кобра (*N. oxiana*) не использует «плевки» ядом.

Америка была заселена аспидовыми позже других материков, и видовое разнообразие здесь невелико. Аспиды Америки – очень однородная по своей морфологии и экологии группа. Отличаются высокоспециализированным зубным аппаратом: верхнечелюстная кость у них очень укорочена, и на верхней челюсти имеются только парные ядовитые зубы. Представлены аспиды в Америке самыми молодыми в эволюционном отношении и высокоспециализированными видами, которые объединяются всего в три рода, тогда как в Австралии их 22.

Для всех аспидов отмечается весьма характерная особенность их поведения при укусе: обычно они не делают мгновенного укуса, как, например, гадюки, а как бы «жуют», перебирая челюстями несколько раз, прежде чем выпустить жертву. В то же время при приближении опасности – «врага» – они не затаиваются, что

<sup>160</sup> Видовое название «oxiana» от греческого имени реки Аму-Дарья – «Oxos»



Рис. 18.2. Плюющая кобра (Wikipedia Commons)

характерно для гадюк, а предупреждают о себе шипением и принимают при этом иногда характерную позу угрозы, как, например, кобра.

Питание аспидов весьма разнообразно. Они могут питаться млекопитающими, птицами, змеями, ящерицами, лягушками, насекомыми, рыбой. В питании почти у всех аспидов, независимо от их специализации, наблюдается определенное «пристрастие» к змеям и другим рептилиям – рептилиофагия: поедать они могут при этом и ядовитых змей. Полноценное питание кобр в серпентариях, впрочем как и других животных в неволе, составляет проблему, однако по свидетельству одного из герпетологов кобры охотно поедали тушки мышат, фаршированные поливитаминами и обмазанные растительным маслом. Многие из них кормятся практически любой подходящей пищей, которую могут найти, в то время как другие употребляют в пищу только один или два определённых вида животных. Например, африканская ошейниковая кобра *Hemachatus haemachatus* предпочитает головастики. Большинство морских видов этого семейства обитают на коралловых рифах, где они питаются рыбой, угрями и кальмарами. Как правило, представители семейства Elapidae активно охотятся, используя свой ядовитый аппарат. Однако австралийская смертельная змея *Acanthophis antarcticus*, обнаружив добычу, подманивает её к себе, двигая только кончиком хвоста, который имитирует личинку насекомого. При приближении жертвы змея нападает.

### 18.1.1. Клиника отравления

Наиболее грозным симптомом отравления ядами аспидов является вялый паралич скелетной и дыхательной мускулатуры, приводящий к прогрессирующему

ослаблению дыхания вплоть до полной остановки. Однако сокращения сердца наблюдаются еще в течение нескольких минут. Местные явления при укусах некоторых аспидов (например кобры, бунгарусов) выражены незначительно; напротив, укусы австралийских элапид (тигровой змеи, тайпана и др.) сопровождаются миотоксическими эффектами (отеками с последующей дегенерацией мышечных волокон), что в определенной степени сближает австралийских змей с гадюковыми.

Нарушение функций внешнего дыхания при отравлении ядом элапид носит преимущественно периферический характер, однако полностью исключить действие яда на ЦНС нельзя. На это указывают не только экспериментальные факты, но и особенности течения клинической картины отравления.

У человека, укушенного коброй, после начальной кратковременной фазы возбуждения наблюдается прогрессирующее угнетение функций ЦНС, развивающееся на фоне ослабления дыхания. Больной становится вялым, апатичным, рефлексы затормаживаются, наступает патологический сон, во время которого резко ослабевают тактильная и болевая чувствительность. Смерть наступает от остановки дыхания. Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы затрагивают в основном уровень АД – наблюдается прогрессирующая гипотензия, особенно выраженная при попадании больших доз яда в общий кровоток (укус вблизи крупных сосудов). Шокогенное действие яда кобры обусловлено не только его токсическими компонентами, но и развитием процессов аутоинтоксикации вследствие усиленного высвобождения в организме физиологически активных веществ: гистамина, простагландинов, эндогенных опиатов и др.

Патогенез отравления ядом кобры носит весьма сложный характер, обусловленный, в первую очередь, многокомпонентным составом самого яда. С другой стороны, сам организм представляет для яда своеобразную «мозаичную мишень», в которой отдельные токсические компоненты имеют свои точки приложения: нейротоксины вызывают двигательный паралич, цитотоксины синергично с ферментами модифицируют клеточные мембраны, наконец, развиваются процессы аутоинтоксикации.

Наиболее эффективным средством лечения змеиных укусов вообще и элапид в частности является серотерапия. Выпуск противозмеиных сывороток налажен во многих странах мира. Кроме специфической (сывороточной) терапии, важное значение приобретают вопросы неспецифической терапии отравлений ядом элапид. Развивающаяся при отравлении ядом кобры и других элапид асфиксия представляет собой наиболее важный патологический процесс, на устранение которого должно быть направлено основное внимание. Своевременное и, что важно, продолжительное применение искусственного дыхания на фоне действия симптоматических средств обычно спасает больного. Из числа симптоматических средств, рекомендуемых при отравлении нейротропными ядами элапид, заслуживают внимания антихолинэстеразные препараты (прозерин и его аналоги) – для коррекции блокирующего действия токсинов на периферические Н-холинэргические синапсы. Вводить эти препараты следует на фоне атропина. Хорошие результаты дает также применение антигипоксантов – ГОМК, гутимин кортикостероидов, а также налоксона.

Из средств первой помощи в настоящее время рекомендуют, особенно при укусах австралийских змей, наложение тугой повязки на пораженную конечность, захватывающей место укуса. Повязка должна быть такой, какую обычно накладывают

при растяжении связок. Ни в коем случае нельзя накладывать давящий жгут, так как это может привести к развитию турникетного шока. Необходимо также обеспечить покой пораженной конечности, для этого можно наложить шину или лубок из подручных материалов. Самое главное – как можно быстрее доставить больного в медицинское учреждение для оказания квалифицированной помощи. Всегда нужно помнить, что скорость связывания токсинов яда с клетками-мишенями организма выше, чем нейтрализация этих токсинов антителами сыворотки. Поэтому введение сыворотки в отдаленные сроки может оказаться малоэффективным.

Своеобразие отравлений кобрами заключается еще и в уже упоминавшейся способности некоторых из них, например *Naja nigricollis*, выплевывать яд на расстояние нескольких метров, при этом капли яда могут попасть в глаз и вызвать как местные (кератиты, иридоциклиты, конъюнктивиты), так и общие симптомы отравления. Такие случаи отнюдь не редкость, например, в Нигерии из 115 случаев поражений ядом плюющей кобры *Naja nigricollis* в 81 случае наблюдались укусы конечностей, а в 34 – попадание в глаз. При своевременном лечении острота зрения может сохраниться.

## 18.2. ЯД ЗМЕЙ ПОДСЕМЕЙСТВА ELAPINAE

В настоящее время в яде элапид обнаружены ферменты, различные по строению и механизму действия токсические полипептиды и белки, в том числе пост- и пресинаптические токсины, мембраноактивные полипептиды (цитотоксины, кардиотоксины), так называемые «слабые» токсины (WT, weak toxins), относящиеся к классу «необычных» токсинов, а также высокомолекулярные белки CRISP-типа<sup>161</sup> и др. Общее представление о токсичности и биохимическом составе энзимов яда элапид на примере наиболее характерных их представителей – кобр дает табл. 18.2.

Наиболее изученным является семейство так называемых трехпетельных (трехпальцевых, three-fingered) белков змеиных ядов, представленных полипептидами, состоящими из 58–74 аминокислотных остатков, с характерной пространственной структурой, похожей на кисть руки с тремя «пальцами» (рис. 18.3).

Такие трехпетельные полипептиды встречаются в ядах аспидов, относящихся к кобрам (*Naja*), крайтам (*Bungarus*) и мамбам (*Dendroaspis*), некоторым морским змеям *sensu stricto* и в последнее время обнаружены у гадюк<sup>162</sup>. Вторичная структура представлена исключительно двумя антипараллельными β-слоями. Малый β-слой состоит из двух β-тяжей, остатки между которыми образуют так называемую первую петлю (в дальнейшем «петля I») молекулы. Большой β-слой состоит из трех β-тяжей, разделенных второй и третьей петлей соответственно.

---

<sup>161</sup> Белки GRISP-типа (cysteine-rich secretory proteins – секреторные белки с высоким содержанием остатков цистеина), для которых характерно наличие в молекуле 16 остатков цистеина, образующих 8 дисульфидных связей,  $M_r$  20–26 кДа.

<sup>162</sup> Кроме ядов змей, структурно гомологичные трехпетельные домены встречаются в составе других белков. Например, субъединицы рецептора плазминоген-активатора уракиназного типа человека состоят из трех доменов, структура каждого из которых представляет трехпетельный белок.

Таблица 18.2

**Токсикологическая и биохимическая характеристика  
яда азиатских кобр (Yap et al., 2011)**

Летальная / энзиматическая активность	Яды змей			
	<i>Naja sumatrana</i>	<i>Naja sputatrix</i>	<i>Naja siamensis</i>	<i>Naja kaouthia</i>
Токсичность (DL <sub>50</sub> )*, мкг/г	0.50 (0.40–0.62)	0.90 (0.59–1.36)	0.28 (0.18–0.42)	0.23 (0.115–0.34)
Оксидаза L-аминокислот, мкмоль/мин/мг	0.0059 ± 0.0002	0.0098 ± 0.0011	0.0119 ± 0.0006	0.0057 ± 0.0018
Фосфолипаза A <sub>2</sub> , мкмоль/мин/мг	311.2 ± 23.9	275.3 ± 0.0	239.4 ± 0	278.0 ± 43.9
Протеаза, ед./мг	0.40 ± 0.07	0.83 ± 0.27	0.67 ± 0.03	0.91 ± 0.39
Фосфодиэстераза, мкмоль/мин/мг	17.9 ± 0.8	20.9 ± 1.9	11.2 ± 0.9	14.8 ± 0.1
Щелочная фосфомоно- эстераза, мкмоль/мин/мг	1.15 ± 0.23	1.95 ± 0.11	4.47 ± 0.06	4.19 ± 0.69
5'-Нуклеотидаза, мкмоль/мин/мг	981.3 ± 277.1	589.7 ± 82.7	459.8 ± 17.6	1061.9 ± 45.9
Гиалуронидаза, ед./мг	28.4 ± 0.9	84.7 ± 3.2	112.6 ± 9.8	31.5 ± 3.9
Ацетилхолинэстераза, мкмоль/мин/мг	1.59 ± 0.23	6.02 ± 0.30	2.85 ± 0.00	3.77 ± 0.43

\* Мыши, внутрибрюшинное введение.

Все трехпетельные белки содержат четыре или пять дисульфидных связей. Четыре дисульфидные связи, расположенные в гидрофобном ядре молекулы (верхняя часть молекул на рис. 18.3) являются консервативными. Пятая дисульфидная связь может быть расположена во второй (κ-бунгаротоксин) или первой (кандоксин) петле молекулы (рис. 18.3А,В,Г). Несмотря на большую гомологию по пространственной структуре, трехпетельные белки сильно различаются по своей функции и спектру биологической активности. Особенности схемы укладки полипептидных цепей α-нейротоксинов различных классов, продуцируемых элапидами, представлены на рис. 18.5. В настоящее время установлена первичная структура многих нейротоксинов змеиных ядов (рис. 18.5). Образующиеся в процессе посттрансляционной модификации белков дисульфидные связи служат для поддержания третичной и четвертичной структур полипептидных нейротоксинов, необходимых для реализации их функциональной активности (рис. 18.4, 18.6). Далее целесообразно рассмотреть полипептидные токсины элапид в функциональном аспекте.

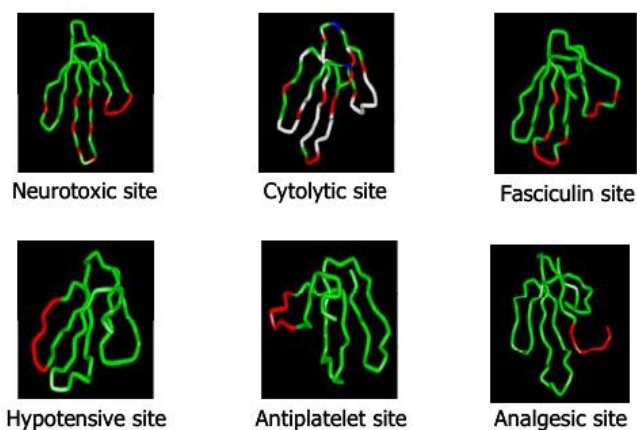
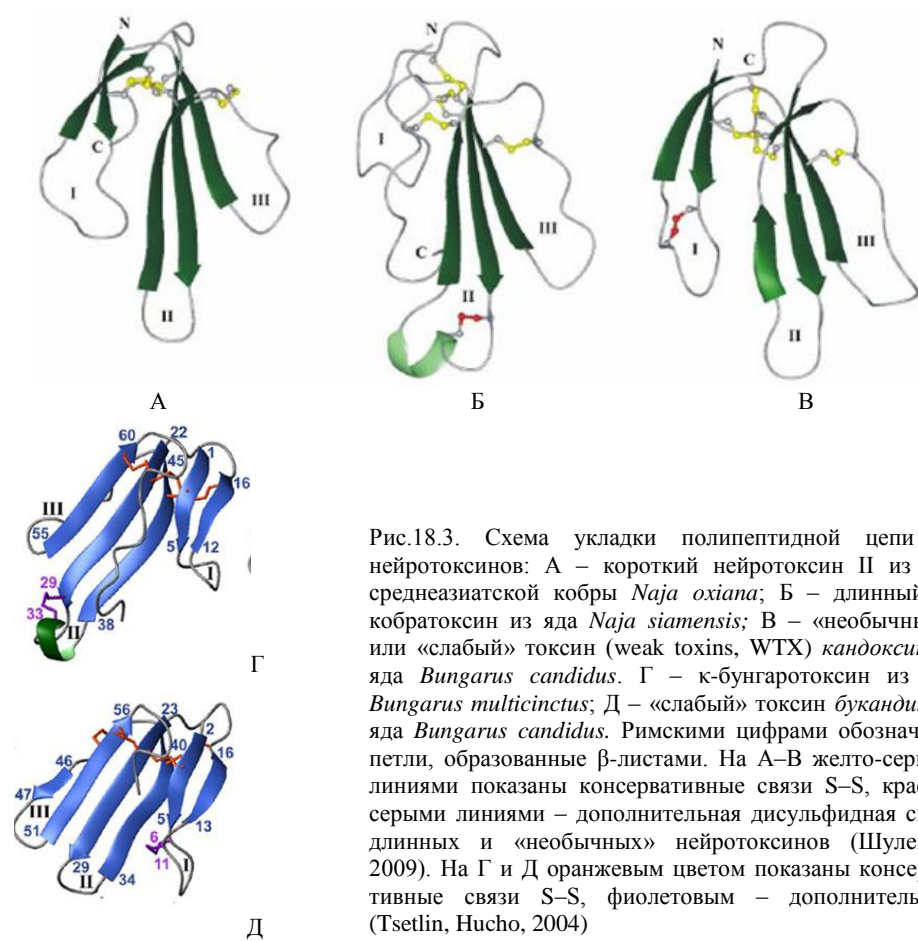
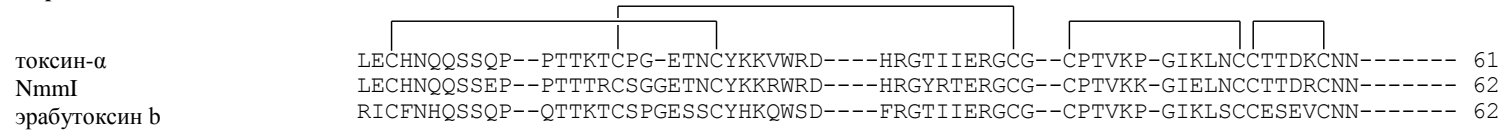


Рис. 18.4. Функциональные участки (обозначены красными сегментами) трехпетельных токсинов (Pung, 2005)

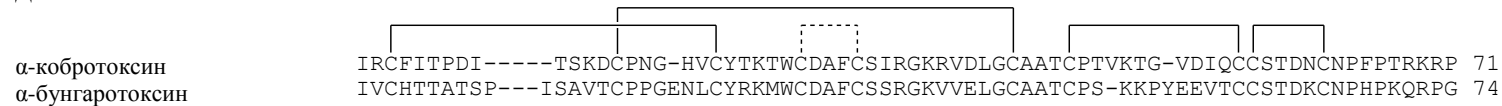
Виды змей	10	20	30	40	50	60	70
Bungarus multicinctus	IVCHTTATS-PISAVT	CPPGENLCYRKM	WCDAFCS	SRGKVVELG	CAATCPS	SKKPYE	EVTCCSTDK
Astrotia stokes	LSCYLG----	YKHSQTCPP	GENVCPVKT	WCDAFCST	RGERIVMG	CAATCPT	AKSGVHIACC
Pseudoechis australis	LT	CYKGR---	DRSSETCR	SEQELCCT	KTWCDQW	QDRGPR	LEMGTATC
Acanthophis antarcticus	VI	CYRGY----	NNPQTCPP	GENVCPTRT	WCDAFCS	SRGKVVELG	CAATCPI
Notechis scutatus	LI	CYMGF----	KTPRTCPR	GQNLCTYKT	WCDAFCS	SRGKVVELG	CAATCPI
Ophiophagus hannah	TK	CYKTGDR--	IIEACPPG	QDLCYMKT	WCDFVCG	TRGRVIELG	CAATCPT
Naja oxiana	IT	CYKTPIP--	ITSETCAP	GQNLCTYKT	WCDAWCS	SRGKVIELG	CAATCPT
Aspidlaps scutatus	RI	CYIAP----	YDHKTC	CAAGENI	CYLKAWC	DAWCS	SRGKKLEFG
Laticauda semifasciata	RE	CYLNP----	HDTQTC	PSGQEI	CYVKS	WCNAWCS	SRGKVLEFG
Naja haje haje	IR	CFITPD---	VTSQACPD	G-HVCYTKM	WCDFCG	MGRKRVDLG	CAATCPT
Naja nivea	IR	CFITPD---	VTSQACPD	G-HVCYTKM	WCDFCG	MGRKRVDLG	CAATCPT
Naja haje anchietae	IR	CFITPD---	VTSQACPD	GQNICTYKT	WCDFCG	MGRKRVDLG	CAATCPT
Naja melanoleuca	IR	CFITPD---	VTSQICAD	G-HVCYTKT	WCDFCAS	RGRKRVDLG	CAATCPT
Naja naja	IR	CFITPD---	ITSKDC	PNG-HVCYTKT	WCDFGCS	SRGKRVDLG	CAATCPT
Naja naja kaouthia	IR	CFITPD---	ITSKDC	PNG-HVCYTKT	WCDAFCS	IRGRKRVDLG	CAATCPT
Dendroaspis polylepis	RT	CNKTPS---	DQSKICPP	GENI	CYTKT	WCDAWCS	SRGKIVELG
Dendroaspis jamesoni	RT	CNKTPS---	DQSKICPP	GENI	CYTKT	WCDAWCS	SRGKIVELG
Dendroaspis viridis	LE	CHNQSS	ETPTTTC	SSGGETN	CYKKR	WRD----	HRGYRIERG
Naja sputatrix	LE	CHNQSS	ETPTTTC	SSGGETN	CYKKR	WRD----	HRGYRTERG
Naja mossambica	LE	CHNQSS	QPPTTKT	CPG-ETN	CYKKR	WRD----	HRGTIIERG
Naja pallida	LE	CHNQSS	QPPTTKT	CPG-ETN	CYKKR	WRD----	HRGSITERG
Naja haje annulifera	ME	CHNQSS	QPPTTKT	CPG-ETN	CYKKR	WRD----	HRGTIIERG
Naja melanoleuca	MI	CHNQSS	QPPTIKT	CS--EGQ	CYKKT	WRD----	HRGTISERG
Micrurus nigrocinctus	MQ	CNQSS	QPPTTTT	CPGGVSS	CYKKT	WRD----	HRGTIIERG
Acanthophis antarcticus	RR	CNFNQSS	QPQTNKS	CPPGENS	CYRQ	WRD----	HRGTIIERG
Laticauda laticaudata	RR	CNFNQSS	QPQTNKS	CPPGENS	CYRQ	WRD----	HRGTIIERG
Laticauda crockery	RR	CYFNQSS	QPQTNKS	CPPGENS	CYRQ	WRD----	HRGTIIERG
Laticauda colubrina	RR	CYFNQSS	QPQTNKS	CPPGENS	CYRQ	WRD----	HRGSITERG

Рис. 18.5. Выровненные аминокислотные последовательности  $\alpha$ -нейротоксинов различных змеиных ядов. Инвариантные аминокислотные остатки цистеина окрашены желтым цветом, не цистеиновые остатки – зеленым (Samson et al., 2004)

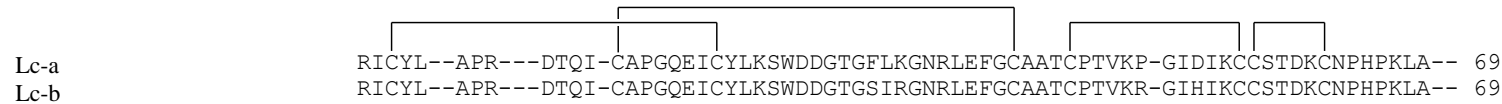
### Короткие токсины



### Длинные токсины



### Атипичные длинные токсины



### Необычные (слабые) токсины

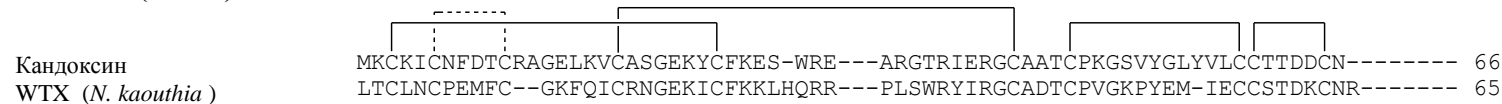


Рис. 18.6. Структура трехпетельных (loop I–III) нейротоксинов, взаимодействующих с мышечными никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами. Короткие токсины (short-chain toxins): токсин-α (*Naja nigricollis*), NmmI (*Naja mossambica mossambica*), эрабутоксин b (*Laticauda semifasciata*). Длинные токсины (long-chain toxins): α-кобротоксин (*Naja kaouthia*), α-бунгаротоксин (*Bungarus multicinctus*). Атипичные длинные токсины (atypical long-chain toxins): Lc-a и Lc-b (*Laticauda colubrine*). Необычные, или слабые токсины (non-conventional toxins, weak toxins, WTX): кандоксин (*Bungarus candidus*), WTX (*Naja kaouthia*) (Nirathanan, Gwee, 2004)



### 18.2.1. Постсинаптические нейротоксины

Функциональная активность постсинаптических  $\alpha$ -нейротоксинов элапид (еще называемых курарепоподобными) в первую очередь связана со способностью взаимодействовать с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами (НАХР)<sup>163</sup>.

Напомним, что НАХР представляет собой лиганд-зависимый ионный канал, встроенный в постсинаптическую мембрану нейронов, и является одним из наиболее распространенных рецепторов центральной и периферической нервных систем млекопитающих. В зависимости от локализации рецепторы семейства НАХР подразделяются на два больших класса: мышечные и нейрональные. НАХР-рецепторы мышечного типа состоят из 5 субъединиц (две  $\alpha 1$ , по одной  $\beta 1$ ,  $\gamma$  (или  $\epsilon$ ) и  $\delta$ ) и содержат два связывающих участка для агонистов/конкурентных антагонистов, локализованных на стыке двух альфа-субъединиц и прилегающих  $\gamma$  и  $\delta$  субъединиц (рис. 18.7).

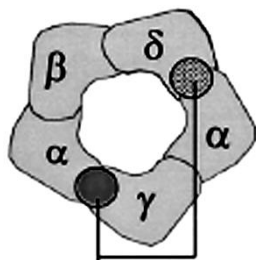


Рис. 18.7. Схема пентамерной структуры никотинового ацетилхолинового рецептора (Nirathanan, Gwee, 2004)

Нейрональные НАХР-рецепторы состоят из субъединиц двух различных типов:  $\alpha$  ( $\alpha 2$ – $\alpha 10$ ) и  $\beta$  ( $\beta 2$ – $\beta 4$ ) и могут быть гетеропентамерными (образованными различными комбинациями  $\alpha$  и  $\beta$  субъединиц) и гомопентамерными (образованными  $\alpha$ -субъединицами подтипов  $\alpha 7$ – $\alpha 10$ ) белками. Благодаря своей способности преобразовывать межклеточные сигналы, НАХР играют ключевую роль в возникновении и развитии целого ряда болезней нервной системы: шизофрении, эпилепсии, депрессии, никотиновой и алкогольной зависимостей, болезни Альцгеймера, паркинсонизма, мышечной дистрофии. В настоящее время показано, что нейрональные Ах-рецепторы присутствуют и в других клетках, например в клетках иммунной системы, где играют важную роль в регуляции воспалительных процессов.

$\alpha$ -Нейротоксины, как уже говорилось, имеют характерную «трехпетельную»  $\beta$ -структуру, стабилизированную 4–5 дисульфидными связями. Со структурной точки зрения  $\alpha$ -нейротоксины из яда змей можно разделить на короткие и длинные. Кроме того,  $\alpha$ -нейротоксины могут присутствовать в моно- и димерной формах. «Необычные» трехпетельные нейротоксины будут рассмотрены отдельно.

Короткие  $\alpha$ -нейротоксины (59–63 аминокислотных остатка, 4 дисульфидные связи) блокируют Ах-рецепторы мышечного типа, тогда как длинные нейротоксины (66–74 аминокислотных остатков с 5 дисульфидными связями, добавочный дисульфидный мостик в центральной петле II) взаимодействуют с мышечными

<sup>163</sup> Об АХР см. также главу 5.

Ах-рецепторами и гомопентамерным  $\alpha 7$  подтипом нейрональных Ах-рецепторов. Следует подчеркнуть, что ни короткие, ни длинные  $\alpha$ -нейротоксины не блокируют гетеропентамерные нейрональные Ах-рецепторы. Трехпетельные нейротоксины из других групп, например  $\kappa$ -бунгаротоксин, способны блокировать гетеропентамерные  $\alpha 3\beta 2$  Ах-рецепторы и в меньшей степени  $\alpha 4\beta 2$  и  $\alpha 7$ . Структурно они близки длинным  $\alpha$ -нейротоксинам, но являются димерами. Однако в последнее время из яда кобры *Naja kaouthia* выделен дисульфид-связанный димер длинноцепочечного нейротоксина  $\alpha$ -кобротоксина ( $\alpha$ -СТ- $\alpha$ -СТ) (рис. 18.8). Особенностью этого димера является способность блокировать гетеропентамерный  $\alpha 3\beta 2$  Ах-рецептор.

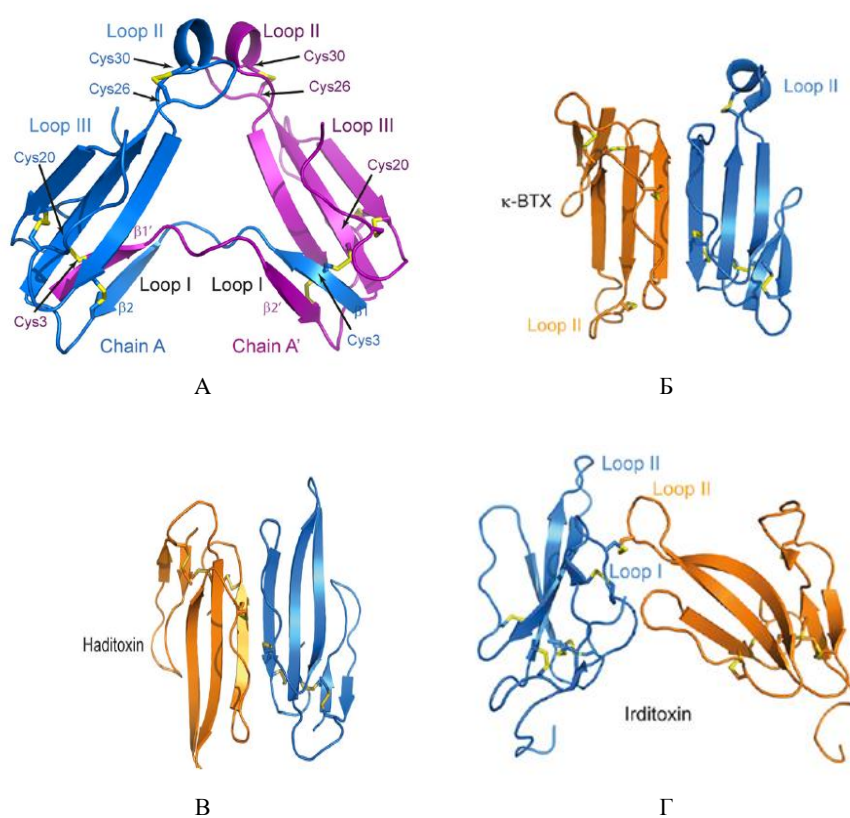


Рис. 18.8. Риббон-диаграммы: А – ковалентного димерного  $\alpha$ -кобротоксина из яда *Naja kaouthia*. Дисульфидные связи между цистеинами Cys3 первого протомера и Cys20 второго протомера стабилизируют димерный  $\alpha$ -кобротоксин. Б – нековалентного димерного  $\kappa$ -бунгаротоксина из яда *Bungarus multicinctus*. В – нековалентного димера хадитоксина из яда королевской кобры *Ophiophagus Hannah*. Г – ковалентного димера ирдитоксина из яда бойги *Boiga irregularis* (Osipov et al., 2012)

Как уже упоминалось, эффективно связываться с нейрональными нАХР способны только длинные  $\alpha$ -нейротоксины, в то время как с мышечными нАХР взаимодействуют  $\alpha$ -нейротоксины обоих типов. Это различие объясняется строением центральной петли коротких и длинных  $\alpha$ -нейротоксинов.

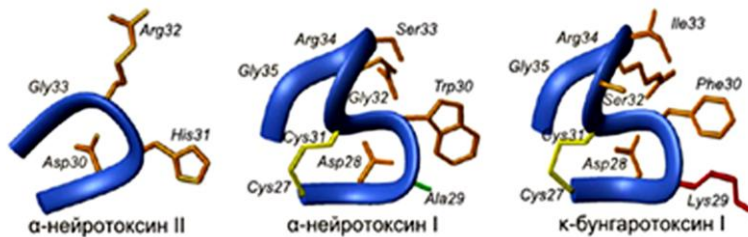


Рис. 18.9. Сравнение фрагментов центральных петель  $\alpha$ -нейротоксина II,  $\alpha$ -нейротоксина I и к-бунгаротоксина (Шулепко, 2009)

Исследования мутантных и химически модифицированных длинных и коротких  $\alpha$ -нейротоксинов позволили установить, что участок центральной петли длинных нейротоксинов, содержащий дисульфидную связь (рис. 18.3,Б), необходим для взаимодействия с нейрональными нАХР. Поэтому длинные  $\alpha$ -нейротоксины эффективно ингибируют нейрональные нАХР  $\alpha 7$  типа. Однако некоторые из длинных  $\alpha$ -нейротоксинов, например к-бунгаротоксин из яда *Bungarus multicinctus*, способны ингибировать нейрональные нАХР других типов, например нАХР  $\alpha 3\beta 2$  типа.

Сравнительный анализ аминокислотного состава центральной петли длинного  $\alpha$ -кобратоксина из яда *Naja siamensis* ( $\alpha$ -Cbtx), длинного  $\alpha$ -нейротоксина I из яда *Naja oxiana* и к-бунгаротоксина показал, что концевые фрагменты центральных петель этих токсинов отличаются лишь одним аминокислотным остатком в положении 29, который у к-бунгаротоксина представлен Lys29, тогда как у  $\alpha$ -нейротоксина I в этом положении находится Ala29 (рис. 18.9). Можно предположить, что возможно именно это различие и определяет способность к-бунгаротоксина ингибировать как нАХР типа  $\alpha 7$ , так и нАХР типа  $\alpha 3\beta 2$ .

Отметим также, что к-бунгаротоксина, в отличие от  $\alpha$ -бунгаротоксина, специфически и обратимо блокирует ганглионарные Н-холинорецепторы. Небольшие размеры и жесткая структура делают  $\alpha$ -нейротоксины удобными инструментами для исследования свойств нАХР (рис. 18.10)

Кроме того, наличие у  $\alpha$ -нейротоксинов большого числа гомологичных аминокислотных последовательностей делает возможным анализ структурно-функциональных взаимосвязей в их молекулах. Данные о структуре и свойствах  $\alpha$ -нейротоксинов и знание механизма их действия на молекулярном уровне необходимы для разработки терапевтических средств лечения болезней нервной системы.

В настоящее время установлена первичная структура большого числа индивидуальных нейротоксинов змеиных ядов, аминокислотная последовательность которых показывает высокую степень гомологии. Несмотря на это, короткие и длинные нейротоксины различаются по антигенным свойствам (гомологичные антисыворотки не нейтрализуют нейротоксины другого типа), по ряду физико-химических характеристик, а также по количественным параметрам блокирования холинорецепторов. Как уже указывалось, короткие нейротоксины быстрее связываются с холинорецепторами скелетных мышц по сравнению с длинными, однако последние имеют более прочные параметры связывания. Добавление нейротоксина в раствор, омывающий нервно-мышечный препарат, приводит к

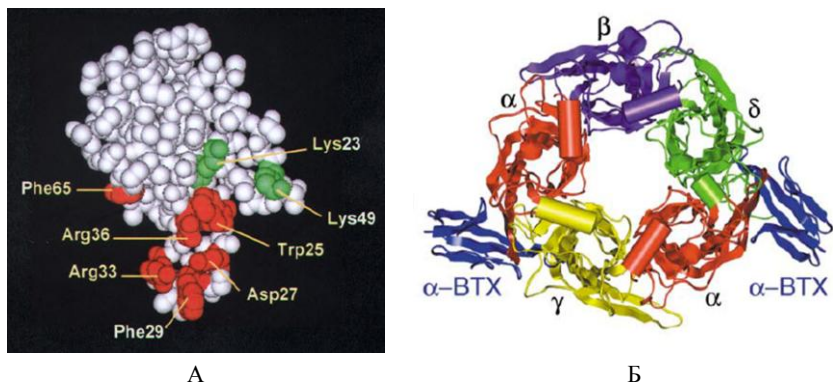


Рис. 18.10. Молекулярные механизмы взаимодействия  $\alpha$ -нейротоксинов с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами.

А: Аминокислотные остатки молекулы  $\alpha$ -кобротоксина, участвующие в связывании с никотиновым ацетилхолиновым рецептором электрического органа ската *Torpedo*. Красным окрашены остатки, связывающиеся с нейрональным рецептором  $\alpha 7$  электрического органа; остатки, специфичные для связывания с рецепторами электрического органа, окрашены зеленым (Nirathanan, Gwee, 2004).

Б: Риббон-диаграмма модели комплекса ацетилхолинового рецептора электрического органа *Torpedo* с молекулами  $\alpha$ -бунгаротоксина. Вид сверху.  $\alpha$ -Субъединицы окрашены красным,  $\beta$ -субъединица – фиолетовым,  $\delta$ -субъединица – зеленым,  $\gamma$ -субъединица – желтым,  $\alpha$ -бунгаротоксин ( $\alpha$ -BTX) – голубым (Samson et al., 2002)

прогрессивному снижению амплитуды ПКП вплоть до полного и необратимого блока синаптической проводимости.

Постсинаптические нейротоксины избирательно воздействуют только на холинорецепторы субсинаптической мембраны, не затрагивая функционирования пресинаптических нервных терминалей. Этот эффект проявляется не только на периферическом уровне, но и в ЦНС.

Так, введение яда кобры или его нейротоксических компонентов приводит к блоку рефлекторной передачи через спинной мозг, выражающемуся в снижении амплитуды моносинаптических потенциалов передних корешков. Однако на этом фоне тетанизация задних корешков вызывает реакцию посттетанической потенциации, что указывает на сохранность пресинаптических механизмов мобилизации и высвобождения медиатора (рис. 18.11).

Существуют регионарные различия в чувствительности Н-холинорецепторов ЦНС и ВНС к нейротоксинам. Так, ганглионарные холинорецепторы по сравнению с нервно-мышечным соединением более устойчивы к действию нейротоксинов элапид, хотя специфическое связывание последних с симпатическими ганглиями имеет место. Связывание постсинаптических нейротоксинов наблюдается и в ЦНС позвоночных и беспозвоночных (*Aplysia*), однако в некоторых случаях оно не сопровождается блокированием синаптической передачи. Этот эффект может быть связан с особенностями строения центральных и ганглионарных Н-холинорецепторов по сравнению с мионевральными, а также с особенностями морфофункциональной организации различных отделов нервной системы.

Высокая специфичность связывания нейротоксинов с холинорецептором оправдывает тот интерес, который проявляют к этим соединениям исследователи,

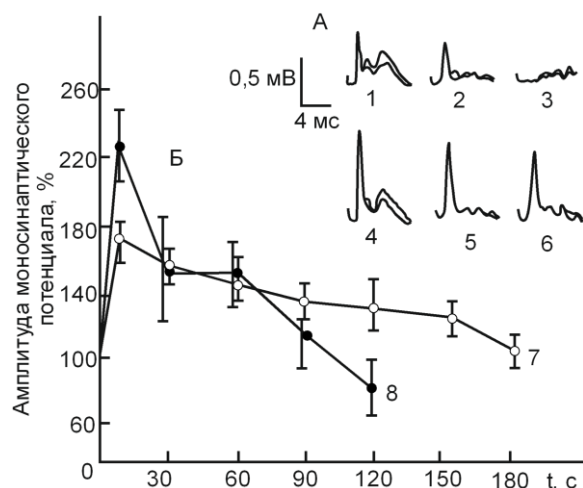


Рис. 18.11. Влияние яда среднеазиатской кобры *Naja oxiana* (0.5 мг/кг) на рефлекторную передачу в спинном мозге кошки: А – моно- и полисинаптические потенциалы передних корешков спинного мозга: 1 – фон; 2 – через 5 мин после введения яда; 3 – через 14 мин; 4 – фоновая запись моносинаптического потенциала после предварительной тетанизации задних корешков; 5 – через 6 мин; 6 – через 15 мин после введения яда; В – течение реакции посттетанической потенциации до (7) и после (8) введения яда (Орлов, Гелашвили, 1985)

справедливо расценивая их как селективные маркеры определенных типов холинорецепторов. При этом выявляется видовая специфичность взаимодействия нейротоксинов с холинорецепторами. Сравнительно-физиологические исследования показали, что наибольшей чувствительностью к постсинаптическим нейротоксинам обладают холинорецептивные мембраны скелетной мускулатуры позвоночных и их дериватов (электрических органов рыб). В то же время соматическая мускулатура морских моллюсков и сердце миноги устойчивы к их действию. Видовые различия в чувствительности отмечены также в опытах на ракообразных и разных представителях позвоночных (лягушках, цыплятах, котятках, крысах).

Изучение механизмов, лежащих в основе взаимодействия  $\alpha$ -нейротоксинов с нАХР, представляет интерес не только с фундаментальной точки зрения, но и необходимо для создания новых лекарственных препаратов, направленных на лечение заболеваний нервной системы, связанных с дисфункциями нАХР.

### 18.2.2. Слабые постсинаптические нейротоксины

Другая группа трехпетельных нейротоксинов известна как «слабые» (weak toxins, WTX), или необычные нейротоксины, состоящие из 62–68 аминокислотных остатков и 5 дисульфидных мостиков. Мишенями действия «необычных» токсинов с пятой дисульфидной связью, локализованной в N-концевой части петли I (рис. 18.3), выступают как мышечные нАХР, так и нейрональные нАХР, а также мускариновые ацетилхолиновые рецепторы, относящиеся к семейству G-белок сопряженных рецепторов. Свое название они получили из-за низкой токсичности:  $DL_{50}$  слабых токсинов варьирует от 5 до 82 мг/кг, тогда как для  $\alpha$ -нейротоксинов  $DL_{50}$  составляет

около 0.1 мг/кг. Известна первичная структура ряда «слабых» нейротоксинов: кан-доксина из яда *Bungarus candidus*, букандина из яда *Bungarus candidus*, приведенная на рис. 18.12.

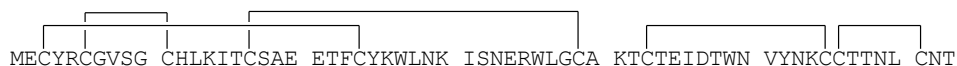


Рис. 18.12. Первичная структура букандина из яда *Bungarus candidus*

Отметим, что выделенный из яда кобры *Naja kaouthia* первый содержащий триптофан «слабый» нейротоксин не только имеет низкую токсичность и обладает способностью взаимодействовать с никотиновыми холинорецепторами, но и оказывает действие на сердечно-сосудистую систему. Исследование на крысах показало, что в интервале сублетальных доз 0.5–2 мг/кг внутривенное введение токсина приводит к дозозависимым гипотензии и тахикардии. Эти данные расширяют представления и фармакодинамических эффектах слабых нейротоксинов.

Итак, холинорецепторы субсинаптической мембраны – основная мишень в действии постсинаптических нейротоксинов ядов элапид. Однако в блокировании синаптической передачи принимает участие и другая группа нейротоксинов элапид – пресинаптические нейротоксины.

### 18.2.3. Пресинаптические нейротоксины

Эта группа нейротоксинов менее однородна по химической структуре и механизму действия, чем постсинаптические. Кроме того, они отличаются и меньшей избирательностью действия – некоторые из них действуют и на постсинаптическом уровне. Характерной особенностью пресинаптических токсинов является наличие фосфолипазной  $A_2$  активности (табл. 18.3). Следует подчеркнуть, что пресинаптические нейротоксины обнаружены у представителей подсемейств *Elapinae*, *Hydrophiinae*, *Crotalinae* и *Viperinae* и будут рассмотрены в соответствующих разделах.

Таблица 18.3

Некоторые свойства токсических фосфолипаз  $A_2$  яда элапид

Токсин	Вид змеи	Количество субъединиц	Токсичность $DL_{50}$ , мкг/кг	Активность фосфолипазы $A_2$ , мкмоль/мин/мг токсина
$\beta$ -Бунгаротоксин	<i>Bungarus multicinctus</i>	2	19 (в/б)*	61
Тайпоксин	<i>Oxyuranus scutellatus</i>	3	2 (в/в)	0.4
Текстилитоксин	<i>Pseudonaja textilis</i>	5	1 (в/в)	3.2
Нотексин	<i>Notechis scutatus</i>	1	17 (в/в)	1390

\* (в/в) – внутривенное, (в/б) – внутрибрюшинное введение.

Рассмотрим подробнее механизм действия пресинаптических нейротоксинов. В настоящее время всеобщее признание получила везикулярная гипотеза<sup>164</sup> высвобождения медиатора, который в физиологических условиях концентрируется в синаптических везикулах и выделяется из них посредством экзоцитоза. В рамках везикулярной гипотезы известно, что процесс высвобождения медиатора состоит из нескольких этапов. Сначала пузырек прикрепляется (*docking*) к специальному участку синаптической мембраны – активной зоне, подготавливается (*priming*) к слиянию (*fusion*) с синаптической мембраной и, в конце концов, сливается с ней, высвобождая медиатор в синаптическую щель (экзоцитоз).

Непосредственной причиной выделения кванта медиатора является увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция в месте освобождения медиатора за счет открытия кальциевых каналов при деполяризации пресинаптической мембраны потенциалом действия.

Параллельно с процессом экзоцитоза осуществляется также рециклизация везикулы посредством эндоцитоза, то есть процесса образования новых везикул из фрагментов пресинаптической мембраны, которые постепенно обеспечиваются всеми необходимыми молекулами и медиатором для восполнения запаса везикул. В мембране везикулы имеется протонный насос, который, используя энергию АТФ, создает электрохимический градиент, обеспечивающий активный транспорт медиатора, синтезируемого в цитоплазме нервного окончания, в везикулу. В модели экзоцитоза без полного слияния рециклизация заключается в отхождении опустошенной везикулы от пресинаптической мембраны и повторном заполнении ее медиатором<sup>165</sup>.

На рис. 18.13 представлена гипотетическая схема пресинаптического действия нейротоксической фосфолипазы  $A_2$ . В физиологических условиях синаптические везикулы для высвобождения содержащихся в них молекул нейротрансмиттеров (голубые точки) должны состыковаться с пресинаптической мембраной и подготовиться (шаг 1) к последующему слиянию (шаг 2) с мембраной, вызванному локальным входом кальция. На этом этапе просвет везикулы сообщается с внеклеточным пространством, что обеспечивает проникновение нейротоксина в результате эндоцитоза внутрь везикулы (шаг 3). Нейротоксин (фосфолипаза  $A_2$ ) гидролизует фосфолипиды внутренней поверхности мембраны везикулы с образованием жирных кислот (красные треугольники) и лизофосфолипидов (зеленые треугольники). В итоге обнажается белковая оболочка (шаг 4), а протонный насос АТФазы создает градиент рН через мембрану синаптической везикулы (шаг 5). Таким образом, создается движущая сила для поглощения и удержания нейротоксина в везикуле, при этом происходит транслокация жирных кислот в цитозольный слой везикулярной мембраны, а лизофосфолипиды остаются в просвете везикулы. В результате комбинированного действия нейротоксической фосфолипазы  $A_2$  и протонного насоса АТФазы создается асимметричное распределение

---

<sup>164</sup> Альтернативной является гипотеза пороцитоза (*porocytosis*), согласно которой медиатор секретируется в синаптическую щель благодаря синхронной активации гексагональных групп мест присоединения везикул (МПВ) и присоединенных к ним везикул.

<sup>165</sup> Таким образом, рассматриваются два механизма высвобождения: один с полным слиянием везикулы с плазмалеммой, второй – так называемый «поцеловал и убежал» (*kiss-and-run*), когда везикула соединяется с мембраной, и из неё в синаптическую щель выходят небольшие молекулы, а крупные остаются в везикуле. Второй механизм предположительно быстрее первого, с помощью него происходит синаптическая передача при высоком содержании ионов кальция в синаптической бляшке.

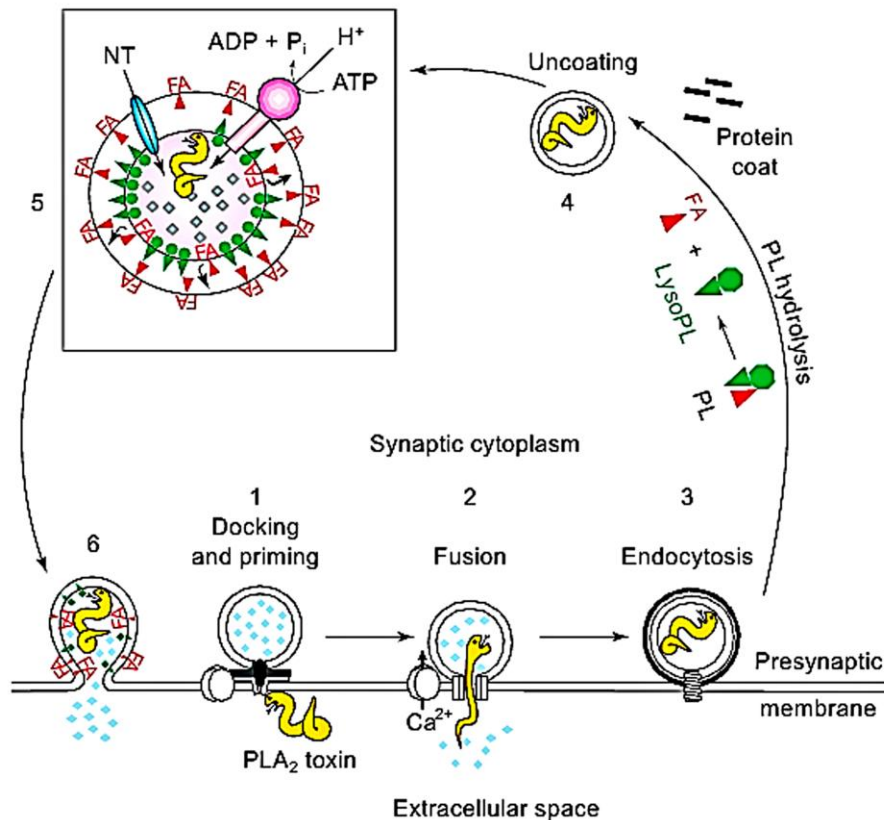


Рис. 18.13. Рециклинг синаптических везикул в нервной терминали и возможный механизм действия пресинаптических нейротоксических фосфолипаз  $A_2$  змеиных ядов. Пояснения в тексте (Motecucco, Rosetto, 2000)

жирных кислот и лизофосфолипидов. Эта асимметрия, в свою очередь, облегчает условия для слияния везикул, содержащих нейротоксин с мембраной нервной терминали на любом участке, где в физиологических условиях экзоцитоз не происходит (шаг 6). Нормальный экзоцитоз нарушается и  $\Omega$ -образные структуры (открытые везикулы) появляются на всех нервных терминалях. Электронная микроскопия действия пресинаптических токсинов показала увеличение размера везикул (возможно за счет их слияния) и уменьшение их количества в фазе облегчения. Рассмотрим подробнее структуру и механизм действия пресинаптических токсинов на примере  $\beta$ -бунгаротоксина.

**$\beta$ -Бунгаротоксин.** Хорошо изученным представителем пресинаптических нейротоксинов является  $\beta$ -бунгаротоксин из яда южнокитайского многополосого крайта *Bungarus multicinctus*.

Вид распространён на Тайване, юге Китая (включая Гонконг, Хайнань), Мьянме, Лаосе, Северном Вьетнаме, Таиланде. Длина тела в среднем от 1 до 1.5 м, максимум 1.85 м. Тело чёрного окраса с белыми поперечными полосами (рис. 18.14). Поднимается до высоты 1500 м над уровнем моря.





Рис. 18.14. Южнокитайский многополосый крайт *Bungarus multicinctus* (Wikipedia Commons)

$\beta$ -Бунгаротоксин является гетеродимерным нейротоксином, обладающим  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой фосфолипазной  $\text{A}_2$  активностью. Нейротоксин представлен ковалентным комплексом с  $M_r$  20500 Да и состоит из двух связанных дисульфидной связью субъединиц. Субъединица А имеет  $M_r \sim 13500$  (120 аминокислотных остатков и 6 дисульфидных связей), обладает активностью фосфолипазы  $\text{A}_2$ . Кислая субъединица В ( $M_r \sim 7000$  Да, 60 аминокислотных остатков, 3 дисульфидные связи) имеет аминокислотную последовательность, аналогичную дендротоксину и токсинам I и К из яда мамб, а также ингибиторам протеаз типа Кунитца. Ковалентная связь между двумя субъединицами  $\beta$ -бунгаротоксина осуществляется между Cys55 субъединицы Кунитца и Cys15 фосфолипазной субъединицы (рис. 18.15А). Мишенью, с которой взаимодействует ингибиторная субъединица  $\beta$ -бунгаротоксина, являются потенциал-активируемые  $\text{K}^+$ -каналы *Shaker*-типа<sup>166</sup> нервной мембраны. Таким образом, у  $\beta$ -бунгаротоксина фосфолипазная активность и «наведение на цель» разделены между гетерологичными субъединицами (рис. 18.15Б). Этап взаимодействия с потенциал-чувствительными калиевыми каналами возможно ответственен за преходящее усиление высвобождения нейротрансмиттера. В дальнейшем происходит гидролиз фосфолипидов, нарушающий структуру мембраны, при этом образующиеся жирные кислоты увеличивают анионный состав мембраны и повышают неспецифическое электростатическое сродство  $\beta$ -бунгаротоксина.

<sup>166</sup> Первый калиевый канал, у которого была установлена аминокислотная последовательность, был выделен у *Drosophila* sp. и был назван *Shaker* по генетическому мутанту, у которого был обнаружен дефект этого канала. Особенность этих мутантов заключалась в том, что они трепетали (*shaking*), когда для подсчета их анестезировали эфиром. Столь легко распознаваемая мутация обеспечила удобный методический подход для клонирования этого калиевого канала, не требующий обязательной идентификации белка. Генетический анализ позволил установить область примерного расположения гена *Shaker* в геноме *Drosophila*. Последующее сопоставление нормальной и мутантной последовательностей в этой области привело к идентификации гена *shaker*.

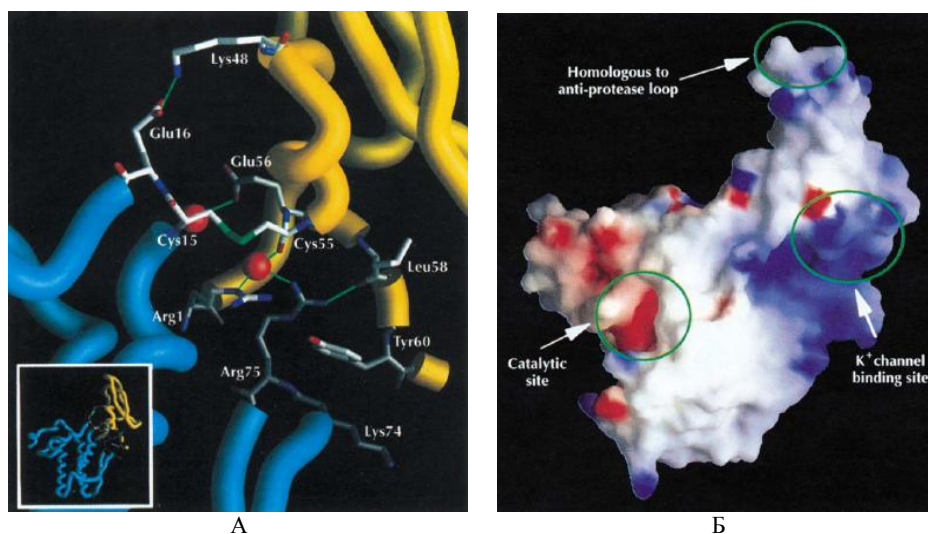


Рис. 18.15. Структура  $\beta$ -бунгаротоксина.

А: Внутримолекулярное взаимодействие в гетеродимерном комплексе  $\beta$ -бунгаротоксина обеспечивается дисульфидной связью Cys15–Cys55. Фосфолипазная субъединица окрашена голубым, субъединица типа Кунитца – желтым.

Б: Электростатический потенциал молекулярной поверхности  $\beta$ -бунгаротоксина. Голубым показана положительно заряженная поверхность, красным – отрицательно заряженная, белым – нейтральная. Стрелками обозначены функционально активные участки: каталитический участок связывания с  $K^+$ -каналом и участок, гомологичный ингибиторам протеаз (Kwong et al., 1995)

Напомним, что в яде крайта кроме  $\beta$ -бунгаротоксина содержатся так называемые трехпетлевые  $\alpha$ -нейротоксины, блокирующие взаимодействие ацетилхолина с постсинаптическими рецепторами (постсинаптические нейротоксины):  $\alpha$ -бунгаротоксин действующий преимущественно на никотиновые Ах-рецепторы (Н-холинорецепторы) нервно-мышечного синапса и  $\kappa$ -бунгаротоксин, активный преимущественно в отношении нейрональных мускариновых Ах-рецепторов (М-холинорецепторов).

Заметим, что  $\beta$ -бунгаротоксин обладает более выраженным летальным эффектом, чем постсинаптические бунгаротоксины. Действие  $\beta$ -бунгаротоксина является комплексным. Активность фосфолипазы  $A_2$  обеспечивает гидролиз фосфатидилхолина фосфолипидов нервной мембраны. Однако в яде *Bungarus multicinctus* обнаружены субъединицы  $\beta$ -бунгаротоксина, не обладающие фосфолипазной  $A_2$  активностью, но играющие важную роль в фосфолипаза  $A_2$ -независимом нейротоксическом эффекте.  $\beta$ -Бунгаротоксин блокирует высвобождение нейротрансмиттера из пресинаптических окончаний в нервно-мышечном синапсе. Пресинаптические токсины с фосфолипазной активностью вызывают характерное трехфазное изменение в высвобождении медиатора (рис. 18.16).

Начальная фаза характеризуется снижением частоты МПКП и обусловлена связыванием токсина с пресинаптическим окончанием. Во время второй фазы наблюдается значительное увеличение частоты МПКП (например в случае фосфолипазы  $A_2$  из яда *Naja oxiana* в сотни раз). Во время третьей фазы действия токсинов частота МПКП прогрессивно падает вплоть до полного их исчезновения.

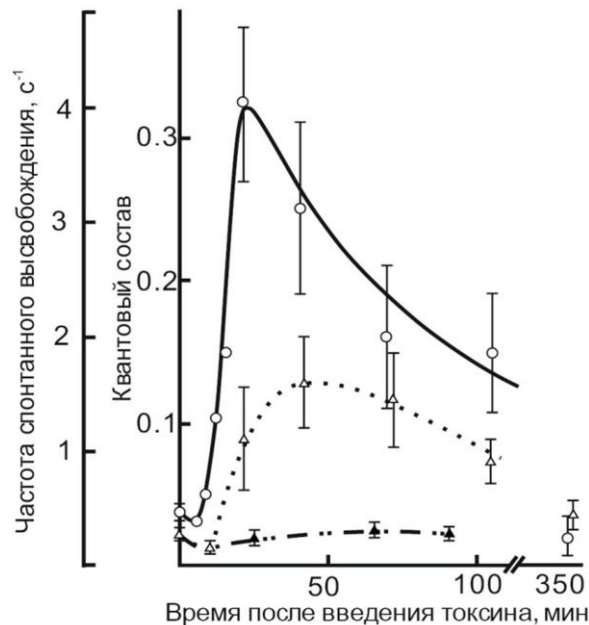


Рис. 18.16. Влияние  $\beta$ -бунгаротоксина (20 мкг/мл) на квантовый состав и частоту спонтанного высвобождения медиатора в нервно-мышечном синапсе изолированного препарата диафрагмы крысы. Нейротоксин модифицирует спонтанное высвобождение (светлые треугольники) и вызванное стимуляцией (светлые кружки) высвобождение ацетилхолина. После кратковременной начальной фазы слабого уменьшения высвобождения ацетилхолина (желтая линия) следует пролонгированная фаза усиления высвобождения медиатора (зеленая линия) с последующей третьей фазой полного и необратимого ингибирования нейротрансмиссии. Эффект токсина является  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимым, поскольку отсутствует в свободном от  $\text{Ca}^{2+}$ -омывающем растворе (черные треугольники) (Motecuccio, Rosetto, 2000)

Конечную стадию третьей фазы связывают с истощением запасов медиатора в пресинаптической терминали, что в итоге приводит к развитию блока синаптической передачи. На поздних стадиях действия  $\beta$ -бунгаротоксина наблюдается разрушение везикул вплоть до полного их исчезновения. Отмечается также набухание и вакуолизация митохондрий моторных нервных терминалей.

Существуют видовые различия в блокирующем действии  $\beta$ -бунгаротоксина. При концентрациях 0,01–10 мкг/мл  $\beta$ -бунгаротоксин устраняет отрицательный инотропный и хронотропный эффект стимуляции блуждающего нерва на изолированном препарате предсердия морской свинки. Однако при этих концентрациях не оказывает действия на препараты мыши, кролика и крысы.  $\beta$ -Бунгаротоксин блокирует нервно-мышечную передачу в изолированных препаратах диафрагм морской свинки, мыши и крысы, но на препарате морской свинки этот эффект наступает быстрее (рис. 18.17).

Эти результаты показывают, что среди изученных видов млекопитающих наиболее чувствительными к действию  $\beta$ -бунгаротоксина являются морские свинки.

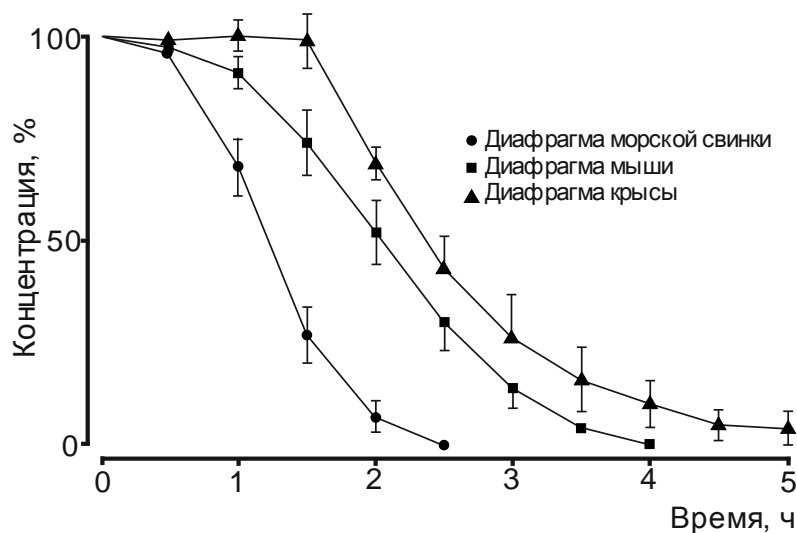


Рис. 18.17. Влияние  $\beta$ -бунгаротоксина (1 мкг/мл) на сокращения диафрагмы экспериментальных животных, вызванное повторной стимуляцией диафрагмального нерва (Miura et al., 1981)

#### 18.2.4. Токсины яда мамб (*Dendroaspis*)

Мамбы (род *Dendroaspis*) – ядовитые древесные змеи из подсемейства Elapinae. Встречаются в Африке, к югу от Сахары и живут в покинутых норах или горах камней. Будучи активными в дневное время, охотятся на мелких млекопитающих, птиц, древесных лягушек и ящериц. Передвигаются по земле, в редких случаях поднимаются на деревья и кустарники.

Типичные представители: узкоголовая мамба и черная мамба (рис. 18.18). Узкоголовая мамба (*Dendroaspis angusticeps*) встречается в дождевых лесах в восточной части Южной Африки. Средняя длина 180 см, но иногда змеи вырастают до 250 см. Взрослые особи этого вида имеют, как правило, изумрудно-зеленый цвет. Очень близкими видами являются западная зеленая мамба и черная мамба. Черная мамба (*Dendroaspis polylepis*) достигает в длину 2.5–3.0 метров, отдельные экземпляры – до 4.5 метров. Большинство этих змей имеет темно-оливковую окраску или металлическо-серый цвет, брюшная сторона – светло-коричневая или грязно-белая. Своё название она получила из-за чёрной окраски внутренней полости пасти, по форме похожей на гроб. Высокая скорость передвижения (17–20 км/ч) в сочетании агрессивностью делает чёрную мамбу очень опасной. Описан случай гибели взрослой слониhi после укуса черной мамбы. Распространена от Сенегала до Сомали и от Эфиопии до Юго-Западной Африки. Однако она не проникает в тропические дождевые леса бассейна Конго.

В яде мамб содержится несколько групп полипептидных токсинов различной субстратной специфичности.



А



Б

Рис. 18.18. Мамбы: А – узкоголовая мамба (*Dendroaspis angusticeps*); Б – черная мамба (*Dendroaspis polylepis*) (Wikipedia Commons)

**Мускариновые токсины.** Мускариновые токсины являются постсинаптическими селективными блокаторами мускариновых рецепторов<sup>167</sup> типа  $m_1$ ,  $m_2$  и  $m_4$ . Это полипептиды, состоящие из 63–66 аминокислотных остатков, стабилизированных 4 дисульфидными связями, и содержащие 4 петли (рис. 18.19). Структурно близки к трехпетельным  $\alpha$ -нейротоксинам элапид. Первичная структура установлена для токсинов из яда *Dendroaspis angusticeps*, *Dendroaspis polylepis*, *Dendroaspis viridis*.

Мускариновые токсины разделены на две группы. Группа А содержит секвенированные токсины, имеющие 65–66 аминокислотных остатков и 4 дисульфидные связи. Их последовательности совпадают по 30 идентичным аминокислотным остаткам. В группе В секвенирован пока только один  $M_2$ -токсин, состоящий из 63 аминокислотных остатков и 4 дисульфидных мостиков. Токсин  $M_2$  состоит только

<sup>167</sup> М-холинорецепторы расположены в постсинаптической мембране клеток эффекторных органов у окончаний постганглионарных холинергических (парасимпатических) волокон. Кроме того, они имеются на нейронах вегетативных ганглиев и в ЦНС – в коре головного мозга, ретикулярной формации. Установлена гетерогенность м-холинорецепторов разной локализации, что проявляется в их неодинаковой чувствительности к фармакологическим веществам. Мускариновые рецепторы являются метаботропными и относятся к рецепторам, сопряженным с G-белками. Выделяют следующие виды м-холинорецепторов:

- $m_1$ -холинорецепторы в ЦНС и в вегетативных ганглиях (однако последние локализируются вне синапсов);
- $m_2$ -холинорецепторы – основной подтип м-холинорецепторов в сердце; некоторые пресинаптические  $m_2$ -холинорецепторы снижают высвобождение ацетилхолина;
- $m_3$ -холинорецепторы – в гладких мышцах, в большинстве экзокринных желез;
- $m_4$ -холинорецепторы – в сердце, в стенке легочных альвеол, ЦНС;
- $m_5$ -холинорецепторы – в ЦНС, в слюнных железах, радужной оболочке, в мононуклеарных клетках крови.

14 идентичных аминокислотных остатков с токсинами группы А, но имеет большое сходство с короткими  $\alpha$ -нейротоксинами элапид. Мускариновые токсины не содержат  $\alpha$ -спиралей в своей структуре (рис. 18.19Б).

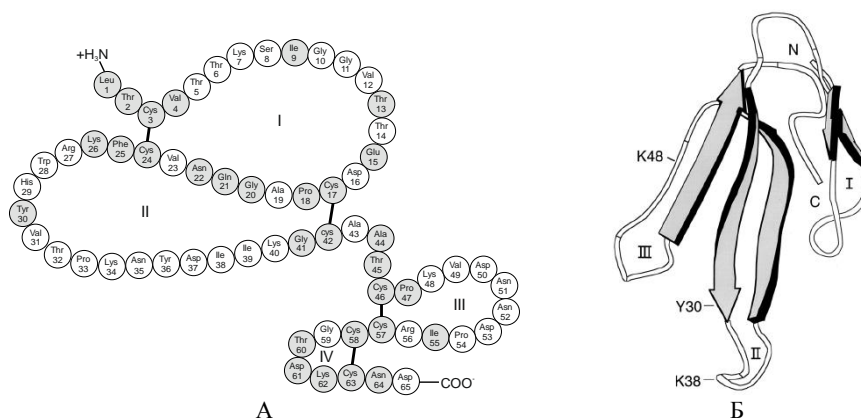


Рис. 18.19. Мускариновый токсин 2 (MT2) из яда *Dendroaspis angusticeps*: А – аминокислотная последовательность; Б – схематичное изображение трехмерной структуры (Karlsson et al., 2000)

На рис. 18.19 аминокислотные остатки, инвариантные для мускариновых токсинов типа А, показаны затемненными кружками. Петли, образованные дисульфидными связями, обозначены римскими цифрами I–IV. Петли II и III соединены тремя аминокислотными остатками (позиции 43–45), что характерно для длинных  $\alpha$ -нейротоксинов, а также цитотоксинов и кардиотоксинов. Токсин  $M_2$ , представитель типа В мускариновых токсинов, так же как и короткие  $\alpha$ -нейротоксины, имеет в этом участке только один аминокислотный остаток. Остатки 31–34 и 48 являются важными для селективности токсинов.

**Фасцикулины.** Фасцикулины являются сильными неконкурентными ингибиторами ацетилхолинэстеразы (АХЭ) млекопитающих и электрических органов скатов, блокируют расщепление ацетилхолина. Эти токсины вызывают дрожание (фасцикуляцию) мышцы вследствие накопления ацетилхолина в нервно-мышечном синапсе. Фасцикулины состоят из 61 аминокислотного остатка с четырьмя дисульфидными связями, принадлежат к тому же структурному типу, что и короткие  $\alpha$ -нейротоксины элапид, а также имеют весьма сходную с ними пространственную структуру (рис. 18.20, 18.21А,В). Известны три фасцикулина, различающиеся аминокислотным составом. Фасцикулин 1 имеет в позиции 47 Тур вместо Asn у фасцикулина 2, а фасцикулин 3 из яда *D. polylepis* или *D. uiridis* имеет в позиции 2 Ile вместо Met, а так же Lys–Asp (15–16) вместо Thr–Asn и Тур47 вместо Asn47. Исследование мутантов фасцикулина показало, что функционально важными для связывания с АХЭ являются аминокислотные остатки первой и второй петель фасцикулина.

**Дендротоксины.** Дендротоксины селективно тормозят быстроактивируемые потенциал-чувствительные  $K^+$ -каналы типа Kv1 и облегчают высвобождение ацетилхолина из пресинаптического окончания, вызванное нервной стимуляцией (рис. 18.22). Дендротоксины К и I из яда *Dendroaspis polylepis*, так же как токсины  $\alpha$  и  $\delta$  из яда *D. angusticeps*, имеют  $M_r \sim 7000$  Да и структурно подобны ингибито-

рам протеаз типа Кунитца. Эти токсины представлены одиночной щелочной полипептидной цепью, состоящей из 57–60 аминокислотных остатков, содержащей три дисульфидные связи.

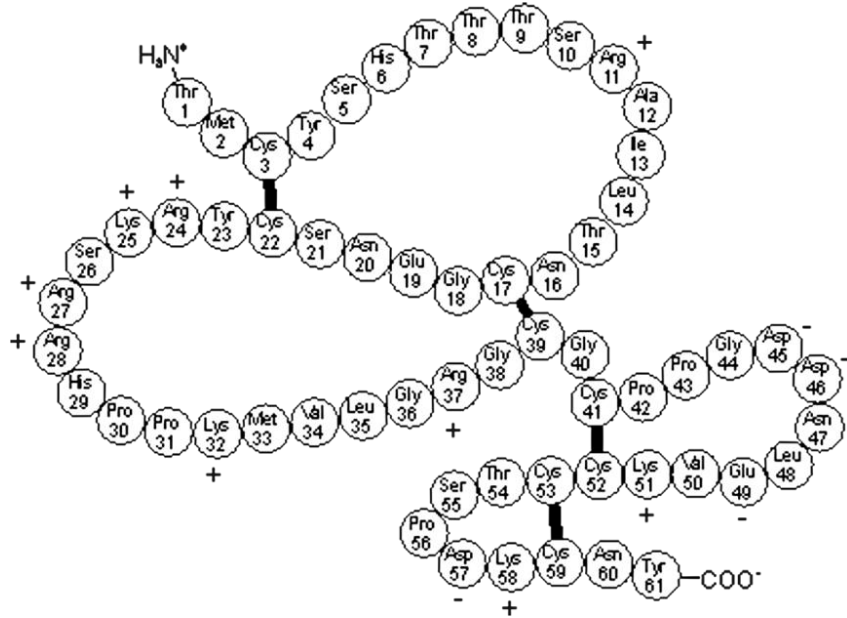


Рис. 18.20. Аминокислотная последовательность фасцикулина 2 из яда *Dendroaspis angusticeps* (Cerveransky et al., 1996)

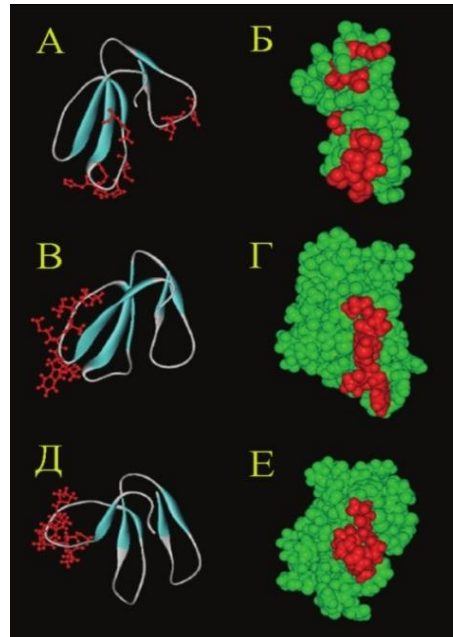


Рис. 18.21. Сравнение топографии функционально активных участков (показаны красным) фасцикулина (А, Б), кальсисептина (В, Г) и дендротаспина (Д, Е) (Kini, 2002)

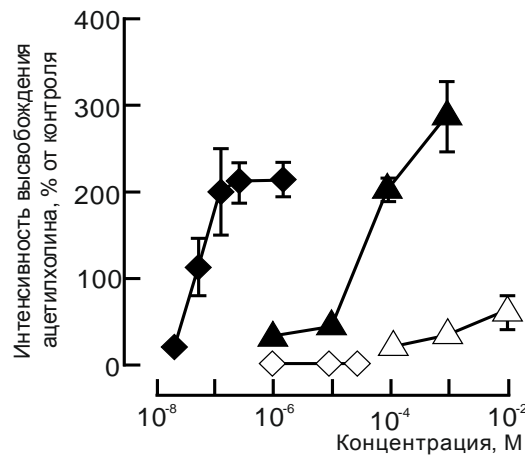


Рис. 18.22. Сравнение действия на передачу возбуждения в нервно-мышечном синапсе дендротоксина и 3,4-диаминопиридина:  $\blacklozenge$  – эффект дендротоксина на непрямую стимуляцию,  $\diamond$  – эффект дендротоксина на прямую стимуляцию,  $\blacktriangle$  – эффект 3,4-диаминопиридина<sup>168</sup> на непрямую стимуляцию,  $\triangle$  – эффект 3,4-диаминопиридина на прямую стимуляцию (Harvey, Anderson, 1985)

Высокочувствительные акцепторы дендротоксинов обнаружены в синаптических мембранах мозга цыпленка или крысы. Эти участки активно связывают также пресинаптический нейротоксин  $\beta$ -бунгаротоксин. Предполагают, что дендротоксин и его аналоги имеют общие участки связывания с  $\beta$ -бунгаротоксином.

Фасцикулины и дендротоксины синергично повреждают синаптическую передачу в нервно-мышечном синапсе, обеспечивая основной токсический эффект яда.

**Кальцисептины.** Кальцисептины и близкие к ним по структуре токсины FS<sub>2</sub> специфически блокируют высокопороговые кальциевые каналы L-типа. Кальцисептины являются полипептидами, структурно гомологичными коротким  $\alpha$ -нейротоксинам, состоят из 60 аминокислотных остатков и стабилизированы четырьмя дисульфидными связями (рис. 18.23, 18.24).

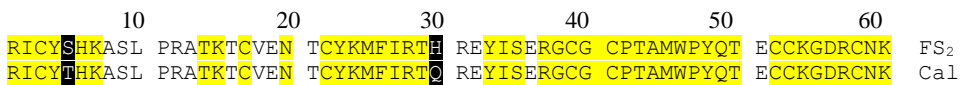


Рис. 18.23. Сравнение первичной структуры кальцисептина (Ca1) и токсина FS<sub>2</sub> (Schleifer, 1997)

Они взаимодействуют с сайтом блокаторов кальциевого канала L-типа (производными 1,4-дигидропиридинов – нифедипином, амлодипином и др.) и ингибируют кальциевый ток. Показано, что для связывания с кальциевым каналом существенны четыре аминокислотных остатка третьей петли молекулы Met45-Trp46-cis-Pro47-Tyr48.

<sup>168</sup> 3,4-Диаминопиридин (3,4-diaminopyridine) – средство, улучшающее нервно-мышечную передачу.



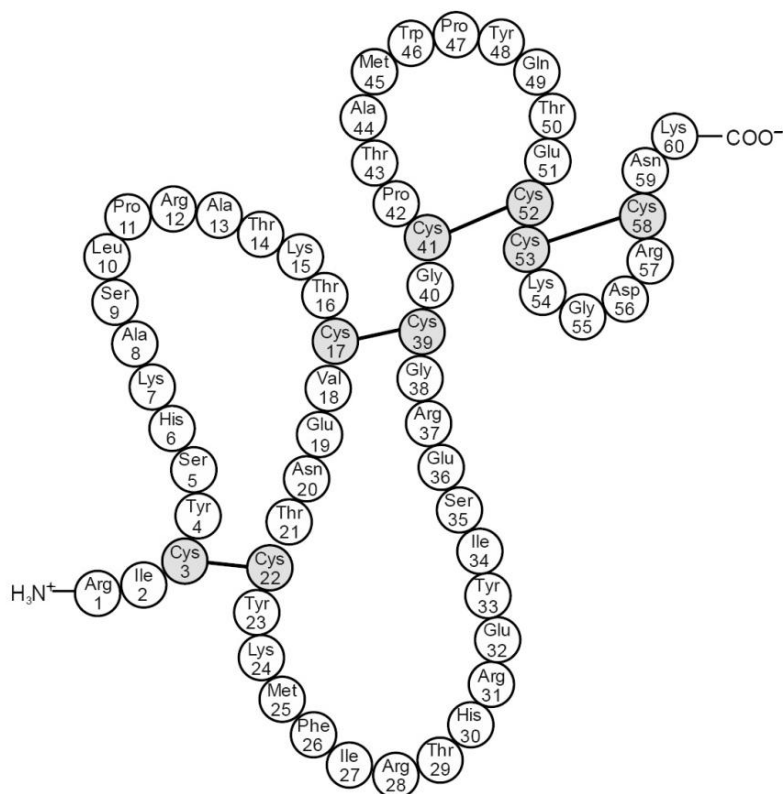


Рис. 18.24. Структура токсина FS<sub>2</sub> с типичной для трехпетельных токсинов топографией дисульфидных связей (Schleifer, 1997)

**Дендраспин (мамбин).** Мамбин – антагонист процессов клеточной адгезии, выделенный из яда *Dendroaspis jamesoni*. Препятствует вызванной АДФ агрегации тромбоцитов ( $IC_{50} = 172 \pm 22$  нМ), а также тормозит связывание иммобилизованного фибриногена очищенным тромбоцитарным рецептором GPIIb/IIIa ( $IC_{50} = 3.1 + 0.8$  нМ). Гетеродимер GPIIb/IIIa (другое название – интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) является поверхностным рецептором тромбоцитов и обеспечивает возможность связывания тромбоцитов с фибриногеном. Механизм функционирования рецептора GPIIb/IIIa заключается в его способности узнавать характерную последовательность Arg-Gly-Asp (или в однобуквенном коде RGD-мотив) в молекуле фибриногена и других факторах свертывания крови. Поэтому пептиды или мелкие молекулы, содержащие ключевую последовательность аминокислот Arg-Gly-Asp, могут являться потенциальными ингибиторами взаимодействия GPIIb/IIIa рецепторов тромбоцитов с фибриногеном. Мамбин структурно гомологичен коротким  $\alpha$ -нейротоксинам, состоит из 59 аминокислотных остатков, имеет  $M_r$  6745 Да и стабилизирован четырьмя дисульфидными связями. В позициях 47–49 в аминокислотной последовательности мамбина присутствует RGD-мотив, обеспечивающий антиадгезивную функцию (рис. 18.25).

RICYNHLLGTRPPTTETTCQEDSCYKNIWTFDNIIRRGCGCFTR**RGD**MPGPYCCESDKCNL

Рис. 18.25. Первичная структура мамбина из яда *Dendroaspis jamesoni*. RGD-мотив выделен жирным шрифтом (McDowell et al., 1992)

Таким образом, мамбин, с одной стороны, структурно подобен коротким  $\alpha$ -нейротоксинам, которые не обладают антиадгезивными свойствами, а с другой – отличается по структуре от токсинов гадюк, вызывающих агрегацию тромбоцитов, возможно, является генетическим гибридом нейротоксических и гемотоксических белков, найденных в змеиных ядах.

**Натрийуретический пептид**<sup>169</sup>. Из яда *Dendroaspis angusticeps* выделен натрийуретический пептид (DNP, *Dendroaspis natriuretic peptid*), состоящий из 38 аминокислотных остатков, имеющий значительное сходство первичной структуры с известными NP (рис. 18.26).

EVKYDPC**CFG**HKIDRI**NHVS**N**LG**CP**SLR**DPNAPSTSA

Рис. 18.26. Первичная структура натрийдиуретического пептида из яда *Dendroaspis angusticeps*. Жирным выделены аминокислотные остатки, инвариантные с другими NP (Schweitz et al., 1992)

DNP в концентрации 100 нМ вызывал расслабление изолированной полоски аорты, предварительно обработанной KCl (40 мМ) и по эффективности не уступал другим известным NP. DNP конкурентно предотвращал специфическое связывание <sup>125</sup>I-ANP с культурой миоцитов аорты ( $K_d$  10 нМ). Полагают, что DNP является новым членом семейства натрийдиуретических пептидов, преимущественно взаимодействующий с рецепторами ANP, но не с CNP.

### 18.2.5. Мембрано-активные полипептиды (МАП)<sup>170</sup>

Токсины этой группы найдены в ядах многих кобр и бунгарусов. Все они по химическому составу и структуре близки с «короткими» трехпетельными  $\alpha$ -нейротоксинами элапид, но резко различаются фармакологическими свойствами. Мембрано-активные полипептиды обладают широким спектром фармакологической активности: гемолитической, кардиотоксической, цитотоксической, что нашло отражение в их названиях – гемолитические факторы, кардиотоксины, цитотоксины и др. В основе всех этих качеств МАП лежит их способность модифицировать поверхностные клеточные мембраны. МАП представляют собой  $\beta$ -структурные амфифильные одноцепочечные белки длиной 59–62 аминокислотных остатка и молекулярной массой 6–7 кДа. В настоящий момент известны аминокислотные последовательности большой группы МАП, в качестве иллюстрации приведем первичные структуры цитотоксинов (ЦТ) из яда кобр (*Naja*) (рис. 18.27).

<sup>169</sup> К семейству натрийуретических пептидов (NP) относятся натрийуретический пептид-А (ANP), образующийся преимущественно в кардиомиоцитах предсердий; натрийуретический пептид-В (BNP), который синтезируется в нейронах головного мозга и частично в кардиомиоцитах; натрийуретический пептид С (CNP), основным местом синтеза которого является эндотелий. Все натрийуретические пептиды принимают участие в регуляции артериального давления, не только поддерживая водно-солевой баланс, но и влияя на тонус сосудов.

<sup>170</sup> В эту группу обычно включают так называемые кардиотоксины, цитотоксины и др.

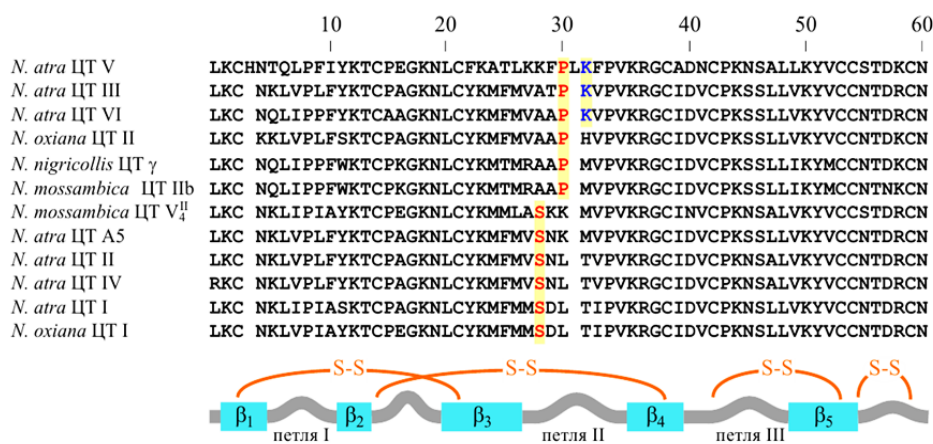


Рис. 18.27. Аминокислотные последовательности цитотоксинов, структура которых определена методом ЯМР или рентгеноструктурного анализа. Внизу: схема вторичной структуры цитотоксинов. Показаны элементы  $\beta$ -структуры, функциональные петли и S-S мостики (Дубинный, 2006)

Все известные цитотоксины имеют высокую степень гомологии по аминокислотной последовательности и пространственной структуре. Пространственная структура цитотоксинов включает два  $\beta$ -слоя по два и три  $\beta$ -тяжа в каждом, а также три функционально важных «петли» цитотоксина (рис. 18.28). Структура стабилизирована четырьмя консервативными дисульфидными связями. Небольшие различия в аминокислотной последовательности и пространственном строении трех петель цитотоксинов определяют различие в спектре их биологической активности.

Сравнительный анализ химической структуры коротких  $\alpha$ -нейротоксинов и МАП показывает, что различия во вторичной и третичной структурах этих полипептидов незначительны. Возможной причиной различий в фармакологической активности служат особенности их первичной структуры. МАП характеризуются высоким содержанием остатков лизина и гидрофобных аминокислотных остатков (валина, лейцина, метионина), но в них, как правило, отсутствуют триптофан, гистидин и глутаминовая кислота. Цитолитические участки представлены во всех трех петлях, при этом положительно заряженные остатки лизина сгруппированы преимущественно в верхних частях петель. Химическая модификация положительных зарядов лизина подтвердила важность катионных остатков для проявления цитолитической активности.

Анализ структуры цитотоксина  $\gamma$  из яда *Naja nigricollis* методом ЯМР позволил высказать гипотезу о наличии в цитотоксине сайта связывания фосфолипида, который образован боковыми цепями трех остатков лизина Lys12, Lys18 и Lys35. Полагают, что три молекулы цитотоксина в кристаллической ячейке представляют из себя тример, который был предложен авторами как модель поры, образуемой токсином на поверхности мембраны.

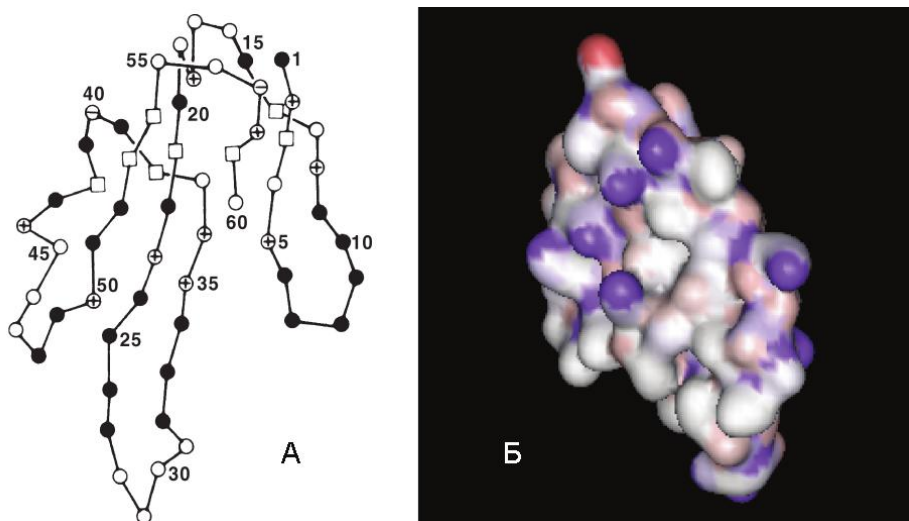
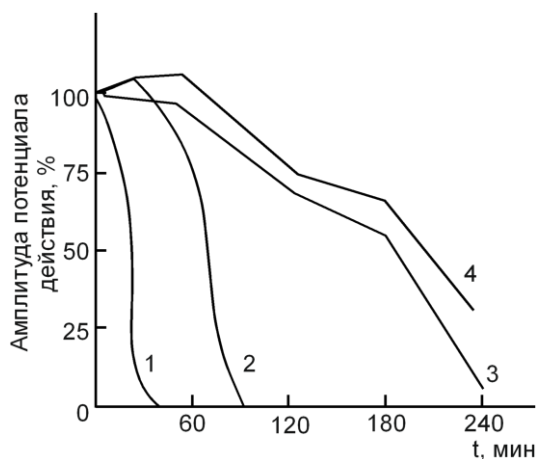


Рис. 18.28. Цитолитические участки цитотоксинов/кардиотоксинов: А – схематическая диаграмма, показывающая распределение зарядов и гидрофобных остатков в цитотоксинах/кардиотоксинах. Реконструкция получена по результатам изучения около 40 индивидуальных последовательностей цитотоксинов/кардиотоксинов. Аминокислотные остатки идентифицированы как гидрофобные, положительно (+) и отрицательно (-) заряженные, если они были обнаружены не менее чем у 75% изученных белков. Гидрофобные остатки формируют концы петель I, II и III. Б – объемная модель кардиотоксина: гидрофобные аминокислотные остатки показаны белым, положительно заряженные – синим, отрицательно заряженные – красным (Kini, 2002)

МАП обладают наиболее широким спектром биологической активности во всем семействе трехпетельных белков. Характерным эффектом МАП является деполяризация возбудимых нервных и мышечных мембран (гладкой, поперечно-полосатой и сердечной мускулатуры). Различные представители семейства МАП способны усиливать сердцебиение при низких концентрациях и вызывать остановку сердца при высоких концентрациях. Известно, что фосфолипаза  $A_2$ , обычно присутствующая в яде кобр в сравнительно высоких концентрациях, также способна деполяризовать нервные и мышечные мембраны и блокировать нервную проводимость. Существует синергизм в действии фосфолипазы  $A_2$  и МАП. Следует подчеркнуть, что потенцирующее действие имеет место только при одновременном применении обоих агентов. При этом было установлено, что присутствие фермента лишь ускоряет наступление эффекта МАП, не оказывая влияния на его пороговую дозу (рис. 18.29). Механизм деполяризующего действия МАП на клеточные мембраны связывают с увеличением тока входящего  $Ca^{2+}$ , возможно, через поры (каналы), которые токсин формирует в мембране; кроме того, определенную роль может играть кальций, высвобождающийся во время деполяризации из саркоплазматического ретикулума.

МАП способны разрушать не только естественные, но и искусственные фосфолипидные мембраны, состоящие из клеточного монослоя. Так, кардиотоксин из яда среднеазиатской кобры *N. oxiana* увеличивает проводимость искусственных фосфолипидных мембран для катионов и совместно с фосфо-

Рис. 18.29. Синергизм в действии фосфолипазы  $A_2$  и МАП из яда кобры *Naja n. atra* на амплитуду ПД нерва (Chang et al., 1972): 1 – фосфолипаза  $A_2$  (0.05 мг/мл) и МАП (0.1 мг/мл) добавлены одновременно; 2 – МАП (0.5 мг/мл); 3 – МАП (0.1 мг/мл); 4 – фосфолипаза  $A_2$  (0.05 мг/мл) добавлена на 40 мин и отмыта за 5 мин до добавления МАП (0.1 мг/мл)



липазой  $A_2$  уменьшает среднее время жизни искусственных мембран. В больших концентрациях МАП вызывают лизис фосфолипидных везикул и клеточных мембран, дестабилизируют структуру липидного бислоя, вызывают межмембранное смешивание липидов. МАП обладают повышенной токсичностью по отношению к раковым клеткам.

Характерная особенность МАП – это их способность вызывать прямой гемолиз эритроцитов, что послужило основанием для термина «прямой литический фактор» (ПЛФ). В отличие от фосфолипаз  $A_2$ , которые гемолизуют эритроциты за счет образования литических продуктов гидролиза плазменных фосфолипидов (лизолецитина и др.), ПЛФ действует на отмытые от плазмы эритроциты. Имеются видовые различия в чувствительности эритроцитов к МАП, которые в случае яда кобры имеют следующий вид (в порядке убывания):

морская свинка > собака > человек > кролик > верблюд > баран.

Это обстоятельство позволяет использовать цитотоксины для выяснения функциональной архитектуры мембран клеток (как нормальных, так и патологически измененных), а также видовых особенностей организации клеточных мембран.

Таким образом, МАП обладают способностью «вскрывать» поверхностные структуры мембран, обнажая фосфолипидный субстрат для атаки фосфолипазой  $A_2$ . Синергизм в действии МАП и фосфолипазы  $A_2$ , всегда присутствующей в цельном яде, объясняет деполяризующее действие яда на клеточные мембраны.

### 18.2.6. Другие биологически активные вещества яда аспидов

Кроме рассмотренных токсинов и ферментов, в яде аспидов присутствуют и другие белковые компоненты, обладающие выраженной биологической активностью.

**Фактор роста нервов.** Фактор роста нервов из яда кобры был первым открытым нейротрофическим белком. Позже аналогичный компонент был описан в яде

щитомордника *Agkistrodon piscivorus*. В настоящее время этот фактор обнаружен во многих ядах гадюк, гремучников и элапид. В яде кобр содержится фактор, стимулирующий рост афферентных и симпатических нервных клеток. Фактор роста – белок с молекулярной массой ~ 28000 – содержит остатки аминокислот и гексоз. Присутствие этого фактора в ядовитых железах змей не покажется неожиданным, если вспомнить, что они являются гомологами слюнных желез. Последние же у некоторых животных (особенно у мышей-самцов) также секреторируют белковый фактор роста нервов. Возможно, что экскреторные функции слюнных и ядовитых желез обеспечивают выведение избыточных количеств этого фактора из организма.

**Антикомплементарные факторы.** Большой интерес представляют факторы яда кобры, воздействующие на систему комплемента. В настоящее время известны 3 таких фактора: *фактор яда кобры*, *высокомолекулярный фактор* и *ингибитор из яда кобры*. Эти факторы имеют различную молекулярную массу и отличаются по воздействию на систему комплемента.

Фактор яда кобры (CVF), гликопротеид, имеет молекулярную массу ~144000, состоит из трех цепей с  $M_r$  ~70000, 50000 и 30000 Да, соединенных дисульфидными связями. CVF вызывает резкое падение уровня C3 компонента комплемента, удерживающееся в течение нескольких суток. Механизм действия этого фактора близок к действию фермента *C3-конвертазы*, активирующего C3 естественным путем. Однако в отличие от природных компонентов комплемента фактор яда кобры не ингибируется специфическими инактиваторами, лимитирующими цикличность активации комплемента. Это в определенной мере объясняет пролонгированный эффект фактора яда.

Высокомолекулярный фактор (H-CoF) действует на ранних стадиях активации комплемента, его молекулярная масса ~800000, а эффект составляет 3% от общей антикомплементарной активности яда кобры. Наконец, ингибитор комплемента (CI) – термолабильный гликопротеид с молекулярной массой ~26000: образует комплексы с компонентами комплемента C3, C4 и их активными фрагментами C3b и C4b.

Отметим, что из яда среднеазиатской кобры *Naja n. oxiana* были выделены шесть белковых эффекторов комплемента человека, ингибирующих классический путь активации комплемента, а также, за исключением двух белков, и альтернативный путь. Причем один из эффекторов CFB-III усиливал альтернативный путь активации. Антикомплементарные свойства яда кобры находят применение в иммунологических исследованиях.

**Весприны.** Из яда королевской кобры *Ophiophagus hannah* выделен новый белок – *оханин*, представляющий собой одиночную полипептидную цепь, состоящую из 107 аминокислотных остатков с  $M_r$  11951 Да. Первичная структура оханина на 44% идентична структуре B30.2 домена (или PRY-SPRY домена), присутствующего во многих трансмембранных белках. Полагают, что оханин является первым представителем нового семейства, названного *веспринами*. Не исключено, что оханин и родственные белки имеют общий предковый ген.

Оханин практически не токсичен при внутрибрюшинном введении в дозе 10 мг/кг. Однако способен вызывать снижение двигательной активности (гиполо-

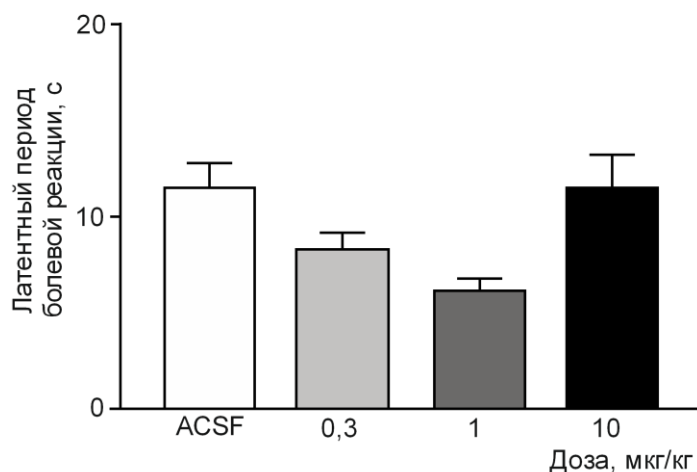


Рис. 18.30. Гипералгезия, вызванная интравентрикулярным введением оханина мышам в тесте «горячей пластины». ACSF (artificial cerebrospinal fluid) – искусственная спинномозговая жидкость (контроль) (Pung et al., 2005)

комоцию) и повышение болевой чувствительности (гипералгезию) у мышей при внутрибрюшинном и интравентрикулярном введении (рис. 18.30). Однако дозозависимая гипералгезия наблюдается только в интервале доз 0.3–1.0 мкг/кг. Полагают, что охинин способствует обездвиживанию и эмоциональному (болевому) стрессу жертвы или хищника, пораженным ядом.

**Белки семейства CRISP.** Секреторные белки, богатые цистеином (cysteine-rich secretory proteins, CRISP), участвуют в работе иммунной системы и в процессах созревания гамет и оплодотворения, хотя их функция до конца не выяснена. Встречаются они и в растениях, и в животных ядах (змеиных – CRISP-Vs). Их аминокислотная последовательность содержит 16 высококонсервативных остатков цистеина, 10 из которых расположены в С-концевой трети молекулы,  $M_r$  23–26 кДа. Полная аминокислотная последовательность известна для более чем 30 CRISP-Vs, однако биологическая активность изучена не у всех. CRISP-Vs выделены не только из нейротоксических ядов Elapidae, но из ядов Colubridae и Crotalinae, что указывает на возможную нейротоксичность последних. Действительно показано, что яды Viperidae могут блокировать ацетилхолиновые и потенциал-управляемые рецепторы в нейронах *Limnaea stagnalis*, то есть проявляют нейротоксичность. Так, *псевдехетоксин* из яда *Pseudechis australis* и *псевдецин* из яда *Pseudechis porphyriacus* блокируют управляемые циклическими нуклеотидами каналы. Некоторые CRISP-Vs, включая абломин из яда *Agkistrodon blomhoffi*, трифлин из яда *Trimeresurus (Protobothrops) flavoviridis* и латизимин из яда *Laticauda semifasciata*, тормозят сокращения гладкой мускулатуры хвостовой артерии крысы вызванные высокими концентрациями ионов  $K^+$ , что указывает на возможное взаимодействие с потенциал-управляемыми  $Ca^{2+}$ -каналами. Натрин из яда *Naja atra* взаимодействует как с кальций-активируемыми высокопроводящими калиевыми каналами, так и с потенциал-управляемыми калиевыми каналами Kv1.3. Скрининг кросс-реактивности с антисывороткой к трифлину показал возможность

присутствия родственных белков в ядах *Hemachatus haemachatus*, *Naja mossambica*, *N. kaouthia*, *N. nivea*, *N. haje* и *O. hannah*. Из последнего яда был выделен основной белок офанин с молекулярной массой 25.0 кДа. Его аминокислотная последовательность, состоящая из 221 остатка, более гомологична с таковой охарактеризованных белков CRISP из ядов змей семейства Viperidae, чем Elapidae. Офанин, как и некоторые другие CRISP (например трифлин и латисемин), умеренно ингибирует сокращение мышц хвостовой артерии крысы, вызываемое высокой концентрацией ионов калия, но не кофеином. Взаимодействие с различными типами ионных каналов указывает на возможность нейротоксического действия CRISP-Vs.



## МОРСКИЕ ЗМЕИ (Hydrophiinae)

«Будьте мудры, как змии, и просты, как голуби», – сказал Христос своим ученикам.

*Евангелие от Матфея, 10:16*



Как уже упоминалось, по современной классификации морские змеи, ранее составлявшие отдельное сем. Hydrophidae, включены теперь в сем. Аспиды (Elapidae) на правах подсемейства Hydrophiinae. К этому же подсемейству относят и ядовитых змей Австралии. Поэтому для удобства изложения материала целесообразно рассмотреть морских змей *sensu stricto*, а затем дать характеристику австралийским змеям.

### 19.1. ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРСКИХ ЗМЕЙ *SENSU STRICTO*

С токсинологической точки зрения наиболее изученными являются представители родов *Laticauda* (плоскохвосты), *Hydrophis* (ластохвосты), *Enchydrina* и некоторые другие. Плоскохвосты еще сохраняют связь с сушей, тогда как ластохвосты являются исключительно водными обитателями. Ластохвостые морские змеи очень специализированная группа типичных морских обитателей, за исключением одного пресноводного вида (лусонский ластохвост *Hydrophis semperi* о. Лусон из Филиппинского архипелага), которые населяют прибрежные тропические воды Индийского и Тихого океанов, встречаясь иногда и на значительном расстоянии от берегов. В Атлантике морских змей нет. Один из наиболее широко распространенных видов морских змей – двухцветная пеламида *Pelamis platurus* – имеет обширный ареал и встречается от восточных берегов Африки до тихоокеанских берегов Америки. Известен случай нахождения этой змеи на Дальнем Востоке (на берегу залива Посьета).

Считают, что холодные воды с температурой ниже 20°C мешают морским змеям обогнуть южные оконечности Африки и Южной Америки и проникнуть из Тихого и Индийского океанов в Атлантический. Таким образом, морские змеи (*sensu stricto*) населяют прибрежные тропические воды Индийского и Тихого океанов и Красного моря (рис. 19.1).

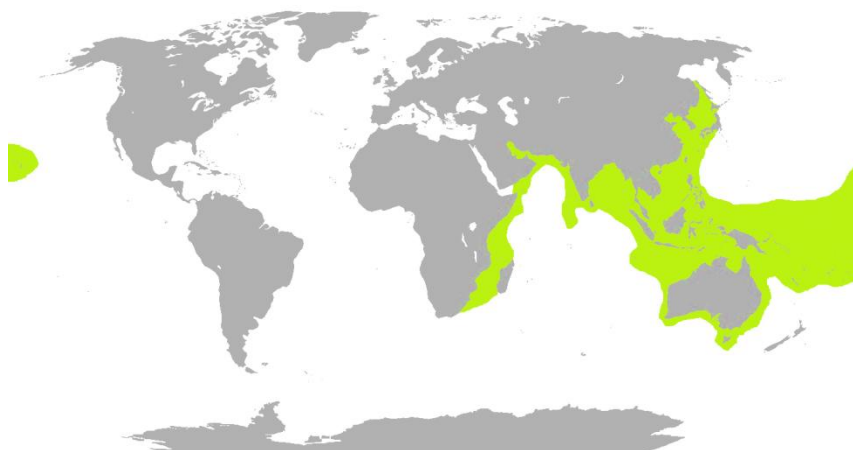


Рис. 19.1. Ареалы морских змей *sensu stricto* (Hydrophiinae) (Wikipedia Commons)

Образ жизни морских змей сильно отличается от наземных змей. В первую очередь заметна сплюснутость хвоста с боков, что общее для всех морских змей. К тому же у них сильно сокращено число брюшных чешуек, кроме представителей рода *Laticauda*, которые хорошо передвигаются и на суше и имеют под языком солевые железы, выделяющие излишнюю соль из организма. Обычно они держатся у самой поверхности воды и вблизи берегов, но нередко удаляются от суши на 50–60 километров. Часто их можно встретить вблизи устьев рек, где они подстерегают свою добычу. случается, что морские змеи даже заплывают в пресные воды реки, но надолго они там не задерживаются, поскольку пресные воды являются для них серьезным препятствием. Большинство морских змей питается рыбой. Добычу они глотают целиком, убив ее предварительным укусом ядовитых зубов. Рыбы менее чувствительны к змеиному яду, чем теплокровные животные, поэтому яд морских змей обладает очень высокой токсичностью.

### 19.1.1. Клиника отравления

В южных широтах от укусов морских змей чаще всего страдают рыбаки, особенно в Индийском океане. Несмотря на распространенное мнение о неагрессивности морских змей, их укусы отнюдь не редкость (табл. 19.1) и практически не опасны для человека. Часто они запутываются в рыбачьих сетях, куда попадают вместе с преследуемой стаей рыб. Однако рыбаки безбоязненно вынимают змей из сети голыми руками и совершенно не боятся их ядовитых зубов. Дело в том, что морские змеи пускают в ход свое грозное оружие лишь при охоте и только в крайнем случае используют его для самообороны. Если морскую змею взять в руки осторожно, не причиняя боли, она никогда не укусит. В противном случае змея может нанести молниеносный укус, вызывающий тяжелые последствия, а иногда заканчивающийся смертью (хотя яд морских змей, как говорилось выше, обладает очень высокой токсичностью, смерть наступает не всегда, так как в ранку вводится очень маленькая доза яда). Совершенствование методов лечения (особенно применение сывороток) привело к снижению смертности, хотя общее число поражений существенно не изменилось (табл. 19.1).

Таблица 19.1

Частота укусов морскими змеями в Малайзии  
(Savai, 1979)

Годы наблюдения	Общее число укусов	Смертность, абс. (%)
1957–1964	101	8 (7.9)
1966–1969	158	5 (3.2)
1970–1975	105	3 (2.6)

При отравлении ядом морских змей, как правило, местные явления (боль, отек) отсутствуют. Характерными симптомами отравления являются двигательные расстройства, затруднение речи и дыхания, тонические спазмы жевательной мускулатуры, птоз, увеличение гематокрита, миоглобинурия, особенно при укусах *Enhydrina schistosa*. Смерть наступает от периферического паралича дыхательной мускулатуры. Первые признаки отравления появляются спустя уже 30 мин после укуса. Введение лечебной сыворотки в течение первых 5 часов резко

повышает шансы пострадавшего на выздоровление. В настоящее время такие сыворотки выпускаются в целом ряде стран. Подчеркнем, что сыворотка против австралийской элапиды *Notechis. scutatus* нейтрализует яды некоторых морских змей: *E. schistosa*, *Lapemis hardwickii* и *Hydrophis cyanocinctus*, что указывает на близость антигенной структуры токсинов элапид и морских змей, хотя различия, безусловно, существуют.

### 19.1.2. Химический состав и механизмы действия яда

Симптоматика экспериментального отравления ядом морских змей напоминает таковую при поражениях ядом элапид. Это сходство в первую очередь обусловлено высокой степенью гомологии между нейротоксинами элапид и морских змей (рис. 19.2.). В то же время некоторые биологические особенности морских змей, в частности небольшое количество выделяемого ими яда, делают их менее опасными, чем элапиды, хотя яд морских змей довольно токсичен (табл. 19.2).

Таблица 19.2

Ядопродуктивность и токсичность некоторых морских змей  
(Tamja, Paffer, 1974)

Вид	Масса тела, г	Количество яда		
		жидкий, мл	сухой остаток, мг/мл	DL <sub>50</sub> <sup>*</sup> , мкг/г
<i>Aipysurus laevis</i>	200–840	0.05	132	0.13
<i>Hydrophis belcheri</i>	360–520	0.01	244	0.24
<i>Hydrophis elegans</i>	330	0.02	277	0.12
<i>Hydrophis ornatus</i>	770	0.05	166	0.16

\*Внутримышечно мышам.

Так, например, для получения около 8 г сухого яда пришлось выделить ядовитые железы у 3074 особей двухцветной пелакиды *Pelamis platurus*. Во избежание потерь при получении яда иногда используют отсасывание с кончика зуба змеи с помощью микропипетки.

Из яда *Laticauda semifasciata* выделена и структурно охарактеризована группа нейротоксинов, в частности эрабутоксины а, b, с (рис. 19.2, 19.3), имеющие сходство с короткими α-нейротоксинами элапид. Токсичность эрабутоксинов а и b составила 0.15 мкг/г для мышей при внутрибрюшинном введении.

Кроме того, в яде *Laticauda semifasciata* содержатся атипичные длинные нейротоксины (Lc-a и Lc-b), гомологичные длинным α-нейротоксинам элапид, имеющие 69 аминокислотных остатков. Подобно другим прототипам α-нейротоксинов, Lc-a и Lc-b, отличающиеся между собой только 5 позициями в первичной структуре, высокоспецифически взаимодействуют с никотиновыми Ах-рецепторами электрического органа ската *Torpedo* (Kd ~ 10–11 М). Однако, в отличие от типичных длинных α-нейротоксинов, в структуре Lc-a и Lc-b отсутствует пятая дисульфидная связь в петле II, что препятствует их эффективному связыванию с нейрональными Ах-рецепторами типа α7.

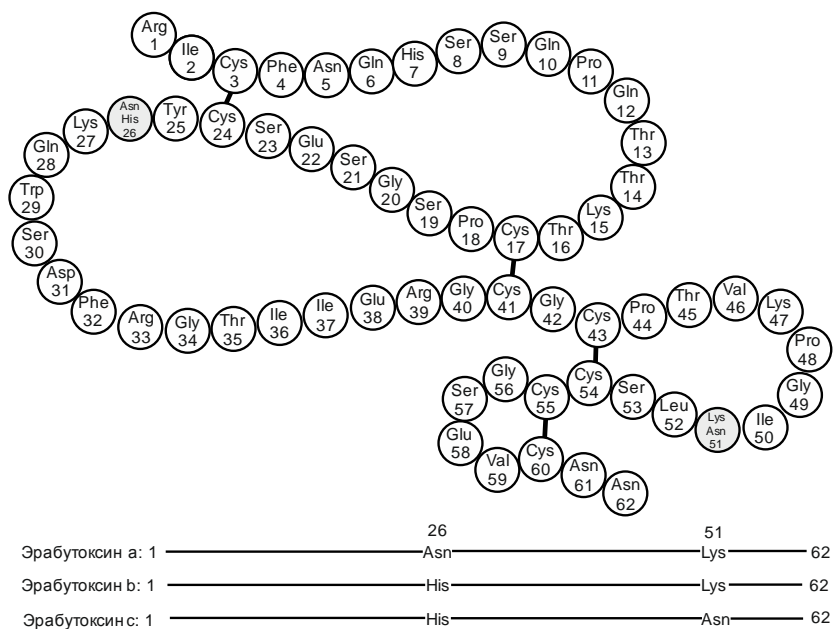


Рис. 19.2. Структура эрабботоксинов а, б и с из яда морской змеи *Laticauda semifasciata*

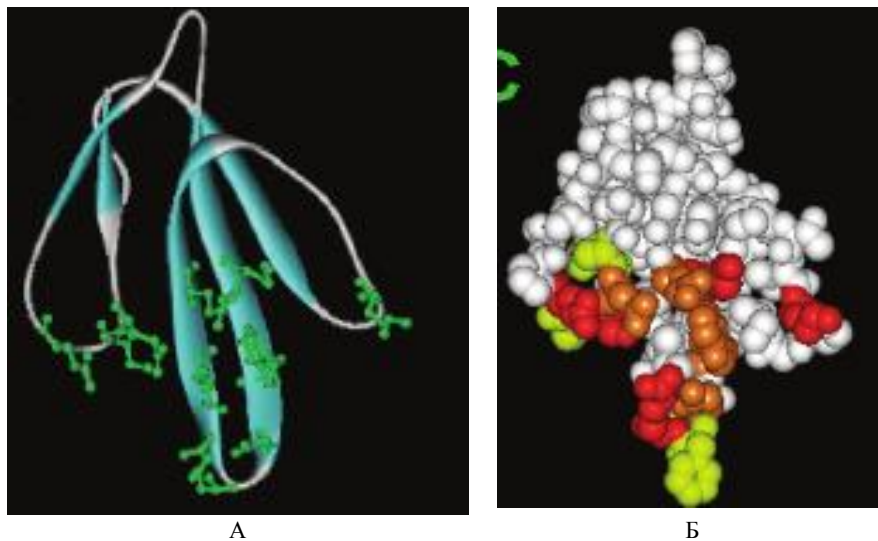


Рис. 19.3. Молекулярная структура эрабботоксина а: А – на трехпетельной риббон-диаграмме указаны (зеленым) функциональные участки молекулы эрабботоксина, взаимодействующие с никотиновым ацетилхолиновым рецептором; Б – объемная модель молекулы эрабботоксина а. Аминокислотные остатки, окрашенные белым, не оказывают влияния на сродство к рецептору. Аминокислотные остатки, окрашенные желтым, коричневым и красным, при химической модификации уменьшают сродство в 4, 10 и 100 раз соответственно (Kini, 2002)

Несколько особняком стоит токсин LsIII из яда *Laticauda semifasciata*, состоящий из 66 аминокислотных остатков и 5 дисульфидных связей. Его токсичность для мышей при внутримышечном введении равна 0.64 мкг/г. Хотя известно, что аминокислотные остатки в С-концевом участке полипептидной цепи  $\alpha$ -кобротоксина (Phe65) и  $\alpha$ -бунгаротоксина (Lys70 и Arg72) являются важными для взаимодействия с Ах-рецептором, длинный  $\alpha$ -нейротоксин LSIII из яда морской змеи *Laticauda semifasciata*, имеющий короткий С-концевой участок, также эффективно связывается мышечными никотиновыми Ах-рецепторами. Это свидетельствует о минимальной роли С-концевых аминокислотных остатков в блокировании Ах-рецептора.

Функциональные участки, обеспечивающие токсические и антигенные свойства молекулы нейротоксина, не совпадают. На рис. 19.4 жирным кружком обозначены аминокислотные остатки гомологичных  $\alpha$ -нейротоксинов, обеспечивающие их общие антигенные свойства. Эти аминокислотные остатки встречаются у большинства  $\alpha$ -нейротоксинов. Специфические антигенные свойства эрабутоксина b связаны с Arg1(R), Gln12(Q), Ser57(S) и Glu58(E) (выделенные кружки на рис. 19.4). При этом функционально-инвариантные аминокислотные остатки, обеспечивающие связывание токсина с холинорецептором, ориентированы на одну сторону молекулы (знак (+) на рис. 19.4), тогда как большинство антигенных детерминант направлено в противоположную сторону (знак (-) на рис. 19.4).

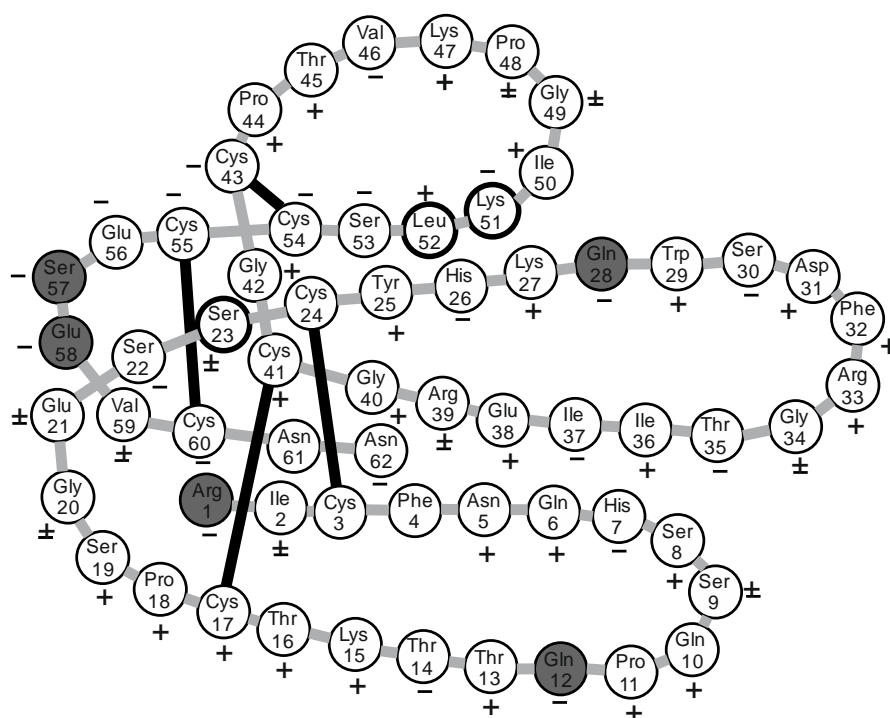


Рис. 19.4. Трёхмерная структура эрабутоксина b из яда плоскохвоста *Laticauda semifasciata* (Abe, Tamja, 1979). Подробности в тексте

У экспериментальных животных целые яды морских змей и выделенные из них нейротоксины вызывают блок нервно-мышечной передачи, скорость развития которого носит доза-зависимый характер (рис. 19.5). Причиной паралича является блокирование нейротоксинами холинорецепторов субсинаптической мембраны мионеврального синапса.

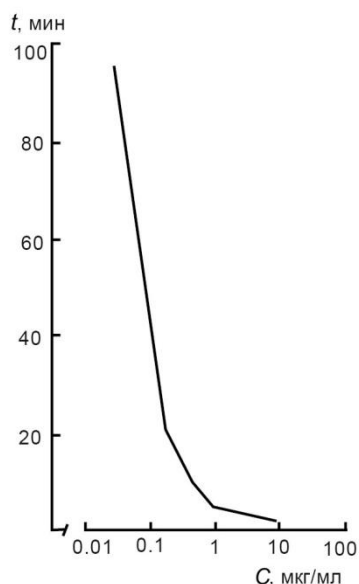


Рис. 19.5. Блокирующее действие эрабутоксина b из яда *Laticauda semifasciata* на нервно-мышечную передачу в изолированной двубрюшной шейной мышце цыпленка; по оси ординат – время, необходимое для снижения на 50% амплитуды сокращений мышцы на непрямое раздражение (Harvi et al., 1978)

В паралитических дозах (50 мкг/кг) эрабутоксин a вызывает у кроликов длительный (10–20 ч) паралич дыхательной мускулатуры, не снимающийся антихолинэстеразными препаратами. Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы носят вторичный характер. Это можно отнести и к действию нейротоксинов других морских змей (*пеламистоксин a* из яда *Pelamis platurus* и др.). Следовательно по характеру действия  $\alpha$ -нейротоксины морских змей относятся к постсинаптическим токсинам змеиных ядов, хотя и обладают более обратимым блокирующим эффектом. Однако этим не исчерпывается фармакологическая активность яда морских змей.

Яд *Enchydrina schistosa* блокирует синаптическую передачу в симпатических ганглиях, однако для достижения эффекта необходимы дозы большие, чем вызывающие нервно-мышечный блок. Это еще раз указывает на различия в молекулярной организации периферических и ганглионарных Н-холинорецепторов. Присутствующие в яде постсинаптические нейротоксины – *энгидротоксины a, b и c* – имеют  $DL_{50}$  42, 45 и 52 мкг/кг соответственно. Их токсическое действие связано с необратимым блоком нервно-мышечной передачи в холинергических синапсах.

Яд *E. schistosa* также обладает миотоксическим эффектом, обусловленным активностью фосфолипазы  $A_2$ . Последняя вызывает структурные нарушения в диафрагме (некроз миофибрилл, инфильтрацию фагоцитами, набухание митохондрий). Эти

изменения наблюдаются уже через 6 ч после введения фосфолипазы в дозе 400 мкг/кг.

Миотоксическая фосфолипаза состоит из 119 аминокислотных остатков, имеет 7 дисульфидных связей и гомологична по своей структуре фосфолипазам A<sub>2</sub> из яда элапид. Миотоксическое действие фосфолипазы A<sub>2</sub> усугубляет тяжесть отравления ядом *E. schistosa*.

В целом яды морских змей по химическому составу и механизмам действия напоминают яды элапид, что подчеркивает их филогенетическую близость.

## 19.2. АВСТРАЛИЙСКИЕ ЯДОВИТЫЕ ЗМЕИ

Ядовитые змеи Австралии по праву считаются одними из самых опасных на земном шаре. За исключением классической полосатой тигровой змеи (tiger snake – *Notechis scutatus*), определить напавшую змею достаточно тяжело, это может сделать только специалист. В то же время, как уже подчеркивалось, определение видовой принадлежности змеи необходимо для выбора тактики серотерапии. В австралийских больницах есть специальный диагностический набор для определения типа змеиного яда (Venom Detection Kit), с помощью которого исследуют одежду, ранки, кровь или мочу потерпевшего. Австралийские противоядия очень эффективны, однако, учитывая их высокую стоимость и возможность появления тяжелых аллергических реакций, их применяют только при наличии клинических признаков отравления.

В ядах австралийских змей присутствуют три основных патогенетических фактора: активаторы протромбина, фосфолипазы с различной субстратной специфичностью и полипептидные нейротоксины. Поэтому в картине отравления как правило наблюдаются неврологические симптомы: дезориентация, вялый паралич, дыхательная недостаточность, сопровождающиеся геморрагиями и коагулопатией. Вопрос о систематизации патогенетических эффектов, вызываемых ядами австралийских змей, остается открытым. Некоторые авторы предлагают в соответствии с коагулопатией, как ведущим патогенетическим симптомом, классифицировать ядовитых змей Австралии на две группы: виды с прокоагулянтными ядами и виды с непрокоагулянтными ядами (табл. 19.3). Основным симптомом коагулирующего действия ядов является развитие ДВС-синдрома (синдрома диссеминирующего свертывания крови).

Таблица 19.3

Классификация ядовитых змей Австралии  
(Fry, 1999, с изменениями)

Виды с прокоагулянтными ядами	Виды с непрокоагулянтными ядами
<i>Notechis sp.</i>	<i>Acanthophis antarcticus</i>
<i>Oxyuranus sp.</i>	<i>Austrelaps superbis</i>
<i>Pseudechis sp.</i>	<i>Pseudechis australis</i>
<i>Pseudonaj sp.</i>	<i>Pseudechis colletti</i>
<i>Tropidechis cariatus</i>	<i>Pseudechis guttatus</i>



Однако такая классификация не является исчерпывающей, поскольку не учитывает нейротоксические и миотоксические свойства ядов, имеющие не менее важное патогенетическое значение. Так, в ядах австралийских змей содержатся фосфолипазы  $A_2$ , обладающие гемотоксическими (геморрагии), миотоксическими (мионекрозы) и нейротоксическими (блокирование нервно-мышечной передачи) свойствами. Подчеркнем, что неврологические расстройства и параличи вызываются содержащимися в ядах австралийских змей пресинаптическими токсинами, а также низкомолекулярными полипептидными компонентами, которые представлены, как и в ядах других элапид, короткими и длинными постсинаптическими нейротоксинами (табл. 19.4).

Таблица 19.4

Постсинаптические нейротоксины ядов австралийских змей (Fry, 1999)

Вид	Токсин	Тип токсина	Молекулярная масса, Да	Аминокислотные остатки
<i>Acanthophis antarcticus</i>	Aa-c	Короткий	6879.99	62
	Aa-b	Длинный	8135.47	73
	Aa-e	Длинный	8761.31	79
	Акантофин-d	Длинный	8386.92	74
<i>Notechis scutatus</i>	Нотехис III-4	Длинный	8060.42	73
<i>Pseudechis australis</i>	Pa-ID	Длинный	7760.88	68
<i>Pseudonaja textilis</i>	Псевдоная-токсин-b	Длинный	7761.02	71
<i>Oxyuranus s. scutellatu</i>	Тайпоксин 1	Короткий	6733.58	62
	Тайпоксин 2	Короткий	6789.79	62
<i>Pseudechis australis</i>	Pa-A	Короткий	6757.69	62

Применение двухмерного электрофореза в ПААГ с последующей идентификацией с помощью масс-спектрометрии позволило идентифицировать в ядах 18 видов австралийских змей новые для них биологически активные компоненты: металлопротеиназы, весприны, ингибиторы фосфолипаз  $A_2$ , протеиндисульфидизомеразу, 5'-нуклеотидазу, цистеин-богатые секретируемые белки, лектины С-типа, ацетилхолинэстеразу и другие, что проливает свет на сложные механизмы поражения ядом, а также открывает новые перспективы их использования в биологии и медицине.

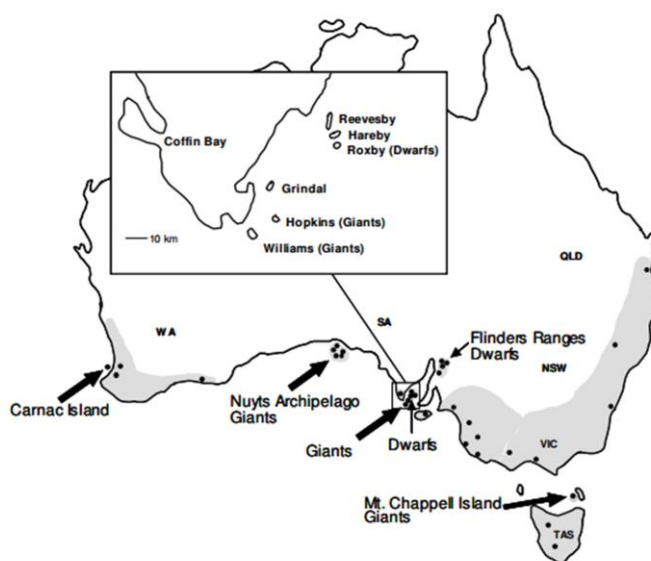
Ниже приведена краткая характеристика наиболее опасных австралийских змей и продуцируемых ими ядов.

### 19.2.1. Тигровая змея (*Notechis scutatus*)

*Notechis scutatus* – тигровая змея (рис. 19.6) распространена на юге и юго-востоке Австралии. Местами обитания являются леса, луга, пастбища, пустыни. Длина змей до 2 м. Живородящие, в выводке, как правило, около 30 особей. Имеют окраску серого, оливкового или красноватого цвета. Питаются мелкими ящерицами, змеями, различными земноводными и крупными насекомыми, мелкими



А



Б

Рис. 19.6. *Notechis scutatus occidentalis*:  
А – внешний вид, Б – ареал (Albert, 2005)

млекопитающими. Обладает, как правило, мирным нравом, но следует помнить, что она одна из самых ядовитых сухопутных змей. Некоторые авторы указывают на существование на материке и ближних островах двух видов и нескольких под-видов тигровой змеи:

1. *Notechis scutatus scutatus*
2. *Notechis scutatus occidentalis*

3. *Notechis ater ater*
4. *Notechis ater niger*
5. *Notechis ater serventyi*
6. *Notechis ater humphreysi*.

Укушенные тигровой змеей мелкие животные погибают практически моментально, буквально не сходя с места. Укусы этих крупных змей представляют реальную угрозу для жизни человека. Доля смертельных исходов после укуса очень велика.

Ведущий компонент яда *нотексин* представляет собой одиночную полипептидную цепочку, состоящую из 119 аминокислотных остатков (рис. 19.7), молекулярная масса токсина 13574. Имеет 7 дисульфидных связей между цистеинами: 11–71, 27–118, 29–45, 44–99, 51–92, 60–85, 78–90.

```

      10      20      30      40      50      60
NLVQFSYLIQCANHGKRPTWNYMDYGCYCGAGGSGTPVDELDRCKIHDDCYDEAGKKGCFPKM
      70      80      90     100     110     119
SAYDYUCGENGPYCRNLIKKKCLRFVCDVDVEAAFCFAKAPYNNANWNIDTKKRCQ
  
```

Рис. 19.7. Первичная структура нотексина (Mollier et al., 1989)

Токсичность нотексина ( $DL_{50}$ ) – 17 мкг/кг. Нотексин вызывает паралич конечностей, неподвижность, нарушение дыхания и смерть в результате необратимого связывания с нервно-мышечными синапсами. Пресинаптический нейротоксин  $\beta$ -бунгаротоксин, но не d-тубокурарин, предотвращает эффекты нотексина. Нотексин обладает фосфолипазной  $A_2$  активностью и мионекротическим действием. Химическая модификация остатков триптофана 20 и 110 в молекуле нотексина приводила к снижению токсичности и блокирующего синаптического действия, однако не влияла на энзиматические (активность фосфолипазы  $A_2$ ) свойства нотексина (рис. 19.8).

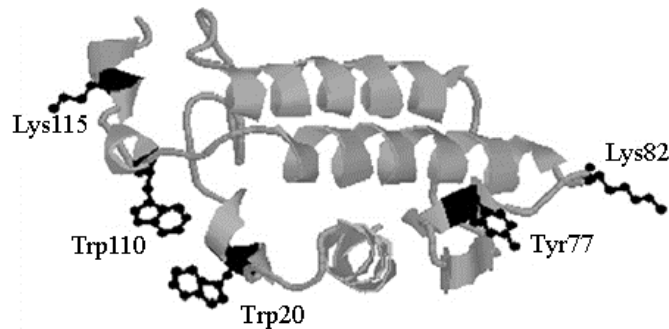


Рис. 19.8. Третичная структура нотексина с указанием расположения функционально активных аминокислотных остатков Trp20, Tyr77, Lys82, Trp110 и Lys115 (Kao et al., 2007)

Селективная модификация остатка триптофана 20 не влияла на токсические свойства нотексина. Эти результаты показывают, что ферментативные и токсические участки в молекуле нотексина разделены, и только триптофан 110 ответственен за токсическое действие. Дальнейшие исследования показали, что токсичность нотексина связана с остатками тирозина в позициях 7, 70 и 77. Химическая

модификация T<sub>7</sub> и T<sub>77</sub> снижала до 44.4% от исходной энзиматическую активность и почти на 97% уменьшала токсичность нотексина.

Кроме того, в яде тигровой змеи *Notechis scutatus* содержится сильный коагулянт, которому для превращения протромбина в тромбин необходимы только фактор V и ионы кальция.

### 19.2.2. Род Тайпаны (*Oxyuranus*)

Род *Oxyuranus* – Тайпаны – ядовитые австралийские змеи. Токсикологически охарактеризованы 3 вида: собственно тайпан (*Oxyuranus scutellatus*), жестокая змея (*Oxyuranus microlepidotus*) (рис. 19.9) и *Oxyuranus temporalis*. Тайпан, или прибрежный тайпан – *Oxyuranus scutellatus (coastal taipan)* – крупная (длиной до 3–3.3 м) ядовитая змея. Из-за агрессивного нрава, крупных размеров и скорости передвижения тайпан считается самой опасной из всех ядовитых змей на свете. Обитает на побережье Северной и Северо-Восточной Австралии и на юго-востоке Новой Гвинеи (рис. 19.10), отчего и приобрёл своё название. Ведёт преимущественно дневной образ жизни. Питается лягушками и мелкими млекопитающими, включая мышей и крыс, поэтому нередко неподалеку от людского жилья и на полях сахарного тростника, где до изобретения уборочных комбайнов случались наиболее частые укусы людей. Ядовитые зубы до 13 мм в длину. Ядовитые железы тайпана содержат до 400 мг яда, в среднем около 120 мг. Окрас однотонный, светло- или тёмно-коричневый или красноватый; голова светлее, брюхо белое или желтоватое. Тайпан очень агрессивный и быстрый: при виде опасности приподнимает голову, покачивая ею, потом молниеносно бьёт противника несколько раз подряд. Укус тайпана может привести к смерти за 4–12 часов, тогда как укушенный другими самыми ядовитыми змеями человек живёт около суток. В штате Квинсленд, где тайпаны встречаются чаще всего, умирает каждый второй укушенный.

Жестокая (свирепая) змея – *Oxyuranus microlepidotus (fierce snake)*, или внутриматериковый тайпан (*inland taipan*). Достигает длины 1.9 м, окрас спины варьирует от тёмно-коричневого до соломенного; единственная змея Австралии, которая меняет цвет в зависимости от времени года: зимой (в июне-августе), когда не так жарко, эта змея заметно темнее. Голова темнее и может приобретать глянцево-чёрный цвет. Ареал ограничен центральной Австралией – в основном востоком Квинсленда, но изредка встречается и на севере сопредельных штатов Новый Южный Уэльс и Северная территория (рис. 19.10). Населяет сухие равнины и пустыни, прячась в трещинах и разломах почвы, из-за чего его крайне трудно обнаружить. Питается почти исключительно мелкими млекопитающими. Самки откладывают 12–20 яиц в глубоких трещинах или в заброшенных норах; инкубация длится около 66 дней. Это самая ядовитая из сухопутных змей. В среднем от одной змеи получают 44 мг яда. Однако, в отличие от тайпана, жестокая змея не агрессивна; все задокументированные случаи укусов были результатом неосторожного обращения с ней.

***Oxyuranus scutellatus***. Основной компонент яда – *тайпоксин* – состоит из трех нековалентно связанных полипептидных компонентов:  $\alpha$  ( $M_r \sim 13\,000$ , 119 остатков),  $\beta$  ( $M_r \sim 13\,400$ , 120 остатков) и  $\gamma$  ( $M_r \sim 18\,300$ , 135 аминокислотных остатков).  $\alpha$ -Субъединица представляет собой основной белок с энзиматическими (фосфолипаза A<sub>2</sub>) свойствами и обладает умеренным нейротоксическим действием. Токсичность  $\alpha$ -субъединицы (300 мкг/кг) значительно ниже, чем целого тайпксина (2 мкг/кг). Ее первичная структура гомологична другим панкреатическим и нейротоксическим фосфолипазам.



*Oxyuranus scutellatus*



*Oxyuranus microlepidotus*

Рис. 19.9. Представители австралийских тайпанов (Wikipedia Commons)

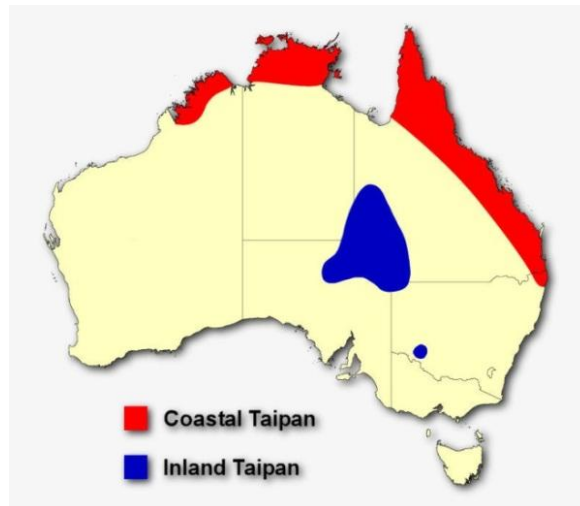


Рис. 19.10. Ареалы тайпана в Австралии (Wikipedia Commons)

$\beta$ -Субъединица является нейтральным белком, который может быть разделен на две изосубъединицы  $\beta_1$  и  $\beta_2$ . Обе изосубъединицы не обладают энзиматическими свойствами и являются нетоксичными, в частности, из-за неспособности связывать кальций, необходимый для проявления биологической активности.

$\gamma$ -Субъединица – кислый сиалогликопротеин, гомологичный панкреатической фосфолипазе  $A_2$  свиньи; обладает низкой активностью.

Тайпоксин вызывает истощение запасов медиатора в пресинаптическом окончании с последующим развитием блока нервно-мышечной передачи за счет нарушения рециклинга пресинаптических везикул. Длительность блокады возрастает при понижении температуры с 37 до 28°C в четыре раза. Увеличение частоты непрямой стимуляции сокращает время наступления блокады нервно-мышечной передачи (рис. 19.11).

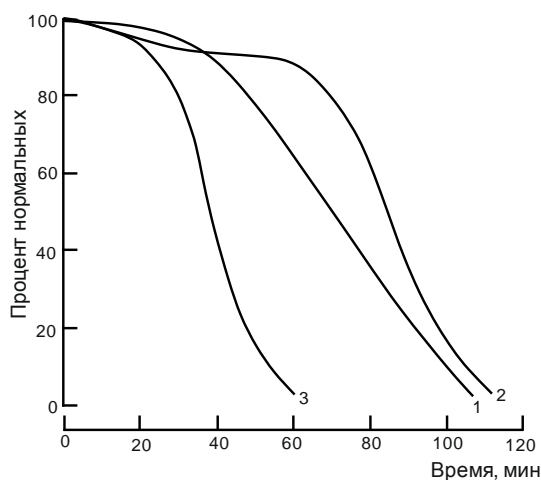


Рис. 19.11. Влияние тайпоксина (5 мкг/мл) и нотексина (5 мкг/мл) на нервно-мышечную передачу: 1 и 2 – эффекты тайпоксина при непрямо́й стимуляции с частотой 0.1 и 0.5 Гц, соответственно; 3 – эффект нотексина при непрямо́й стимуляции с частотой 0.5 Гц (Cull-Candy et al., 1976)

Химическая модификация аминокислотных остатков молекул нейротоксинов, приводящая к ингибированию фосфолипазной активности, приводит в целом ряде случаев к снижению токсичности, но не к полной ее потере. Замена  $Ca^{2+}$  (кофактора фосфолипазы  $A_2$ ) в растворе на  $Sr^{2+}$  хотя и снижает фосфолипазную активность тайпоксина, но не препятствует развитию его пресинаптического действия. Однако в пределах пресинаптической мембраны пресинаптические токсины имеют различные участки связывания. Изучение комбинированного действия  $\beta$ -бунгаротоксина, кротоксина и тайпоксина показало, что их совместное бинарное взаимодействие является потенцирующим, следовательно участки связывания токсинов с пресинаптической мембраной различаются. Множественность участков связывания пресинаптических токсинов не является неожиданной, если учесть различия в их химической структуре. Возможно, что у субъединичных токсинов существует разделение функций, когда один компонент отвечает за связывание, а другой – за гидролиз фосфолипидов.

Несомненно, что фосфолипазная активность пресинаптических токсинов играет важную роль в их миотоксическом действии. Внутримышечное введение тайпоксина вначале приводит к значительному увеличению массы мышцы и развитию отека. В месте инокуляции яда наблюдается инфильтрация полиморфно ядерными лейкоцитами. В течение нескольких последующих суток масса мышцы снижается ниже контрольного уровня, развиваются дегенеративные изменения, которые затрагивают преимущественно экстрафузальную мускулатуру, тогда как мышечные веретена более устойчивы к действию токсинов. Деструкция мышечной ткани ведет к выраженной миоглобинурии и увеличению уровня лизофосфатидилхолина и лизофосфатидилэтаноламина.

Есть данные, что тайпоксин вызывает нарушение рециклинга везикул путем взаимодействия с новым классом белков – нейрональными пентраксинами<sup>171</sup> и нейрональным пентраксиновым рецептором.

<sup>171</sup> Классические пентраксины – семейство сывороточных белков, входящие в группу «реактантов острой фазы» развития воспалительного процесса. Наиболее обычные пентраксины млекопитающих – С-активный белок и амилоидный Р-компонент. Характерная особенность пентраксинов – образование дисковидной структуры, состоящей из 5 нековалентно связанных субъединиц.

Кроме тайпоксина, в яде *Oxyuranus scutellatus* имеется олигомерный комплекс – *таукатоксин* (52 кДа), представленный тремя нековалентно связанными субъединицами  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  в соотношении 1:1:4. Один из компонентов является высокотоксичной фосфолипазой  $A_2$ , что необходимо для проявления токсических свойств комплекса. Другой компонент является нетоксичной фосфолипазой  $A_2$ , а третий – ингибитором сериновых протеаз. Этот токсин взаимодействует с высокопороговыми кальциевыми каналами сердечной мышцы.

В яде тайпанов содержатся также факторы, оказывающие влияние на свертывающую систему крови, в частности тайпоксин из яда *Oxyuranus scutellatus* переводит протромбин в тромбин даже в отсутствие факторов свертывания, в том числе и кальция.

***Oxyuranus microlepidotus*. Парадоксин** – действующее начало яда, как и тайпоксин представлен тремя субъединицами ( $M_r$  47 кДа). Токсичность ( $DL_{50}$ ) целого яда составляет 20 мкг/кг при подкожном и 2 мкг/кг при внутривенном введении мышам. Целый яд обладает сильным нейротоксическим действием на нервно-мышечных препаратах, вызывает расслабление предварительно сокращенной изолированной полоски артерии крысы, гипотензивную реакцию у наркотизированных крыс, тормозит циклооксигеназу и фосфолипазу  $A_2$ , является антагонистом  $K^+$ -каналов. Целый яд (10 мкг/мл) и парадоксин (65 нМ) устраняли сокращения нервно-мышечных препаратов, вызванных непрямым стимуляцией. Замещение кальция в растворе на стронций увеличивало время 90%-ного торможения синаптической передачи, вызванной парадоксином. Целый яд, но не парадоксин тормозил ответы нервно-мышечного препарата на ацетилхолин (1 мМ) и карбахол (20 мкМ), но не на КС1 (40 мМ). Парадоксин уменьшал квантовый состав и частоту минПКП до блокирования высвобождения ацетилхолина. Таким образом, можно заключить, что парадоксин блокирует нервно-мышечную передачу на пресинаптическом уровне.

Из яда *Oxyuranus microlepidotus* выделены три натрийуретических пептида (TNP-a, TNP-b и TNP-c), также присутствующих в яде *Oxyuranus scutellatus canni* и *Oxyuranus scutellatus scutellatus*.

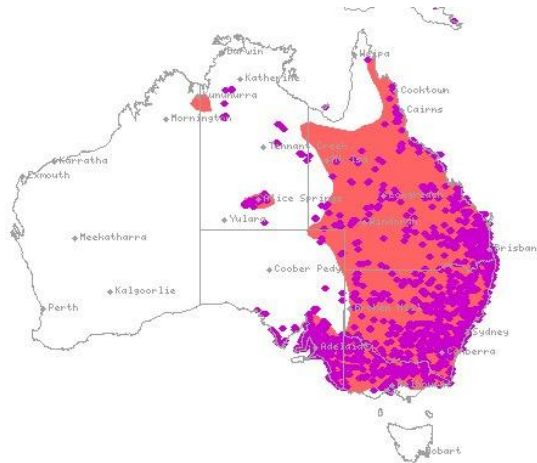
***Oxyuranus scutellatus canni***. Этот подвид тайпана обитает на Папуа – Новая Гвинея. Отравление ядом *Oxyuranus scutellatus canni* сопровождается лимфаденопатией, болями в животе, коагулопатией и неврологическими симптомами. Токсичность целого яда составляет 50 мкг/кг при подкожном введении мышам. Из яда выделен пресинаптический нейротоксин *каннитоксин*, с  $M_r$  44.8 кДа, составляющий до 16% от массы целого яда. Токсин обладает активностью фосфолипазы  $A_2$  (330 мкМ/мин/мг) и в диапазоне концентраций 11–66 нМ дозозависимым образом тормозит сокращение нервно-мышечного препарата, вызванное непрямым стимуляцией. Ингибирование фосфолипазной активности 4-бромфенацил бромидом предотвращало блокирование нервно-мышечной передачи. Каннитоксин состоит из трех субъединиц  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  и, возможно, из двух  $\beta$ -изомеров. Активность каннитоксина *in vitro* воспроизводит только  $\alpha$ -субъединица. Таким образом, каннитоксин по своим характеристикам подобен тайпоксину.

### 19.2.3. Восточная коричневая змея (*Pseudonaja textilis*)

*Pseudonaja textilis* – восточная коричневая змея – распространена по всему востоку Австралии (рис. 19.12). Окрас изменчивый, может варьировать от светло-коричневого, темно-коричневого, красновато-коричневого и оранжевого до почти черного, или любого оттенка в пределах перечисленных. Брюхо обычно кремового или желтовато-оранжевого окраса с темным крапом. Размеры обычно не превышают 1.5 метров, на самом севере ареала обычны особи под 2 метра. Известны два подвида, номинативный *Pseudonaja textilis textilis* и *Pseudonaja textilis pughii*. Общая длина (вместе с хвостом) составляет 1.1–1.8 м. Максимальный зарегистрированный размер для этого вида составляет 2.4 м. Крупные экземпляры *Pseudonaja textilis* часто путают с *Pseudechis australis* (мулга), поскольку их ареалы перекрываются. *Pseudonaja textilis* встречается в сухих склерофитовых лесах, на пустошах, лугах, в зарослях кустарников и на сельскохозяйственных угодьях.



А



Б

Рис. 19.12. Восточная коричневая змея – *Pseudonaja textilis*: А – внешний вид, Б – ареал (Wikipedia Commons)

*Pseudonaja textilis* не проникает в тропические леса, а также не встречается в пустынях. Поскольку грызуны составляют основную диету, они часто обитают возле домов и ферм. Отравление сопровождается судорогами, параличами, почечной недостаточностью, остановкой сердца.

В яде содержится сильный пресинаптический нейромиеотоксин – *текстилиотоксин*, – обладающий фосфолипазной активностью и нарушающий регуляцию механизма контроля за высвобождением ацетилхолина. Текстилиотоксин оказывает трехфазное действие на нервно-мышечную передачу: начальное угнетение сменяется усилением высвобождения медиатора с последующей блокадой. Текстилиотоксин содержит 623 аминокислотных остатка. Он состоит из 5 нековалентно связанных субъединиц (две из которых D-субъединицы). Субъединица А – летальная субъединица с низкой фосфолипазной активностью, отличающаяся антигенной структурой от субъединиц В, С и D, которые, в свою очередь, структурно и иммунологически близки к нотексину из яда тигровой змеи.



Кроме того, в яде *Pseudonaja textilis* содержится высокотоксичный постсинаптический нейротоксин *псевдонаятоксин-в*, гомологичный длинным  $\alpha$ -нейротоксином элапид (табл. 19.4).

#### 19.2.4. Род Смертельные змеи (*Acanthophis*)

Род *Acanthophis* – смертельные змеи – представлен в Австралии несколькими видами. Гадюкообразная смертельная змея (*Acanthophis antarcticus*) – обитает в Австралии, на о. Новая Гвинея и соседних островах (рис. 19.13). Название переводится с греческого как «колючая змея». Общая длина 70–100 см. Примечательно значительное внешнее сходство с гадюками. Широкая голова с выступающими скулами имеет треугольную форму с резким шейным перехватом, надглазничные щитки резко выступают вбок, чешуя на верхней стороне туловища ребристая. Клыки достаточно большие. Туловище короткое. Окраска тела светло-коричневая с несколькими тёмными полосами вдоль туловища. Предпочитает лесистую, кустарниковую местность. Активна ночью. Передвигается в основном по земле. Пищей являются мелкие млекопитающие, птицы и змеи. Это живородящая змея. Самка рождает 10–20, очень редко 30 детёнышей. Поведение схоже с гадюкой. При возникновении опасности лежит неподвижно, не спасаясь бегством и не принимая отпугивающие позы, а полагается на свою окраску, что делает её незаметной. В связи с такой манерой поведения путник чаще сталкивается вплотную со змеей и бывает укушен ею. Яд достаточно мощный, имеет нейротоксическое действие. Половина укушенных этой змеей людей погибает. *Acanthophis praelongus* встречается на Новой Гвинее и в тропической части Северной Австралии. Распространение *Acanthophis pyrrhus* ограничено засушливыми частями Австралии: штат Западная Австралия, юг Северной Территории и север Южной Австралии. Известны и другие представители этого рода.

Из яда смертельных гадюк выделены и охарактеризованы некоторые биологически активные компоненты. Так, *акантины* I и II обладают фосфолипазной  $A_2$  активностью и имеют  $M_r$  12844 и 12895 Да соответственно. Они состоят из 118–119 аминокислотных остатков, стабилизированных 7 дисульфидными связями. Акантины I и II эффективно ингибируют агрегацию тромбоцитов, вызванную коллагеном. В яде



Рис. 19.13. Гадюкообразная смертельная змея *Acanthophis antarcticus antarcticus*: А – внешний вид; Б – ареал (Wikipedia Commons)

*Acanthophis praelongus* также присутствуют антиагрегационные компоненты, например, *праелонгины* 2bIII, 2cII и 2cIV. Кроме того, из яда *Acanthophis* sp. выделены *акантоксины* А, В и С, которые обладают свойствами фосфолипазы A<sub>2</sub>.

Известно, что яды *A. antarcticus*, *A. praelongus* и *A. pyrrhus* вызывают блокирование нервно-мышечной передачи (рис. 19.14), взаимодействуя с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами, при этом ряд активности (по убыванию) выглядит следующим образом:

*A. antarcticus* > *A. pyrrhus* > *A. praelongus*.

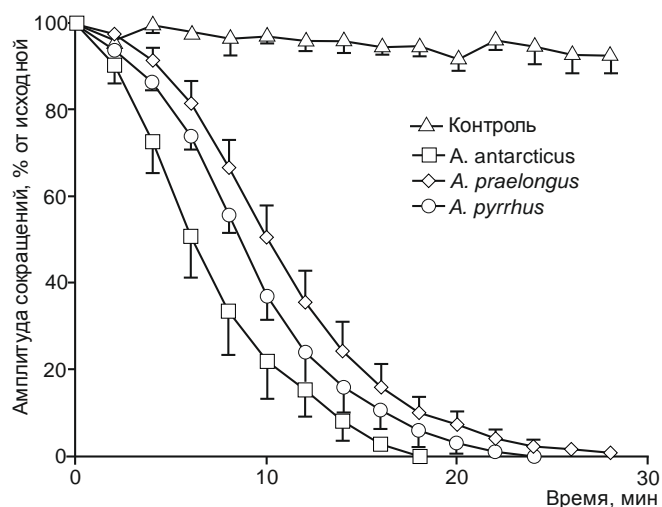


Рис. 19.14. Влияние яда *Acanthophis* sp. (10 мкг/мл) на нервно-мышечную передачу (Wickramaratna, Hodg, 2001)

Эти эффекты обусловлены присутствующими в яде короткими и длинными постсинаптическими нейротоксинами.

Короткие постсинаптические нейротоксины имеют 63 аминокислотных остатка и 4 дисульфидные связи, например *акантофин-а* ( $M_r$  7700 Да), имеющий токсичность ( $DL_{50}$ ) при внутрибрюшинном введении мышам 0.16 мг/кг и блокирующий постсинаптические никотиновые ацетилхолиновые рецепторы. Другим коротким нейротоксином, выделенным из яда *A. antarcticus*, является *токсин Аа-с*, состоящий из 62 аминокислотных остатков, с  $M_r$  898, содержащий 9 цистеиновых остатков и 2 дисульфидные связи. Его токсичность ( $DL_{50}$ ), определенная на мышках при внутримышечном введении, составила 0.08 мг/кг.

Длинные нейротоксины представлены в яде *Acanthophis antarcticus* токсином Аа-б (73 а.о.), *акантофином d* (74 а.о.) и токсином Аа-е (79 а.о.). Все три токсина содержат по 10 цистеиновых остатков и 5 дисульфидных связей, из них только *акантофин d* способен блокировать постсинаптические никотиновые рецепторы. Наконец, из яда *A. rugosus* выделен *аканмиотоксин-1*, характеризующийся высокой активностью фосфолипазы A<sub>2</sub> (153 мкМ/мин/мг), являющийся первым миотоксином яда *Acanthophis* sp.

### 19.2.5. Мулга (*Pseudechis australis*)

*Pseudechis australis*, коричневый король, или мулга – вид, распространенный практически по всей территории Австралии (рис. 19.15). Мулгу можно встретить во всех штатах, за исключением Виктории и Тасмании. Местами обитания являются светлые леса, луга, пастбища, пустыни. Они не встречаются в тропических лесах. Длина их до 3 м. Живородящие. Имеют коричневую окраску. Голова переходит в широкую шею, чем отличается от большинства ядовитых змей, у которых обычно выступающие ядовитые железы позади головы резко отделяют голову от узкой шеи. При возбуждении шея мулги сплющивается и расширяется, подобно кобрам, однако капюшона не образует. Питаются мелкими ящерицами, змеями (в том числе и ядовитыми), различными земноводными и крупными насекомыми, а также птицами и млекопитающими. Это одна из самых ядовитых из сухопутных змей. За один укус средняя змея может выделить 150 мг (по другим данным 600 мг) яда. Укусы этих крупных змей представляют реальную угрозу для жизни человека. Доля смертельных исходов после укуса очень велика.



Рис. 19.15. *Pseudechis australis*: А – внешний вид, Б – ареал (Wikipedia Commons)

Отравление людей ядом *Pseudechis australis* сопровождается обширными повреждениями скелетной мускулатуры и некрозом миокарда. Экспериментальное изучение яда мулги показало, что активным началом служит миотоксический полипептид (122 аминокислотных остатка,  $M_r \sim 13484$ ) – *мулготоксин*. Токсичность ( $DL_{50}$ ) мулготоксина составила 0.20 мг/кг против 0.55 мг/кг для целого яда. У экспериментальных животных высокие дозы мулготоксина вызывали паралич, дыхательную недостаточность, миоглобинурию. У наркотизированных крыс мулготоксин в дозах 0.2–1 мг/кг угнетал нервно-мышечную передачу и вызывал массивные повреждения мышечных волокон. Отмечено также снижение АД и урежение сердечного ритма.

Однако блокирование нервно-мышечной передачи может быть связано и с действием короткого нейротоксина, выделенного из яда мулги.

Токсин, названный «*токсин Ра-а*», имеет  $M_r$  7100, состоит из 62 аминокислотных остатков, включая 9 остатков цистеина (рис. 19.16). Токсичность «*токсина Ра-а*» составила 76 мкг/кг для мышей при внутривенном введении.

MTCCNQSSQPKTTTICAGGESSCYKKTWSDHRGSRTERGCGCPHVKPGIKLTCCKTDECCNN

Рис. 19.16. Короткий нейротоксин «токсин Ра а» из яда *Pseudechis australis*

Присутствие остатка цистеина (С) в позиции 4 и остатка глутаминовой кислоты (Е) в позиции 59 является характерным для нейротоксинов австралийских элапид и настоящих морских змей и свидетельствует об их тесной филогенетической связи. Таким образом, первичная структура «токсин Ра а» подтверждает это положение и согласуется с предложением о включении австралийских элапид в подсемейство Hydrophiinae (морские змеи) на основе морфологических данных.

В яде *Pseudechis australis* содержится свыше 10 гомологичных изоэнзимов фосфолипазы А<sub>2</sub>, различающихся своей токсичностью (от 0.09 до 6.8 мкг/г) и энзиматической активностью (от 75 до 10500 ед./мг). Для четырех гомологичных изоэнзимов фосфолипазы А<sub>2</sub>, представленных одиночными цепями (Ра-1G, Ра-5, Ра-12С и Ра-15), установлено преимущественно постсинаптическое блокирующее действие на нервно-мышечную передачу, сопровождающееся непосредственным повреждающим действием на мышечные волокна.

Из яда *Pseudechis australis* выделены два сильных антибактериальных компонента, названных LAO1 и LAO2, их антибактериальное действие коррелировало с активностью оксидазы L-аминокислот и устранялось каталазой. LAO1 и LAO2 имели M<sub>r</sub> 142 и 56 кДа соответственно. Активность LAO1 и LAO2 в единицах оксидазы L-аминокислот составила 244 и 113 ед. соответственно. По сравнению с тетрациклином, LAO1 и LAO2 в отношении *Aeromonas* были эффективнее в 70 и 17.5 раз соответственно.

#### 19.2.6. Мелкоглазая новогвинейская змея (*Micropechis ikaheka*)

*Micropechis ikaheka* – микропехис (мелкоглазая новогвинейская змея) – эндемик Новой Гвинеи и прилегающих островов, единственный вид рода *Micropechis*. Крупная змея (до 2.1 м) (рис. 19.17). Характерны маленькие глаза. Как и большинство элапид – яйцекладущая. На диалекте западных папуасов «ikaheka» означает «земляной угорь», что связано с предпочтением этой змеей влажных и полуводных местообитаний (болот, ручьев). Часто можно встретить в кучах растительного мусора, например отходов при получении пальмового масла, а также при сборе кокосов, бобов какао и других, что провоцирует укусы людей. Охотится на мелких позвоночных (ящериц, сцинков, мелких и др.), характерен каннибализм. Первый доказанный случай укуса *Micropechis ikaheka* датируется 1958 г. С тех пор считается, что на долю микропехис приходится до 40% всех случаев отравлений змеиными ядами на о. Каркар и не менее 10% – на Новой Гвинее. Симптомы отравления включают местную мышечную боль, боли в животе, рвоту, головокружение, лихорадку, гипотензию, спонтанные кровотечения, неврологические и миотоксические симптомы – птоз, дизартрия, тризм. Смерть может наступить от остановки дыхания. Применение противозмеиной поливалентной сыворотки дает положительный результат.

В яде *M. ikaheka* обнаружены фосфолипазы А<sub>2</sub>, обладающие миотоксической и антикоагулянтной активностью, причём некоторые из них идентифицированы. Так, например, нарушения свертывания крови вызывает *микарин*, представляющий собой одноцепочечную Ca<sup>2+</sup>-независимую металлопротеиназу. Кроме того, из яда выделены

короткие и длинные постсинаптические нейротоксины с  $M_r$  6–8 кДа, например *микатоксин*, вызывающий нервно-мышечный паралич вследствие необратимого связывания с никотиновым ацетилхолиновым рецептором (рис. 19.18).



Рис. 19.17. Внешний вид и ареал *Micropechis ikaheka* (Wikipedia Commons)

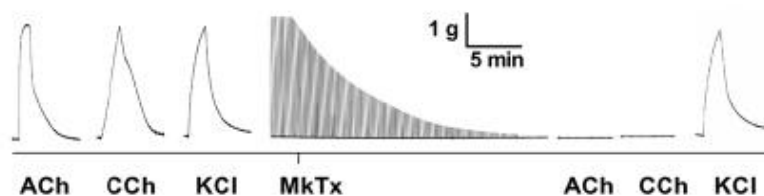


Рис. 19.18. Влияние микатоксина (MkTx, 10 мкг/мл) на сократительные ответы нервно-мышечного препарата, вызванные непрямой нервной стимуляцией, а также аппликацией экзогенных ацетилхолина (ACh, 300 мкМ), карбахола (CCh, 8 мкМ) и хлорида калия (KCl, 30 мМ) (Nirathanan et al., 2002)

Частичная N-концевая аминокислотная последовательность микатоксина оказалась на 50–70% идентичной таковой для  $\alpha$ -нейротоксинов других элапид (табл. 19.5).

В последнее время установлены полные последовательности двадцати семи ДНК, кодирующих белки яда *M. ikaheka*. Эти данные позволили идентифицировать 19 из примерно 50 белков яда, разделенных с помощью SDS-PAGE электрофореза. В протеоме яда *M. ikaheka* (рис. 19.19) доминируют 29 D49-фосфолипаз  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>) и 14 коротких нейротоксинов, относящихся к семейству трехпетельных нейротоксинов (3FTx). Белки этих классов составляют, соответственно, 80 и 9.2% от общего числа белков яда.

Таблица 19.5

Сравнение частичных N-концевых аминокислотных последовательностей микатоксина и  $\alpha$ -нейротоксинов элапид (Nirthanan et al., 2002)

Токсин	Вид	N-концевая аминокислотная последовательность	% совпадения
Микатоксин	<i>Micropechis ikaheka</i>	D I C L S T P D V K S K T C P P G	
Псевдонаятоксин-b	<i>Pseudonaja textilis</i>	R T C F I T P D V K S K P C P P G	71
Нейротоксин-а	<i>Ophiophagus hannah</i>	T K C Y V T P D V K S E T C P A G	65
Нейротоксин CM-9	<i>Ophiophagus hannah</i>	T K C Y V T P D V K S E T C P A G	65
Нейротоксин 3.9.4	<i>Naja melanoleuca</i>	K R C Y R T P N L K S Q T C P P G	59
Токсин-альфа	<i>Naja nivea</i>	I R C F I T P D V T S Q A C P D G	53
$\alpha$ -Кобротоксин	<i>Naja kaouthia</i>	I R C F I T P D I T S K D C P N G	53
Токсин А	<i>Naja nala</i>	I R C F I T P D I T S K D C P D G	53

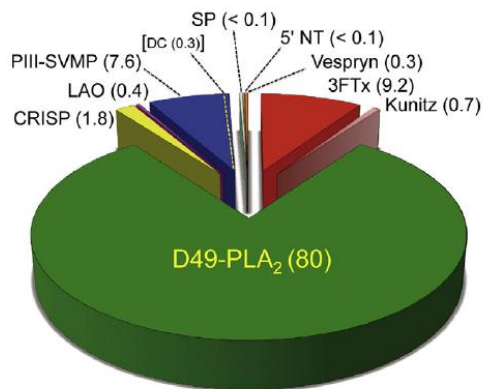


Рис. 19.19. Протеом яда *Micropechis ikaheka*. Относительная представленность компонентов яда: CRISP (cysteine-rich secretory protein) – богатые цистеином секреторные белки; LAO – оксидаза L-аминокислот; PIII-SVMP (snake venom metalloproteinase) металлопротеиназа змеиного яда класса III; vespryn – весприн, содержащий домен PRY– SPRY; DC – дизинтегрин-подобный/цистеин-богатый фрагмент PIII-SVMP; SP – сериновая протеиназа; 5'NT – 5'-нуклеотидаза; 3FTx (three-finger toxin) – трехпальцевые (трехпетельные токсины); Kunitz – ингибитор серновых протеаз типа Кунитца; D49-PLA<sub>2</sub> – D49-фосфолипаза A<sub>2</sub> (Paiva et al., 2014)

Кроме того, в белковый арсенал яда *M. ikaheka* входят две металлопротеиназы (SVMP) – 7, 6%, три изоформы CRISP-белков (1.8%), а также одиночный ингибитор протеаз типа Кунитца, весприн, 5'-нуклеотидаза, сериновая протеиназа, оксидаза L-аминокислот – каждый не более 0.7%. В соответствии с клиническими наблюдениями установленный состав яда указывает на ведущую роль постсинаптических нейротоксинов в реализации стратегии поражающего действия яда. Молекулы PLA<sub>2</sub> представляют собой основной миотоксический компонент яда. Установлены DL<sub>50</sub> нейротоксинов – 0.22 мг/кг и фосфолипазы A<sub>2</sub> – 1.62 мг/кг. Выдвинуто предположение о синергичном действии этих компонентов яда, причем нейротоксины играют ведущую роль.

## ГАДЮКОВЫЕ ЗМЕИ (Viperidae)

Эта гадюка кусила его,  
И принял он смерть от коня своего.

*В. Высоцкий*



Фото М.В. Пестова

По современным представлениям семейство Viperidae (Гадюковые змеи) состоит из четырех подсемейств (рис. 20.1):

- подсемейство Crotalinae (ямкоголовые, гремучие змеи),
- подсемейство Viperinae (гадюки),
- подсемейство Azemiopinae (бирманские гадюки),
- подсемейство Causinae (жабы гадюки).



А



Б



В



Г



Д



Е

Рис. 20.1. Представители гадюковых змей: А – *Bitis gabonica*; Б – *Daboia russelli*; В – *Bothrops jararaca*; Г – *Vipera berus*; Д – *Azemiops feae*; Е – *Causus rhombeatus* (Wikipedia Commons)



Естественный ареал подсемейства *Viperinae* (гадюки) охватывает всю Африку (без Мадагаскара) и часть Евразии (рис. 20.2А). При этом считают, что центром формирования семейства явилась Центральная Африка, где встречается наибольшее количество видов, а также обитают и наиболее примитивные формы. По направлению к северу и востоку уже в самой Африке резко уменьшается видовое разнообразие гадюк. То же отмечается и в Азии по направлению к востоку, где в ряде мест Восточной Азии они вообще отсутствуют, замещаясь гремучими змеями. Ямголовые змеи распространены на юге и востоке Азии и в Северной и Южной Америке (рис. 20.2Б). Считают, что эти змеи сформировались в Азии, где сейчас встречаются представители всего двух наиболее примитивных родов (*Agkistrodon*, *Trimeresurus*), а проникнув через Берингию в Америку, достигли здесь своего расцвета.

Токсикологическую характеристику гадюковых змей в пределах подсемейств предварим их кратким биоэкологическим рассмотрением.



А



Б

Рис. 20.2. Ареалы семейства гадюковых змей (*Viperidae*): А – подсемейство *Viperinae* (Банников, Дроздов, 1969); Б – подсемейство *Crotalinae* (Дроздов, 1969)

## 20.1. БИОЭКОЛОГИЧЕСКАЯ И ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЕЙСТВА ГАДЮКОВЫЕ ЗМЕИ (Viperidae)

### 20.1.1. Подсемейство Ямкоголовые змеи (Crotalinae)

Одним из основных признаков, отличающих ямкоголовых змей от гадюк, является наличие лицевых ямок, расположенных между ноздрями и глазами, и соответствующих им углублений (ямок) в верхнечелюстной кости, за которые они и получили свое название. Отсюда и название подсемейства. Лишь в 30-е годы прошлого века было установлено, что указанные ямки являются чрезвычайно совершенными инфракрасными терморепцепторами, которые следует рассматривать как одно из важных приспособлений для охоты на теплокровных животных в темноте. Используя термолоратор, змея легко подкрадывается даже к неподвижной или спящей жертве, около которой создается температурный градиент, позволяющий змее безошибочно находить животное. Рецепторы способны воспринимать даже очень слабые изменения температуры воздуха, менее 0.1°C. Для змей грызуны и птицы имеют значительно более высокую температуру, и змея распознает их даже в полной тьме. Подобно примитивным глазам, эти ямки позволяют змее выбирать жертву и нападать на неё с большой точностью. Поскольку ямкоголовые, как и другие представители семейства гадюковых, предпочитают охоту в ночное время из засады, это качество им хорошо помогает. Ямкоголовые змеи – единственное подсемейство гадюковых, обитающее на Американском континенте.

Другая особенность нашла отражение в распространённом русском названии «гремучие змеи», которое произошло от наличия у двух североамериканских родов ямкоголовых (*Crotalus* и *Sistrurus*) погремка на конце хвоста. Этот погремок представляет собой изменённые чешуйки, образующие подвижные сегменты. Своеобразный «гремящий» звук возникает при соударении сегментов вследствие колебаний кончика хвоста. В состоянии раздражения змея слегка поднимает кончик хвоста и вибрирует им, издавая сухой треск, который бывает слышен за несколько десятков метров. Ямкоголовые – очень многосторонняя группа, её представители живут от пустынь до высоких гор (горный мексиканский гремучник *Crotalus polystictus* – эндемик плато центральной Мексики, живут на высоте до 2600 м) и влажных джунглей (*Bothrops atrox*), встречаются даже водные виды (*Agkistrodon piscivorus*). Одни виды предпочитают жить на деревьях, другие – на земле. За исключением некоторых видов, активных круглые сутки, таких как *Trimeresurus trigonocephalus*, змеи в основном ведут ночной образ жизни, предпочитая избегать ожогов дневных температур и охотиться тогда, когда их жертвы также активны. Днём они обычно скрываются под камнями или в норах грызунов. Термочувствительные ямки этих змей также помогают им в поиске более прохладных мест для отдыха. Основными животными, которыми питаются ямкоголовые, являются позвоночные, преимущественно млекопитающие. В подсемействе ямкоголовых змей 21 род с 224 видами. Систематика и филогения ямкоголовых змей тесно связаны с событиями ВАБО<sup>172</sup>, в результате которого несколько

---

<sup>172</sup> Великий межамериканский обмен, или Великий Американский Биотический Обмен (ВАБО, Great American Biotic Interchange, GABI) – палео-зоогеографическое событие, в ходе которого сухопутная и пресноводная фауна мигрировала из Северной Америки в Южную и наоборот в результате того, что с морского дна поднялся Панамский перешеек,

групп ямкоголовых гадюк начали свое распространение в обоих направлениях между Центральной и Южной Америками. Проиллюстрировать это событие можно на примере неотропического комплекса *Crotalus durissus*. Гремучие змеи рода *Crotalus* представлены более чем 30 видами, преимущественно с неоарктическим (палеоамериканским) ареалом, центром происхождения которых считают северную и центральную Мексику. Группа неотропических гремучников – единственные представители рода *Crotalus*, проникшие южнее Мексики. Эта группа занимает большой ареал, что, естественно, отразилось на их морфологическом разнообразии. Для неотропических гремучников характерны местообитания сухих сезонных формаций от Мексики до севера Аргентины, но они не встречаются во влажных лесах Центральной Америки и Амазонии. Поскольку внутри группы наблюдаются значительные морфологические вариации, это усложняет и систематику, и таксономию неотропических гремучников. Теперь их рассматривают в качестве таксономического комплекса, получившего название комплекса *Crotalus durissus*. В настоящее время благодаря анализу ДНК номинатив *C. durissus* закреплен за особями, населяющими Гайану. Это означает, что гайанский подвид, ранее известный как *C. durissus dryinas*, сейчас стал называться *C. d. durissus*. Гремучие змеи (*Crotalus*, *Sistrurus*) считаются самыми прогрессивными и специализированными среди всех ядовитых змей: ядовитый аппарат их достигает наибольшего совершенства. Как и другие представители семейства, ямкоголовые имеют пару относительно длинных полых ядовитых зубов, используемых для выделения яда. Среди них немало очень опасных для человека видов, например техасский гремучник (*Crotalus atrox*), распространенный на юго-западе США и в Северной Мексике, который занимает первое место в США по числу укусов со смертельным исходом. Очень опасны также зеленый гремучник (*C. viridis*) и каскавелла, или страшный гремучник (*C. durissus*). Следует заметить, что на мексиканской части ареала симпатрически сосуществуют несколько видов гремучников, входящих в комплекс «adamanteus – atrax»: *C. atrox*, *C. elegans* и *C. ruber*, дающих фенотипически трудноразличимые гибриды.

В Южной Америке известны ботропсы *Bothrops*, насчитывающие до 50 видов, среди которых наиболее многочисленной и широко распространенной змеей считается обыкновенная жарарака (*B. jararaca*), на долю которой падает и наибольшее количество укусов людей ядовитыми змеями. Жарарака обитает в Центральной и Южной Бразилии, где является самой массовой змеей, а также в Парагвае, Уругвае и Северной Аргентине. Населяет кустарниковые и травянистые саванны и сухие редколесья. День проводит в укрытиях, иногда выползая погреться на солнце. Активна ночью, питается различными грызунами и птицами. Жарарака представляет реальную угрозу для жизни человека. В Бразилии от 80 до 90% всех змеиных укусов приходится на её долю. Как у всех ботропсов, яд жарараки вызывает сильные отеки и некроз тканей в области укуса. Без оказания медицинской помощи смертность составляет 10–12%.

Самой крупной ядовитой змеей в Южной Америке, достигающей длины 3.6 м и массы до 5 кг, является бушмейстер, или сурукуку<sup>173</sup> (*Lachesis muta*) – единственный представитель этого рода. Спинные чешуи змеи заострены и загибаются кверху, образуя своеобразный острый панцирь (броню). Ядовитые зубы змеи

---

соединивший два континента. Пик миграции пришёлся на первую половину верхнего плиоцена, около 3 миллионов лет назад.

<sup>173</sup> На местном наречии – ананасовая (бронированная) змея, имеется в виду ее толстая кожа.

могут быть в длину 2.5 см. У некоторых особей зубы могут вырасти до 4 см. Как и большинство других ядовитых змей, бушмейстер использует яд только во время охоты. Однако змея очень пуглива и избегает обжитых людьми районов. Бушмейстер обитает в густых тропических лесах Экваториальной Америки, в северной части Южной Америки от Коста-Рики до Бразилии (включительно), а также на острове Тринидад. Популяция бушмейстера очень низка, так как змея обитает в нетронутых цивилизацией районах, но с приходом человека ареал змеи может быть уничтожен. Зафиксированы только 25 случаев укуса бушмейстером человека, из которых 5 оказались смертельными.

Из азиатских представителей наибольшую известность, пожалуй, получили куфии, или азиатские копьеголовые змеи *Trimeresurus* (более 30 видов), самая крупная из которых хабу (*T. flavoviridis*) обычно достигает 1.5 м длины, хотя встречаются экземпляры длиной свыше 2 м. В Японии основным местом обитания хабу являются острова Окинава и Амами, где их численность достигает 80–100 тысяч особей. В пище этой змеи большую долю составляют грызуны, мелкие птицы, лягушки и изредка – мелкие змеи. В среднем ежегодно фиксируется около 70 случаев укусов змеей местного населения.

В нашей фауне ямкоголовые змеи представлены только одним родом – *Agkistrodon*, который встречается на юге от Заволжья и юго-востока Азербайджана через Казахстан, Среднюю Азию и Южную Сибирь до побережья Тихого океана.

### 20.1.2. Подсемейство Гадюки (*Viperinae*)

На данный момент подсемейство насчитывает 12 родов и 66 видов. Большинство – тропические и субтропические виды, хотя один вид, гадюка обыкновенная, живёт даже за полярным кругом. У змей этого подсемейства отсутствуют термочувствительные (инфракрасные) ямки, которые есть у родственного им подсемейства ямкоголовых. Длина змей различается в пределах от 28 см (*Bitis schneideri*) до свыше 2 метров у габонской гадюки (*Bitis gabonica*). Большинство видов обитает на земле, но некоторые, такие как кустарниковые африканские гадюки, предпочитают жить на деревьях. Хотя термочувствительные ямки, характеризующие ямкоголовых, у этого подсемейства отсутствуют, у ряда видов присутствует на носу мешочек с сенсорными функциями. Этот мешочек представляет собой кожную складку между надносовыми и носовыми щитками, соединенную с глазничным отростком черепного нерва. Такой мешочек присутствует у родов *Daboia*, *Pseudocerastes* и *Causus*, но особенно хорошо развит у Африканских гадюк (*Bitis*). Эксперименты показывают, что нападения гадюк вызываются не только визуальным либо обонятельным факторами, но и тепловыми: более теплокровные животные становятся чаще жертвами нападения.

С токсикологической точки зрения наиболее изученными являются представители следующих родов.

**Род *Bitis* (Африканские гадюки).** Виды этого рода обитают в Южной и Юго-Восточной Африке (*Bitis lachesis*, *Bitis caudalis*, *Bitis gabonica* и др.). Исключение составляет шумящая гадюка (*Bitis arietans*), в ареал которой входят также северные районы континента и территория Аравийского полуострова. Африканские

гадюки встречаются в различных биотопах – от песчаных пустынь до влажных лесов. Активны в сумерках и ночью, яйцеживородящие.

**Род *Cerastes* (Рогатые гадюки).** Представители рода распространены в Северной Африке и на Ближнем Востоке. Известны *Cerastes boehmei*, *Cerastes cerastes*, *Cerastes gasperettii*, *Cerastes vipera*. Хорошо известна рогатая гадюка, или фи (*Cerastes ceraste*) длиной до 70 см, буровато-жёлтого цвета, с более или менее яркими поперечными пятнами тёмно-бурого цвета, вся окраска змеи чрезвычайно гармонирует с цветом песчаной пустыни. Рождает живых детёнышей. Ночное животное, легко приучающееся к неволе и легко переносящее голод месяцами. Питается мелкими млекопитающими и птицами. Ее отличили уже древние египтяне в своих иероглифах, из которых впоследствии произошло начертание греческого ф (фи). Другой известный представитель – гадюка Авиценны (*Cerastes vipera*). Общая длина достигает 35–50 см. Голова широкая, плоская, туловище толстое. Общая окраска песчано-бурого цвета с рядами тёмных пятен. Хвост украшен чёрными кольцами, кончик его целиком чёрный. Любит песчаные пустыни. Активна ночью. Питается мелкими ящерицами и грызунами. Использует для защиты или при охоте передвижение «боковым ходом», «погружение» в песок и особое средство – шипение с помощью боковых чешуек тела. Обитает на севере Африки в Нигере, Мали и Мавритании. Встречается также в Израиле.

**Род *Daboia*.** Представитель – *Daboia russelii* (цепочная гадюка, гадюка Расселла, или дабойя) – составляет монотипичный род *Daboia*. Самая распространённая ядовитая змея Южной Азии, укусы которой опасны для человека; более половины зарегистрированных там змеиных укусов приходится именно на этот вид. В Индии входит в так называемую «большую четвёрку» ядовитых змей, которые чаще всего кусают людей. Видовой эпитет вид получил в честь шотландского герпетолога Патрика Расселла (Patrick Russell), фамилия которого при описании вида была ошибочно записана с одной «l». Максимальная длина цепочной гадюки 166 см, в среднем около 120 см в материковой части ареала, на островах меньше. В составе вида *Daboia russelii* выделяют от 2 до 5 подвидов.

**Род *Echis* (Эфы).** Опасные для человека ядовитые змеи, яд которых является одним из самых токсичных в семействе и обладает резко выраженным гемолитическим эффектом действия. Виды этого рода распространены в северной части Африки, а также на юге Азии до Индии на востоке. На территории бывшего СССР, в Туркмении, Узбекистане и Таджикистане, распространён один вид этого рода – песчаная эфа (*Echis carinatus*), представленный в этом регионе подвидом среднеазиатская эфа (*Echis carinatus multisquamatus*), который иногда рассматривают в качестве самостоятельного вида. Длина до 90 см. Голова резко ограничена от шеи и покрыта мелкой чешуёй, имеются межносовые щитки, глаза с вертикальными зрачками. Спина покрыта чешуей имеет резко выраженные рёбрышки.

**Род *Macrovipera* (Гигантские гадюки).** Представители рода населяют пустыни, полупустыни и степи Северной Африки, Ближнего и Среднего Востока, а также Кипр и острова Киклады. Имеют репутацию змей с агрессивным характером и могут выделить большое количество яда, поэтому рассматриваются как очень опасные. Голова широкая, плоская, отделена от шеи. Спина покрыта маленькими неправильной формы чешуйками. Надглазничные щитки обрывочны и частично разделены. В составе рода выделяют 4 вида, в том числе *Macrovipera lebetina* – гюрза. Гюрза в переводе с персидского означает «булава», то есть оружие, которое имеет утолщенный конец. Это вполне оправдывает название змеи, поскольку она имеет большую широкую голову, заостряющуюся к носу, напоминая большой

наконечник. Гюрза является ядовитой змеей, относится к роду гигантских гадюк, входящих в семейство гадюковых. Среди семейства гадюковых, представителем которых является гюрза, эта змея является самой крупной из встречающихся на территории бывшего Советского Союза. Максимальная длина гюрзы достигает 1.9 метра. Гюрза замыкает десятку самых больших змей нашей планеты. Окрас и рисунок на теле змеи может быть различен в зависимости от ареала обитания. Встречается гюрза в Африке и Азии. Территория бывшего СССР, где можно встретить гюрзу – это Закавказье, Азербайджан, Дагестан и Казахстан (тут они встречаются довольно редко, поскольку в основном своем количестве были истреблены). Гюрза предпочитает выбирать для обитания горностепные, пустынные и полупустынные территории.

**Род *Vipera* (Настоящие гадюки).** Настоящие гадюки широко распространены в Северной Африке, Европе и Азии. Настоящие гадюки – змеи обычно небольшого размера. Голова отстоит отдельно от шеи и покрыта мелкими чешуйками у большинства видов, хотя у некоторых на голове присутствуют небольшие щитки. На 2011 год род *Vipera* включает 22 вида, наиболее изученные – *Vipera ammodytes*, *Vipera aspis*, *Vipera berus*, *Vipera palaestinae*, *Vipera ursinii*.

### **20.1.3. Подсемейство Бирманские гадюки (*Azemiophinae*)**

Представлено монотипическим родом *Azemiops*, в составе которого описан один вид – *Azemiops feae* (бирманская гадюка-фея, или китайская гадюка). Видовое латинское название дано в честь итальянского зоолога Леонардо Феа (*Leonardo Fea*). Длина до 78 см, на голове расположены крупные щитки, как у Ужеобразных. Окраска тела сверху оливково-коричневая, снизу – кремовая, на боках поперечные полосы жёлтого цвета, голова жёлтая или тёмная. Ареал включает от юго-восточного Тибета на западе и прилегающих районов Бирмы, через китайские провинции Юньнань и Гуанси до северных районов Вьетнама на востоке.

### **20.1.4. Подсемейство Африканские жабы гадюки (*Causinae*)**

*Causinae* – монотипичное семейство, включающее один род и 6 видов гадюк, обитающих к югу от Сахары. Ученые считают жабью гадюку примитивным видом гадюк. Тело плотное, длина не больше метра, сворачивается в клубок. В отличие от большинства гадюк, у которых голова отличается от шеи и покрыта небольшой чешуей, у рода *Causus* голова лишь незначительно отличается от шеи и покрыта 9 крупными симметрично расположенными головными щитками. Кроме того, глаза имеют круглые зрачки вместо эллиптических, как у других гадюк. Ядовитые зубы жабьих гадюк довольно короткие и по строению напоминают ядовитые зубы аспидов. Края бороздки для яда не смыкаются полностью, как у остальных гадюковых, и по всей длине зуба на передней поверхности заметен неглубокий шов, под которым проходит ядопроводящий канал. Среди гадюковых африканская жаба гадюка обладает другой уникальной характеристикой. Она заключается в том, что несколько видов имеют ядовитую железу не только в височной области, но и в нижней шейной. Эти ядовитые железы расположены по обе стороны позвоночника, могут быть до 10 см в длину, длинные каналы

подключены к клямкам. Известные виды: *Causus bilineatus* – двухполосная жабыя гадюка, *Causus defilippii* – длинномордая ночная гадюка, *Causus lichtensteinii* – ночная гадюка Лихтенштейна, *Causus maculatus* – западноафриканская ночная гадюка, *Causus resimus* – зеленая ночная гадюка, *Causus rhombeatus* – обычная ночная гадюка.

## 20.2. КЛИНИКА ОТРАВЛЕНИЯ ЯДАМИ ГАДЮК И ЯМКОГОЛОВЫХ ЗМЕЙ

Механизмы поражающего действия ядов гадюк и ямкоголовых (гремучих) змей имеют целый ряд общих черт, отличающих их, в свою очередь, от действия ядов элапид и морских змей. Эти отличия обусловлены своеобразием химического состава ядов, который у гадюк и гремучников характеризуется высоким содержанием протеолитических ферментов, действующих подобно трипсину, тромбину и каллекреину. Кроме ферментов в их яде присутствуют нейротоксические компоненты, обладающие высокой активностью и в целом ряде случаев обеспечивающие летальный эффект ядов. Ниже приведены основные симптомы отравления ядом гремучих змей (табл. 20.1), свидетельствующие о сложной картине интоксикации, затрагивающей важнейшие системы организма.

Таблица 20.1

Основные симптомы отравления ядом гремучих змей (Russel, 1970)

Симптомы	Частота встречаемости, %	Симптомы	Частота встречаемости, %
Оте́к	74	Падение АД	54
Местная боль	65	Лимфоденит	40
Общая слабость	70	Гипокоагуляция	37
Нарушение пульса	60	Некрозы	27
Парестезия	63	Нарушения дыхания	40
Головокружение, об-мороки	57	Снижение уровня гемо-глобина	37
Тошнота, рвота	42	Уменьшение числа тромбоцитов	42

В отличие от ядов элапид и морских змей, тяжелое отравление, вызванное ядами гадюк и гремучников, характеризуется геморрагическим отеком и некрозом тканей в зоне инокуляции яда (рис. 20.3), в тяжелых случаях требующим ампутации. Наряду с местными симптомами поражения, при тяжелых формах на первый план выступают признаки системного отравления, при этом развитие шокового состояния при интоксикации ядами гадюк и гремучников является наиболее угрожающим патологическим процессом. Среди основных факторов, могущих привести к развитию шока при отравлении змеиными ядами, следует указать следующие: развитие сердечной недостаточности; снижение венозного возврата; нарушение структуры и функций форменных элементов крови; сгущение крови; тромбоземболии; дисбаланс электролитов; аутофармакологические реакции; угнетение функций ЦНС; снижение (увеличение) периферического сопротивления; уменьшение объема циркулирующей крови.

Присутствие в ядах токсических компонентов, обладающих как нейротропными и кардиотропными, так и энзиматическими (протеазы) свойствами, обуславливает



Рис. 20.3. Обширный некроз конечности, вызванный укусом *Bothrops asper* (Wikipedia Commons)

развитие цепи сопряженных и взаимно связанных патологических процессов, в частности геморрагий, обусловленных как повышением проницаемости сосудистой стенки, так и нарушениями в свёртывающей системе крови.

Высвобождение из тканей под действием ядов биологически активных веществ (гистамин, брадикинин и др.) и образование эндорфинов приводит к падению АД, увеличению сосудистой проницаемости, нарушению трофики тканей из-за расстройства микроциркуляции. Прямое действие ядов на ткани в сочетании с аутофармакологическими реакциями способствует развитию обширного отека в пораженной части тела, сопровождающегося обильной плазмой- и кровопотерей. Важное значение в развитии геморрагических отеков большинство исследователей придает протеолитическим компонентам ядов. Под действием геморрагических факторов яда происходит ферментативный разрыв базальной мембраны капилляров с последующим диапедезом эритроцитов, как это показано, например, для целого яда *Trimeresurus flavoviridis* и его активных компонентов. Следует подчеркнуть, что одновременно может тор-

мозиться агрегация тромбоцитов, препятствующая образованию полноценного тромба. На фоне поражения почек (гломерулонефриты) развиваются существенные сдвиги водного и электролитного баланса организма, возникают тяжелые дистрофические изменения в паренхиматозных органах. Особенно угрожающие размеры приобретают в жарком климате нарушения водно-солевого баланса. Таким образом, токсическое действие ядов гадюк и гремучников приводит к массивной не только наружной, но и внутренней (внутриклеточной) кровопотере, глубоким нарушениям свертываемости крови и тяжелому анемическому синдрому.

Определенную роль в развитии отравления играет влияние ядов на форменные элементы крови, приводящее к нарушению структурной и функциональной целостности их мембран и появлению в периферической крови патологически измененных клеток. Сгущение крови, повышение ее вязкости и уменьшение объема циркулирующей крови приводят к нарушению функций сердечно-сосудистой системы, осложняемому поражающим действием ядов на стенки кровеносных сосудов и сердечную мышцу. Показано, что при действии ядов гадюковых змей происходит перераспределение объема циркулирующей крови, изменение ее свертываемости, развитие тромбгеморрагического синдрома (ДВС-синдрома<sup>174</sup>) и нарушение микроциркуляторных процессов в жизненно важных органах. ДВС-синдром характеризуется многочисленными тромбозами, развитием ишемии в тканях и дальнейшим их некрозом, осложненным действием ряда лизирующих

<sup>174</sup> ДВС-синдром (диссеминированное внутрисосудистое свёртывание, коагулопатия потребления, тромбгеморрагический синдром) – нарушенная свёртываемость крови по причине массивного освобождения из тканей тромбопластических веществ.





Рис. 20.4. Последствия отравления, вызванные ядом гадюки Рассела (*Daboia russelii*) в Шри-Ланке: А – неврологические (двусторонний птоз верхнего века); Б – местные (некроз тканей стопы) (Ranawaka et al., 2013)

ферментов и физиологически активных веществ яда, запускающих простагландин-тромбоксановую систему: брадикинина с (увеличением проницаемости капилляров, дилатации 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.

Естественно, что тромбогеморрагический синдром, развивающийся при отравлениях ядами гадюк и гремучников, не исчерпывает всю полноту и сложность картины интоксикации, в которой следует учитывать и действие ядов на нервную, эндокринную и другие системы организма (рис. 20.4).

При отравлении ядами гадюковых и гремучих змей важное значение приобретает патогенетическая терапия, направленная на восстановление объема циркулирующей крови (в том числе переливание эритроцитарной массы), ее свертываемости и осмотического давления, купирование тромбогеморрагического синдрома, а также восстановление микроциркуляции в жизненно важных органах. С этой целью обычно рекомендуют применять гепаринотерапию с последующими массивными гемотрансфузиями, внутривенное введение альбумина и фибриногена, включение противошоковых мероприятий.

Наиболее прогрессивным и эффективным методом лечения отравлений ядами гадюк и гремучих змей является, несомненно, серотерапия. Сыворотки против этих ядов выпускаются во многих странах. Так же как и при отравлениях ядами элапид, эффективность серотерапии при поражениях ядами гадюк и гремучников существенно повышается в результате введения сыворотки в кратчайшие сроки после укуса. К сожалению, опасность развития анафилактической реакции и в этом случае не снимается, что следует учитывать при серотерапии. В качестве эффективного способа лечения геморрагий при укусах змей можно рекомендовать комбинированное применение сывороток с ингибиторами сериновых протеиназ.

Действенность такой смеси повышается при ее предварительной инкубации. Имеются сведения и об антигеморрагическом действии комплексонов (ЭДТА,  $\alpha$ -меркапто- $\beta$ -(2-фурил)-акриловой кислоты), ингибирующих металлопротеазы ядов.

Среди мер оказания первой помощи рекомендуют энергичное раннее отсасывание яда из ранки в течение 5–7 мин. Очень важно придать полную неподвижность пораженной конечности (наложение шины и др.) для уменьшения дренирования яда лимфатической системой. Наложение жгута категорически противопоказано. Самое главное – как можно быстрее доставить больного в медицинское учреждение.

Перейдем к покомпонентному рассмотрению патогенетических факторов яда гадюковых змей, среди которых ведущее значение имеют протеолитические ферменты и различные токсины.

## 20.3. ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ЯДОВ ГАДЮК И ЯМКОГОЛОВЫХ ЗМЕЙ

### 20.3.1. Общая характеристика

Поражающее действие яда гадюковых змей (геморрагическое, прокоагулянтное, антикоагулянтное, мионекротическое) во многом обусловлено действием комплекса ферментов с фосфодиэстеразной, гиалуронидазной, щелочной фосфомоноэстеразной, 5'-нуклеотидазной, аргининовых эфиров гидролазной, фосфолипазной A<sub>2</sub>, L-аминокислот оксидазной и протеазной активностью. Существует видовая и географическая специфичность в механизмах действия и составе биологически активных компонентов, присутствующих в яде гадюк, которую следует учитывать при анализе и сопоставлении результатов, полученных разными авторами (табл. 20.2).

Таблица 20.2

Геморрагическая и мионекротическая активность\* яда гадюк  
(Mebs, Langeluddeke, 1992)

Виды	Ареал	Геморрагическая активность	Мионекротическая активность
<i>Vipera aspis francisciredi</i>	Швейцария	–	###
<i>Vipera aspis hugyi</i>	Италия	##	##
<i>Vipera ammodytes ammodytes</i>	Югославия	###	–
<i>Vipera ammodytes ammodytes</i>	Болгария	###	#
<i>Vipera ammodytes meridionalis</i>	Югославия	##	#
<i>Vipera berus berus</i>	Чехословакия	##	–
<i>Vipera latasti gaditana</i>	Испания	###	–

\*«–» отсутствие эффекта в дозе 50 мкг;

«###» эффект вызван дозой 6 мкг;

«##» эффект вызван дозой 12 мкг;

«#» эффект вызван дозой 25 мкг.

Эти результаты достаточно типичны для поражающего действия яда гадюк, хотя, как уже отмечалось, существуют и видовые особенности их патофизиологических механизмов, которые целесообразно рассмотреть специально.

В настоящее время из змеиных ядов, в основном гадюковых змей, выделено и в разной степени очищено более чем 150 различных протеаз. Полный аминокислотный состав известен для около 40 протеаз, он получен либо анализом аминокислотных последовательностей, либо выведен из анализа нуклеотидной последовательности ДНК. Именно с ними связывают местное повреждение тканей, геморрагические отеки, мионекрозы, а также фибринолитическое, фибринолитическое, коагулирующее и брадикининлибераторное действие. Хотя нельзя исключить действие на систему гемостаза и других компонентов ядов (табл. 20.3).

Протеолитические ферменты змеиных ядов относятся, как правило, к сериновым протеазам и  $Zn^{2+}$ -зависимым металлопротеиназам. Нередко в одном яде содержатся компоненты с фибринолитическим (антикоагулянтным) и фибринолитическим (коагулянтным) действием или протеазы, обладающие обоими видами активности. В таком случае коагулянтное или антикоагулянтное действие яда будет зависеть от его дозы. Таким образом, протеазы ядов могут вызывать нарушение нормального процесса свертывания крови и фибринолиза, приводя к тромбозам или геморрагиям.

Таблица 20.3

**Влияние белков змеиных ядов на систему гемостаза (Sajevic et al., 2011)**

Семейство белков змеиных ядов	Мишень в системе гемостаза	Эффект
Сериновые протеазы	Тромбоциты Факторы X, VII, V, II, протеин C Плазминоген Фибриноген Фибрин(оген) Серпины	Агрегация Активация Активация Свертывание Дегградация Инактивация
Металлопротеиназы	Клетки эндотелия, базальная мембрана Тромбоциты Факторы X, II Фибрин(оген) Серпины	Геморрагия Торможение агрегации Активация Дегградация Инактивация
Фосфолипаза A <sub>2</sub>	Факторы Ха, Па, TF/VII Тромбоциты	Торможение Агрегация Торможение агрегации
Оксидаза L-аминокислот	Клетки эндотелия Тромбоциты	Геморрагия Агрегация Торможение агрегации
5'-Нуклеотидаза	Тромбоциты	Торможение агрегации
Дизинтегрины	Тромбоциты	Торможение агрегации
Лектин-подобные белки C-типа	Факторы IX, X, Па Фактор II Тромбоциты	Ингибирование Активация Агрегация Торможение агрегации
Трехпетельные токсины	Фактор VIIa Тромбоциты	Ингибирование Торможение агрегации

Исследования, проведенные в последние годы, позволили уточнить механизмы действия ряда гемокоагулирующих змеиных ядов и наметить новые пути диагностического и терапевтического их применения. Известно, что характер гемокоагулирующего действия змеиных ядов в большей степени зависит от способа исследования *in vivo* или *in vitro*, дозы яда, возраста отравленного животного или человека и, как было установлено в последнее время, возраста самой змеи. При введении в организм яд большинства гадюковых и некоторых гремухических змей оказывает двухфазное действие на свертываемость крови: вначале вызывает внутрисосудистое свертывание, а затем кровь на длительное время может терять способность к свертыванию. Таким образом, протеазы змеиных ядов действуют на разные звенья гемокоагуляционного каскада (рис. 20.5).

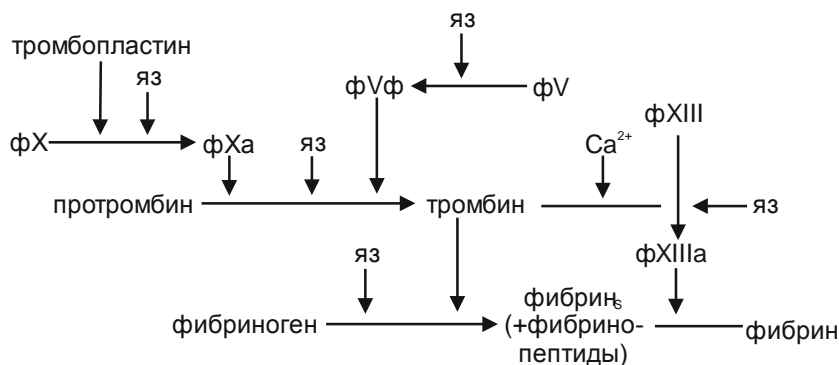


Рис. 20.5. Схема гемокоагуляционного каскада и участки воздействия ядов змей (ЯЗ) (Орлов, Гелашвили, 1985)

Все это предопределило широкое применение змеиных ядов в *гемостазиологии* – науке о гемостазе, под которым понимают совокупность функционально-морфологических и биохимических механизмов, обеспечивающих остановку кровотечения и, вместе с тем, поддерживающих кровь в жидком состоянии. Расшифровка дефектов в определенных звеньях системы свертывания крови связана со способностью ферментов змеиных ядов к специфическому воздействию на свертывающую систему, что послужило основой их применения в диагностической и лечебной практике (табл. 20.4). При помощи компонентов змеиных ядов оказалось возможным выявлять количественный дефицит ряда факторов свертывания крови, их качественную неполноценность, а в совокупности с рутинными коагуляционными тестами проводить углубленное изучение отдельных компонентов системы гемокоагуляции. Так, протеазы коагулирующего действия, содержащиеся в змеиных ядах, получили широкое применение в диагностике ряда нарушений гемостаза при определении дефицита фактора Виллебранда и протеина С. Оказались они пригодными и для диагностики тромбофилии, обусловленной резистентностью фактора V к активированному протеину С, и целого ряда других коагулопатий.

Использование ядов змей и входящих в их состав коагуляционных протеаз в расшифровке патологии свертывания крови основывается на сходстве и, вместе с тем, на существенном отличии их от естественных ферментов, участвующих в процессе свертывания крови.

Змеиные яды и препараты на их основе в лечении коагулопатий  
(Sajevic et al., 2011)

Белок/ лекарство	Источ- ник	Механизм действия	Медицинское применение
Тирофибан/ Аггратат®	<i>Echis carinatus</i>	Торможение агрегации тромбоцитов путем блокирования гликопротеиновых $\alpha_{IIb}/\beta_{3A}$ рецепторов	Острый коронарный синдром, предотвращение тромботических осложнений после чревокожных коронарных вмешательств
Эптифибатид/ Интегрилин®	<i>Sistrurus miliaris barbouri</i>	Торможение агрегации тромбоцитов путем блокирования гликопротеиновых $\alpha_{IIb}/\beta_{3A}$ рецепторов	
Батроксобин/ Дефибраза	<i>Bothrops atrox</i>	Превращение фибриногена в фибрин путем отщепления фибринопептида А	Острый инфаркт мозга, неспецифическая стенокардия, острая глухота
Гемокоагулаза®	<i>Bothrops atrox</i>	Образование сгустка	Предотвращение и лечение геморрагии

В настоящее время гемокоагулирующие фракции ядов применяются в гемостазиологии при решении следующих четырех основных задач:

1. Для расшифровки патогенетических механизмов и создания экспериментальных моделей некоторых широко распространенных видов патологии гемостаза, в частности тромбозов и ДВС-синдромов.

2. Для углубленного изучения малоизвестных механизмов функционирования и взаимодействия отдельных компонентов системы гемостаза при нарушениях конечного этапа свертывания.

3. В качестве реагентов для лабораторной диагностики нарушений гемостаза и контроля за эффективностью проводимой терапии.

4. В качестве лечебных препаратов, например дефибринирующего антитромботического действия.

Согласно локусам воздействия на систему гемостаза, все гемокоагулирующие эффекты ядов подразделяются на следующие четыре группы:

1. Активация фактора X (фактора Стюарта-Прауэра).
2. Активация фактора V (проакцелерина).
3. Активация фактора II (протромбина).
4. Активация фактора I (фибриногена).

### 20.3.2. Металлопротеиназы

В ядах змей, относящихся в основном к Crotalinae и в меньшей степени к Viperinae, обнаружены различные матричные металлопротеиназы (ММП). Свое название ММП получили за способность специфически гидролизовать основные белки межклеточного матрикса. Они играют важную роль во многих нормальных физиологических процессах, таких как эмбриональное развитие, морфогенез, репродукция и ремоделирование ткани, а также в различных патологических процессах: артритах, злокачественном росте и сердечно-сосудистых заболеваниях.

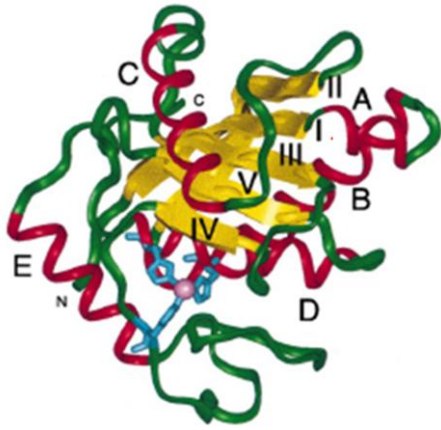


Рис. 20.6. Кристаллическая структура тримерелизина II (металлопротеиназы H<sub>2</sub>) из яда *Trimeresurus flavoviridis*, представленная в виде ленточной диаграммы. Фермент состоит из двух доменов, между которыми располагается активный сайт с ионом Zn<sup>2+</sup> и его хелатными лигандами. N-концевая область центрального ядра состоит из пяти β-тяжей (обозначены желтым) и четырех α-спиралей (обозначены красным). C-концевая область состоит из одной α-структуры и нерегулярных складчатых структур. На схеме обозначены N- и C-концы молекулы (Matsui et al., 2000)

Металлопротеиназы змеиных ядов ответственны за геморрагические эффекты, нарушения свертывания крови, активацию/инактивацию белков системы комплемента, фибрин(оген)олитическое действие, действие на активатора протромбина, проявляют про-апоптозную активность, активируют фактор X свертывания крови.

ММП змеиных ядов являются мультидоменными Zn<sup>2+</sup>-зависимыми металлопротеиназами. Структура всех ММП представлена сигнальным пептидом, необходимым для успешной секреции из клетки; пропептидным участком, при отщеплении которого ММП активируется; каталитическим доменом, имеющим координационные связи с катионом цинка каталитического центра, и шарнирным регионом (рис. 20.6). Рентгеновская кристаллография структур каталитических доменов нескольких матриксных металлопротеиназ показала, что этот домен имеет форму сплюснутой сферы размера 35×30×30 Å (3.5×3×3 нм). Активный сайт каталитического домена представляет собой канавку размером 20 Å (2 нм), простирающуюся поперек каталитического домена. В области каталитического домена, образующей активный сайт, находится важный для катализа ион Zn<sup>2+</sup>, который связан с тремя остатками гистидина. Указанные остатки содержатся в консервативной последовательности HE<sub>x</sub>H<sub>x</sub>G<sub>x</sub>H, являющейся, следовательно, цинк-связывающим мотивом. Мутация любого из этих остатков гистидина приводит к исчезновению каталитической активности.

Пролин-богатый шарнирный регион соединяет каталитический домен с гемопексин-подобным доменом, который и определяет субстратную специфичность. Хелатирование Zn<sup>2+</sup> с помощью ЭДТА или 1,10-фенетролина лишает ММП протеолитической активности. Пропептид содержит пептидную последовательность РКМСГV, получившую название «цистеиновый выключатель», поскольку содержит SH-группу, которая, связываясь с атомом Zn<sup>2+</sup> в активном центре, поддерживает молекулу ММП в форме зимогена (предшественника ММП, неактивной формы). После гидролитического удаления пропептида и освобождения Zn<sup>2+</sup>-связывающего центра происходит активация ММП. В настоящее время из змеиных ядов выделены более 100 металлопротеиназ

(включая изоформы). Для ~ 20 металлопротеиназ установлена первичная структура. Большинство металлопротеиназ змеиных ядов, как геморрагических, так и негеморрагических, являются фибрин(оген)литическими ферментами, расщепляющими преимущественно А $\alpha$ -цепь и более медленно В $\beta$ -цепь фибриногена.

Относительное содержание сериновых протеаз и металлопротеиназ в ядах змей может довольно сильно варьировать. Например, в яде обыкновенной гадюки *Vipera berus* 75% всей протеолитической активности приходится на металлопротеиназы и 25% – на сериновые протеазы. Обратное соотношение наблюдается в яде среднеазиатской гюрзы *Vipera lebetina*, где на долю металлопротеиназ приходится всего 15% тотальной протеолитической активности, тогда как сериновые протеазы обеспечивают 85% активности яда.

Из яда *Vipera ammodytes ammodytes* выделены две геморрагические металлопротеиназы VaH1 и VaH2, являющиеся мономерными гликопротеинами с молекулярной массой 70 кДа и ИЭТ рН 5.5. Обе молекулы обладали протеолитической активностью в отношении азоказина. Охарактеризованная более подробно VaH1 имела максимум активности при рН 7.5. Протеолитическая и геморрагическая активность металлопротеиназ устранялась ЭДТА. VaH1 является фибриногеназой, поскольку селективно гидролизует А $\alpha$ -цепь фибриногена. VaH1 расщепляет В-цепь инсулина преимущественно между Ala14 и Leu15. N-Концевой фрагмент VaH1 имеет высокую степень гомологии с цинк-металлопротеиназами (Leonardi et al., 2001). В этом отношении металлопротеиназа VaH1 имеет сходство с геморрагической металлопротеиназой (НМР) ранее выделенной из яда *Vipera berus berus* (Samel, Siigur, 1990). НМР представляет собой гликопротеид с  $M_r$  56.3 кДа и содержит один атом цинка на молекулу. НМР гидролизует казеин, А $\alpha$ -цепь фибриноген, расщепляет В цепь инсулина в позициях Ala14–Leu15, Tyr16–Leu17, His10–Leu11.

В яде обыкновенной гадюки *V. berus* обнаружен одноцепочечный гликопротеин (VBFXAE) с  $M_r$  38 кДа, способный активировать фактор X системы свертывания крови, но не активный в отношении синтетических субстратов, казеина, протромбина и фибриногена. VBFXAE слабо гидролизует В-цепь инсулина в положении Ala14–Leu15 и Tyr16–Leu17, этот эффект ингибируется ЭДТА, что указывает на металлопротеиназную природу активатора.

*Батропазин* – кислая металлопротеиназа из яда гремучей змеи *Bothrops jararaca*, гидролизует следующие связи в В-цепи инсулина: His5–Leu6; His10–Leu11; Ala14–Leu15; Tyr16–Leu17; Phe24–Phe25. При этом по специфичности действия батропазин резко отличается от действий протеазы А, которая также присутствует в этом яде, но является аргининэстеразой и гидролизует связь Arg22–Gly23. Между металлопротеиназами различных ядов существуют некоторые отличия. Так, например,  $\alpha$ -протеиназа из яда техасского гремучника *Crotalus atrox*, в отличие от батропазина, гидролизует пептидную связь Gly23–Phe24, а не Phe24–Phe25. Более существенные отличия найдены между батропазином и H<sub>2</sub>-протеиназой из яда хабу *Trimeresurus flavoviridis*, которая расщепляет связь Asn3–Gly4, не атакуемую батропазином, но, в свою очередь, не активна против His5–Leu6 и Tyr16–Leu17. В ядах некоторых представителей рода *Bothrops* обнаружена металлопротеиназа, вызывающая зависимую от фактора Виллебранда агглютинацию формализированных и лиофилизированных тромбоцитов, которая прямо

пропорциональна концентрации в плазме и мультимерности фактора Виллибранда. Теперь эти металлопротеиназы используются для диагностики болезни Виллибранда.

Существуют отличия также и в действии протеиназ из яда щитомордника *Agkistrodon halys blomhoffii* и батропазина. Однако и при существовании различий общим для металлопротеиназ змеиных ядов является предпочтительный гидролиз пептидных связей, содержащих аминокислоты лейцина и фенилаланина.

### 20.3.3. Сериновые протеазы

Это термолabile эндопептидазы, активные по отношению к синтетическим субстратам аргининовых эфиров. Сериновые протеазы играют важную роль в действии змеиных ядов на свертывающую систему крови, они ингибируются фосфорорганическими ингибиторами и по характеру действия близки к тромбиноподобным ферментами и кининогеназами. Такие белки, называемые тромбиноподобными ферментами (ТПФ), представлены в ядах многих змей подсемейств *Crotalinae* и *Viperinae*. Исследования, посвященные изучению влияния на коагуляцию компонентов ядов змей, позволили выделить и охарактеризовать большое число ТПФ, однако полные первичные структуры определены далеко не для всех выделенных ферментов. В основном это было сделано с применением молекулярного клонирования, причем подавляющее число сериновых протеаз, вызывающих коагулопатию, обнаружено в яде гремучих змей. Некоторые сериновые протеазы обладают как фибринолитической, так и фибриногенолитической активностью, но только фибриногенолитически активные яды называют тромбиноподобными, поскольку они проявляют фибрино-свертывающее действие. Однако тромбиноподобные сериновые протеазы змеиных ядов по своим свойствам все же отличаются от тромбина. Например оказалось, что яд гадюки Рассела, так же как тромбин и трипсин, превращает присутствующие в плазме разновидности фактора X в активную форму этого белка – фактор Xa, однако, в отличие от тромбина и трипсина, яд не активирует фактор II (протромбин), хотя гемокоагулирующий эффект яда блокируется преимущественно нефракционированным гепарином и в меньшей степени низкомолекулярными гепаринами.

Нередко эти сериновые протеазы активируют высвобождение брадикинина, действуя аналогично калликреину (или кининогеназе) и поэтому называются калликреин-подобными протеазами. Кроме того, есть сообщения о сериновых протеазах с уникальными свойствами, такими как активация фактора V, белка C, плазминогена или тромбоцитов. Это хорошо согласуется с симптомами отравления ядами этих змей – образованием микроциркуляторных и макроциркуляторных тромбозов.

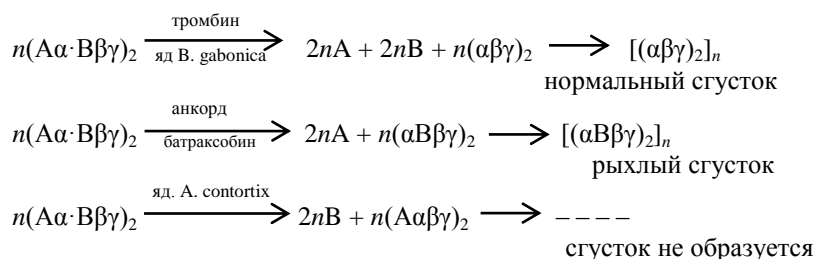
Приведем некоторые примеры. Так, тромбоцитин из яда *Bothrops atrox*, подобно тромбину, вызывает агрегацию тромбоцитов. Способность активировать протромбин, переводя его в тромбин, обнаружена у ядов змей семейств *Elapidae* и *Colubridae*, тогда как яды гадюк и гремучников, за исключением эфы, такой активности лишены.

В яде эфы многощупчатой (*Echis multisquamatus*) содержится фермент (экарин), обладающий полным прямым активирующим действием на протромбин (фактор II) с образованием мейзотромбина. Экарин применяется для лабораторного контроля за терапией антагонистами витамина K, количественного определения



фактора II и дифференциации дефицита и качественной аномалии протромбина и других факторов свертывания. Однако механизмы превращения протромбина в тромбин при физиологическом свертывании крови и действии экарина существенно отличаются. Так, активация протромбина ядом эфы не потенцируется тромбоцитами и кефалином. Вместе с тем, образующийся мейзотромбин, в отличие от обычного альфа-тромбина, не блокируется гепарином и комплексом «антитромбин III – гепарин», однако сохраняет чувствительность к антикоагулянтному действию низкомолекулярных гепаринов. Это обстоятельство позволяет использовать тест с ядом эфы (эхитоксовый тест) для оценки фонового состояния гемокоагуляционного каскада на фоне проводимой гепариновой терапии, а также для дифференциальной диагностики между гепарининдуцированной гипокоагуляцией и гипокоагуляцией, вызванной нарушениями свертывания крови при ДВС-синдроме. Одним из важных свойств яда эфы является способность свертывать не только обычный фибриноген, но и тромбинрезистентные высокомолекулярные производные фибриногена, так называемый «заблокированный» фибриноген, количество которого резко возрастает при тяжелых формах внутрисосудистого свертывания крови. При этом тест с ядом эфы наиболее достоверно и надежно, в отличие от других коагуляционных тестов, выявляет гиперкоагуляционный сдвиг при тромбозах магистральных сосудов, у больных с острым ДВС-синдромом, в том числе на фоне гепаринотерапии, а также в стадии гипокоагуляции при ДВС-синдроме, определяя истинное содержание в плазме производных фибриногена. Это делает яд эфы уникальным инструментом при лабораторной диагностике ДВС-синдрома и позволяет более полно оценивать содержание в плазме и сыворотке крови компонентов фибриногенового пула.

Как уже говорилось, тромбиноподобное действие змеиных ядов имеет свои особенности. В физиологических условиях тромбин отщепляет от  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей фибриногена по два фибринопептида А и В с образованием фибринмономера, который под действием фХIII быстро агрегирует в полимер. Из известных змеиных протеаз таким же действием обладает только протеаза из яда гадюки *Bitis gabonica*. Большинство же коагулирующих протеаз змеиных ядов отщепляют от фибриногена только 2 фибринопептида (вместо 4), что приводит к агрегации фибринмономера «бок в бок» или «конец в конец» с образованием непрочного сгустка. Превращение фибриногена в фибрин под действием тромбина и протеаз змеиных ядов можно представить следующим образом:



Тромбиноподобным действием характеризуется и яд щитомордника обыкновенного (*Agkistrodon halys halys*), в нем содержится протеаза, отщепляющая от фибриногена только фибринопептиды А и образующая тем самым рыхлый сгусток дез-АА-фибрина. В настоящее время его используют как анцистрононовый диагностикум с тромбиноподобным действием. В отличие от естественного

тромбина, коагулаза яда от каждой молекулы фибриногена отщепляет лишь пептиды А, оставляя интактными пептиды В, не активирует фактор XIII и не вызывает ретракцию кровяного сгустка, образует нестабилизированный фибрин, легко растворимый в 5М мочеvine. Яд щитомордника с успехом используется не только для расшифровки нарушений конечного этапа свертывания крови, но и в терапии тромбозов. Коагуляционный эффект яда щитомордника не блокируется нефракционированным гепарином и комплексом «антитромбин III – гепарин», но чувствителен к антикоагулянтному действию низкомолекулярных гепаринов.

К активаторам факторов X и V относится яд гюрзы обыкновенной (*Macrovipera lebetina turanica*). Установлено, что гемокоагуляционный эффект этого яда, действующего через прямую активацию фактора X, реализуется в присутствии ионов кальция, фактора V и фосфолипидного компонента тромбоцитов. На этой основе были разработаны лабораторные методы исследования системы гемостаза, в том числе способ количественного определения фактора X. Совсем недавно были обнаружены новые свойства яда гюрзы обыкновенной, коагуляционный эффект которого в значительной степени зависит от уровня ПФМ в крови. В связи с этим тест с указанным ядом (лебетоксовый тест) получил новое применение – выявление «волчаночных» антикоагулянтов (ВА), циркулирующих в крови при таком широко распространенном состоянии, как антифосфолипидный синдром (АФС).

В ядах некоторых видов змей наряду с коагулазами содержатся и компоненты, препятствующие свертыванию крови, причем механизмы этого антикоагулянтного действия различны и реализуются на разных уровнях коагуляционного каскада. Одним из этих антикоагулянтов является фосфолипаза A<sub>2</sub>, вызывающая гидролиз мембранных фосфолипидов, на которых, согласно современным представлениям, активируются и взаимодействуют факторы свертывания крови (рис. 20.7).

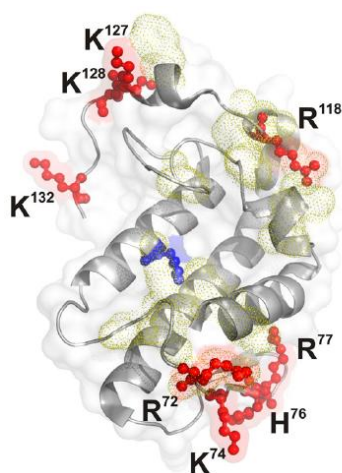


Рис. 20.7. Риббон-диаграмма молекулы аммодитоксина А (токсической фосфолипазы A<sub>2</sub>) из яда *Vipera a. ammodytes*. Показаны аминокислотные остатки, вовлеченные в антикоагуляционную активность путем высокоаффинного связывания с фактором Ха и торможения образования комплекса протромбиназы<sup>175</sup>, приводящих к нарушению свертывания крови (Sajevic et al., 2011)

<sup>175</sup> Протромбиназа – сложный комплекс, состоящий из активированных X и V факторов свертывания, формирующийся на фосфолипидной поверхности мембран тромбоцитов, в присутствии ионов кальция. Катализирует превращение фактора II из неактивной формы (протромбин) в активную (тромбин).

Найдены также и различные протеазы, обладающие фибрино- и/или фибрино-генолитическим действием. Кроме того, большинство змеиных протеаз, за исключением тромбозина (*B. atrox*), не активируют фХIII, вследствие чего образующийся сгусток не подвергается ретракции и легко лизируется плазмином. Наконец, протеазы змеиных ядов сами могут активировать плазминоген, переводя его в плазмин, либо прямо расщеплять фибрин и фибриноген, вызывая тем самым антикоагулирующий эффект.

В разные годы и по настоящее время применяются препараты «стипвен» из яда гадюки *Vipera russelli* для определения фактора X, «экарин» из яда эфы *Echis carinatus* для определения протромбина. Такие препараты, как «анкрод» («арвин») из яда щитомордника *Agkistrodon rhodostoma*, «батраксобин» («дефибраз») из яда *Bothrops moojeni*, «рептилаза» из яда *Bothrops atrox* используются для терапевтической дефибринизации при лечении тромбозов и других заболеваний. Образованные под действием этих препаратов рыхлые массы фибрина легко подвергаются фибринолизу (естественному или под влиянием фибринолитических агентов) и выводятся из организма. В результате уменьшения концентрации фибриногена в плазме снижаются свертываемость крови, ее вязкость, однако другие факторы свертывания при этом не затрагиваются. Хотя анкрод и батраксобин обладают антигенной активностью, перекрестная иммунологическая реактивность между ними отсутствует. Это обстоятельство существенно облегчает длительное применение препаратов, так как имеется возможность использовать их попеременно. Тромбозин из яда *Bothrops atrox* находит применение при тестировании функционального состояния тромбоцитов.

## 20.4. НЕЙРОТОКСИНЫ ЯДА ЯМКОГОЛОВЫХ ЗМЕЙ (*Crotalinae*)

### 20.4.1. Кротоксин

Это основной гетеродимерный токсин яда южно-американской гремучей змеи *Crotalus durissus terrificus*, являющийся сильным  $\beta$ -нейротоксином, обладающий активностью фосфолипазы  $A_2$  и блокирующий нервно-мышечную передачу на пресинаптическом уровне. Кротоксин состоит из щелочной (pI 8.6), слабо токсичной фосфолипазы  $A_2$  (кротоксина В, или субъединицы СВ), состоящей из 123 аминокислотных остатков и имеющей  $M_r$  14350 Да, которая нековалентно связана с небольшой кислотой (pI 3.4–3.7) неэнзиматической и нетоксичной субъединицей СА (или кротоксином А), имеющей  $M_r$  6450 Да. Кислая субъединица СА, в свою очередь, состоит из связанных дисульфидными мостиками трех полипептидных цепей ( $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ ), содержащих 40, 34 и 14 аминокислотных остатков соответственно. Изолированная субъединица СВ воспроизводит все фармакодинамические эффекты кротоксина, хотя и в более высоких дозах. Хотя субъединица СА не обладает ни нейротоксичностью, ни энзиматической активностью, она играет важную роль в комплексе кротоксина, увеличивая токсичность изолированной субъединицы СВ. В присутствии щелочной фосфолипазы  $A_2$  (субъединицы СВ) субъединица СА образует с ней комплекс, в котором восстанавливаются высокая токсичность и физико-химические свойства природного кротоксинового комплекса

(табл. 20.5). Поскольку при образовании комплекса токсичность фосфолипазы A<sub>2</sub> увеличивается, а ее энзиматическая активность уменьшается, субъединица СА была названа первоначально *кратопотином* – *crotapotin*: CROTALus, POTentiales, IInhibition. По современным представлениям субъединица СА предотвращает неспецифическую сорбцию субъединицы СВ, в результате чего повышается специфическое связывание нейротоксической фосфолипазы A<sub>2</sub> с рецепторными пресинаптическими участками.

Кроме того, субъединица СА является природным ингибитором каталитической и антикоагулянтной активности субъединицы СВ. Известно, что кротоксин в целом, а также субъединица СВ обуславливают проявление большинства эффектов яда, таких как нейротоксичность, локальная и системная миотоксичность, некроз скелетной мускулатуры и миоглобинурия.

Таблица 20.5

**Токсичность и энзиматическая активность отдельных компонентов кротоксина и рекомбинированного комплекса**

Компоненты	Активность фосфолипазы A <sub>2</sub> , мэкв/мин/мг	DL <sub>50</sub> , мкг/г мыши
Кротоксин В (СВ)	670 ± 30	0.54
Кротоксин А (СА)	0	10
Кротоксин СВ–СА	369 ± 20	0.09

Однако кротоксин проявляет и цитотоксическую активность против различных типов опухолевых клеток, в том числе в отношении линий клеток, экспрессирующих высокий уровень рецепторов эпидермального фактора роста<sup>176</sup>, что согласуется с его использованием в лечении карцином. Есть сообщения о противовоспалительном, иммуномодулирующем и анальгетическом эффекте кротоксина. Наконец, синтезированная γ-цепь субъединицы СА кротоксина – *краталфин* – вызывает сильный антиноцицептивный эффект при нейропатических болях<sup>177</sup>, вызванных воздействием на периферические опиоидные рецепторы. Природный кротоксин, присутствующий в яде змей, представляет собой смесь изоформ субъединиц СВ и СА, различающихся по своей фармакологической и биологической активности.

<sup>176</sup> Рецептор эпидермального фактора роста (*epidermal growth factor receptor*, EGFR, ErbB-1) – трансмембранный рецептор, связывающий внеклеточные лиганды из группы эпидермальных факторов роста. Относится к семейству рецепторов ErbB, в частности к подсемейству тирозинкиназных рецепторов (обладающих внутренней тирозинкиназной активностью). Мутации рецептора, приводящие к гиперэкспрессии или повышению активности, могут приводить к раковым заболеваниям.

<sup>177</sup> Нейропатическая боль – это вид боли, который, в отличие от обычной боли, возникает не вследствие реакции на физическое повреждение, а в результате патологического возбуждения нейронов в периферической или центральной нервной системе, отвечающих за реакцию на физическое повреждение организма (обычную боль).

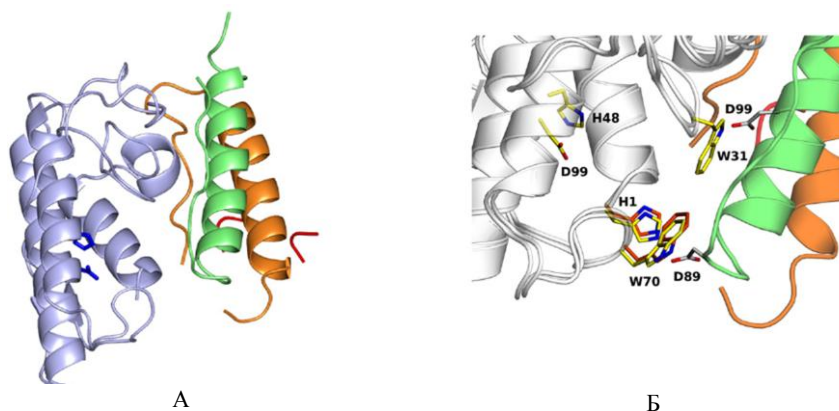


Рис. 20.8. Кристаллическая структура нековалентного гетеродимерного комплекса кротоксина, показанная в виде ленточной диаграммы (Faugre et al., 2011).

А: Субъединица СВ показана синим цветом. Соединенные дисульфидными связями полипептидные цепи  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  кислой субъединицы СА показаны оранжевым, зеленым и красным цветом соответственно. Аминокислотные остатки His48 (H48) и Asp99 (D99) каталитического центра субъединицы СВ показаны темно-синим цветом.

Б: В гетеродимерном комплексе кротоксина аминокислотные остатки Trp31 (W31) и Trp70 (W70) субъединицы СВ находятся в полярном взаимодействии с аминокислотными остатками Asp99 (D99) и Asp89 (D89) субъединицы СА соответственно. Аминокислотный остаток Trp70 (W70) боковой цепи частично блокирует доступ субстрата к каталитическому центру His48 (H48) и Asp99(D99) гетеродимера

В настоящее время рассматривают два класса кротоксиновых комплексов, различающихся между собой соотношением изоформ субъединиц СВ и СА: высокотоксичный, но энзиматически менее активный класс I, имеющий  $DL_{50}$   $93 \pm 20$  мкг/кг при внутривенном введении мышам, и класс II, менее токсичный ( $DL_{50}$   $435 \pm 65$  мкг/кг при внутривенном введении мышам), но энзиматически более активный. Более токсичные изоформы кротоксина обладают и более выраженным блокирующим действием на нервно-мышечную передачу. Эти различия в токсичности коррелируют и со стабильностью СА–СВ комплексов. Менее токсичный класс II изоформ кротоксина обладает и меньшими стабильностью ( $K_d = 25$  нМ) и скоростью диссоциации (период полураспада около 1 мин), тогда как более токсичный класс I изоформ кротоксина был более стабильным ( $K_d = 4.5$  нМ) и слабо диссоциирующим (время полураспада около 20 мин.). Таким образом, основную роль в токсичности кротоксина играет стабильность комплекса. Различия в первичной структуре изоформ субъединицы СА не влияют на токсичность кротоксина. Напротив, изменения всего нескольких аминокислотных остатков в первичной структуре изоформ СВ модифицируют энзиматическую активность и токсичность комплекса кротоксина. Показано, что остатки Trp31 и Trp70 в субъединице СВ являются критичными в установлении внутримолекулярных полярных контактов с Asp99 и Asp89, соответственно в  $\beta$ -цепи субъединицы СА и обеспечении стабильности и токсичности комплекса кротоксина класса I. Это взаимодействие также ведет к уменьшению фосфолипазной  $A_2$  активности (рис. 20.8).

Установлено, что кротоксиновый комплекс должен диссоциировать для проявления нейротоксичности. Кротоксиновый комплекс связывается со специфици-

ческим рецепторным белком 48-кДа, локализованным на пресинаптической мембране, формируя переходный третичный комплекс СА–СВ–R48, с последующей диссоциацией СА–СВ комплекса путем высвобождения субъединицы СА. Таким образом, со специфическим кротоксиновым рецептором остается связанной только субъединица СВ. Эта диссоциация обуславливает токсичность кротоксина, поскольку ковалентная связь между двумя субъединицами устранила бы ее токсичность. Таким образом, субъединицы СА и СВ кротоксина действуют синергично. В случае более токсичного кротоксинового комплекса нетоксичная субъединица СА повышает токсичность субъединицы СВ и уменьшает ее энзиматическую антикоагулянтную активность. Субъединица СА играет следующую роль:

1) Участвует вместе с субъединицей СВ в связывании кротоксина с рецепторным белком в синапсе, формируя переходный третичный комплекс, с последующим высвобождением субъединицы СА.

2) Предотвращает образование СВ-димеров реактивными субъединицами.

3) Уменьшает адсорбцию субъединицы СВ на фосфолипидах мембран.

Кротоксин обладает более сложным действием на нервно-мышечную передачу, чем пресинаптические токсины элапид. Наряду с характерным трехфазным действием на высвобождение медиатора из нервной терминали, кротоксин способен блокировать мышечное сокращение и при прямом раздражении. Под влиянием кротоксина снижается чувствительность концевой пластинки к экзогенному ацетилхолину, одновременно падает возбудимость мышечных мембран в ответ на прямое раздражение, однако этот эффект не сопровождается изменением мембранного потенциала.

#### 20.4.2. Гироксин и кротамин

Кроме кротоксина, в яде *Crotalus terrificus* содержатся еще два токсических компонента – *гироксин* и *кротамин*. Гироксин (молекулярная масса ~33000 Да) лишен энзиматической активности и вызывает поражение вестибулярного аппарата (лабиринтов). Кротамин – полипептид, состоящий из 42 аминокислотных остатков, его молекулярная масса ~4880 Да. По своим фармакологическим свойствам кротамин отличается от кротоксина. Действие кротамина характеризуется возникновением клонических судорог, которые после кратковременной смены параличом вновь возобновляются и могут длиться у мыши до 24 ч. Кротамин вызывает стойкую деполяризацию мышечных мембран, блокируемую ТТХ. Вытеснение  $Ca^{2+}$  из мышечных мембран также может служить одной из причин развития судорожного состояния при действии кротамина.

#### 20.4.3. Мохаветоксин

Субъединичный пресинаптический токсин – *мохаветоксин* – содержится в яде гремучей змеи *Crotalus scutulatus scutulatus*. Мохаветоксин – гетеродимер,  $M_r$  24300 кДа, состоит из нековалентно связанных кислой (Mta) и щелочной (Mtb) субъединиц. Мохаветоксин составляет 10% белка яда *Crotalus scutulatus scutulatus*. Субъединица Mta (pI 3.6) является нетоксичной и лишена энзиматической активности. Субъединица Mtb (pI 9.6) обладает активностью фосфолипазы

A<sub>2</sub> и ее DL<sub>50</sub> равна 0.58 мг/кг, что меньше токсичности нативного мохаветоксина (~0.03 мг/кг). Так же как и компоненты кротоксина, субъединицы мохаветоксина рекомбинируют с сохранением исходной токсичности. Интересно, что существует значительная разница в токсичности яда *Crotalus s. scutulatus*, обитающих в США в штатах Калифорния, Юта, Невада и на юго-западе штата Аризона, от яда змей этого же вида, но обитающих между городами Тусон и Феникс (Аризона). По морфологическим признакам эти змеи не различаются. Между тем у первых DL<sub>50</sub> яда составляет 0.25 мг/кг и в картине отравления преобладают нейрологические симптомы (яд типа А), тогда как у вторых DL<sub>50</sub> яда 3.3 мг/кг и поражение характеризуется преимущественно местными симптомами (отеки, некрозы и т. д.) – тип В. Эти различия хорошо коррелируют с высокой протеолитической активностью яда типа В и ее практически полным отсутствием в яде типа А, кроме того, мохаветоксин присутствует только в последнем. Важность этих фактов для выбора правильной тактики лечения укусов казалось бы одним и тем же видом змей не подлежит сомнению. Кроме того, в яде центрально-аризонской популяции *Crotalus s. scutulatus* были обнаружены полипептидные дизинтегрины *скутустатин* и *мохавестатин*, (рис. 20.9), в составе которых имеется характерная RGD-последовательность (трипептид аргинин-глицин-аспарагиновая кислота, или аргинилглициласпарагиновая кислота), которая является распространённым элементом белок-белкового взаимодействия клеточных белков и распознается интегринными<sup>178</sup>.

<i>Скутустатин</i>	NPCCDA ATCKLR PGAQCA EGLCCD QCRFIK KGKICR RARGD
<i>Мохавестатин</i>	NPCCDA ATCKLI HSWVEQ SGECC E QCRFIK KGKICR RARGD

Рис. 20.9. Частичные аминокислотные последовательности дизинтегринов из яда *Crotalus s. scutulatus* (Sranchez et al., 2005)

Токсическое действие дизинтегринов змеиных ядов объясняется их способностью блокировать свёртывание крови из-за ингибирования агрегации тромбоцитов. Это, в свою очередь, объясняется антиадгезивными свойствами пептидов, которые связываются с интегринными на поверхности клеток и блокируют их функции. Образцы ядов, содержавшие мохаветоксин, были более токсичными, но лишёнными протеолитической, геморрагической и дизинтегрирующей активности. Напротив, образцы ядов, обладающих этими видами активности, не содержали мохаветоксина. Таким образом, геморрагическая и дизинтегрирующая активность яда тесно связаны.

Нейротоксические полипептиды имеются и в ядах других гремучих змей, например *Crotalus h. horridus*, *C. adamanteus*.

#### 20.4.5. Ваглерины

В яде *Trimeresurus wagleri* (Таиланд, Филиппины) содержатся токсические пептиды – *ваглерины*. Выделенные вначале ваглерины I и II представляли со-

<sup>178</sup> Интегрины – это трансмембранные гетеродимерные клеточные рецепторы, взаимодействующие с внеклеточным матриксом и передающие различные межклеточные сигналы. От них зависит форма клетки, её подвижность, они участвуют в регулировке клеточного цикла. Структурно интегринные рецепторы представляют собой облигатные гетеродимеры – каждый состоит из одной альфа- и одной бета-субъединицы.

бой щелочные термостабильные полипептиды состоящие из 22 аминокислотных остатков, и отличались друг от друга заменой Tyr10 (Y) у ваглерины II на His10 (H) у ваглерины I. Токсичность ваглеринов I и II составила, соответственно, 0.37 и 0.59 мг/кг при внутрибрюшинном введении мышам. Затем из этого яда были получены два новых токсичных полипептида – ваглерины SL-I и SL-II, которые отличались от предшественников наличием двух аминокислотных остатков Ser–Leu (SL) на N-конце цепочки (рис. 20.10).

Waglerin I	GGKPDLRPC <b>H</b> PPCHYIPRPKPR
Waglerin II	GGKPDLRPC <b>Y</b> PPCHYIPRPKPR
Waglerin SL-I	<b>SL</b> GGKPDLRPC <b>H</b> PPCHYIPRPKPR
Waglerin SL-II	<b>SL</b> GGKPDLRPC <b>Y</b> PPCHYIPRPKPR

Рис. 20.10. Ваглерины из яда *Trimeresurus wagleri*

Симптомология отравления ваглеринами характеризовалась быстрым наступлением тахипноэ, тремором, экзофтальмом, миоклоническими судорогами с последующей прострацией и смертью. Были получены синтетические аналоги ваглеринов I и II, имеющие характеристики, идентичные нативным токсинам. Однако синтетический ваглерин SL-I был более токсичен (0.22 мг/кг). Имеются данные, что ваглерины являются селективными блокаторами Ах-рецепторов мышечного типа.

## 20.5. НЕЙРОТОКСИНЫ ЯДА ГАДЮК (*Viperinae*)

Нейротоксические компоненты яда гадюк представлены токсическими фосфолипазами, CRISP-Vs белками и трехпетельными нейротоксинами.<sup>179</sup>

### 20.5.1. Токсические фосфолипазы яда гадюк

Из яда гадюк выделено несколько семейств токсических полипептидов, в том числе обладающих фосфолипазной активностью. Фософолипазы А<sub>2</sub> (ФА2) змеиных ядов являются низкомолекулярными энзимами (13–15 кДа) и классифицируются на две группы. Группа 1 содержит ФА2 ядов элапид и морских змей (протероглифоидные змеи), тогда как группа 2 включает ФА2 ядов гадюк и гремучников (соленоглифоидные змеи). Известна первичная структура приблизительно 724 энзимов, входящих в группу 2, причем ФА2 гадюк изучены менее подробно, чем гремучников. Для небольшого числа ФА2 гадюк известны их гены. Все гены, кодирующие ФА2 гадюк, состоят из 5 экзонов и 4 интронов. Полагают, что ФА2 гадюк являются результатом дубликации генов. Фосфолипазы А<sub>2</sub> яда гадюк могут быть представлены в форме мономеров и гетеродимеров. В Европе наиболее распространены три вида гадюк: *Vipera aspis*, *Vipera berus* и *Vipera ammodytes*. Их яд вызывает местные симптомы (боль, отек, инфильтраты роговицы – фликтены),

<sup>179</sup> Имеются сведения о присутствии в ядах гадюки *Vipera nikolskii* и кобры *Walterinnesia aegyptia* блокаторов калиевых каналов Kv1.



которые сопровождаются системными эффектами (желудочно-кишечными расстройствами, гипотензией). Кроме того, могут наблюдаться неврологические симптомы (расстройства зрения – диплопия, параличи), которые вызываются ядами *V. ammodytes* или *V. aspis zinnikeri*.

Патофизиологические механизмы действия яда гадюк во многом определяются особенностями их химического состава. Так, яды *V. aspis aspis* и *V. berus berus* подобны в своей активности и содержат белки, вызывающие нарушения гемостаза, гемодинамики и местную реакцию: дозозависимое местное повреждение тканей, включая отек, геморрагию и мионекроз (рис. 20.11).

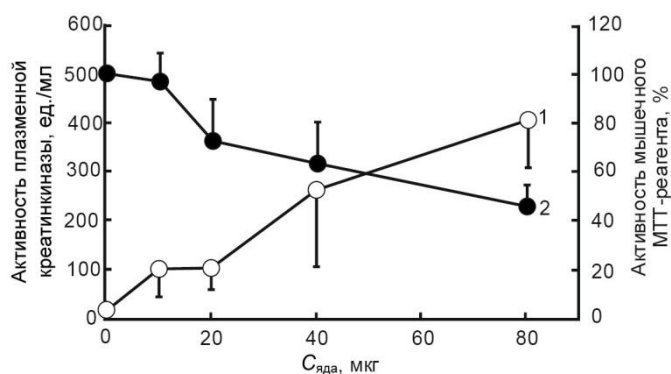


Рис. 20.11. Дозозависимая миотоксическая активность яда *Vipera berus* при введении в икроножную мышцу мыши: 1 – увеличение активности плазменной креатинкиназы; 2 – снижение активности МТТ-реактента<sup>180</sup> (Calderon et al., 1993)

В свою очередь, яд *Vipera ammodytes* отличается от яда *V. aspis aspis* и *V. berus berus* наличием токсической фосфолипазы А<sub>2</sub>, которая может быть представлена как в мономерной, так в гетеромерной форме. Мономерная фосфолипаза А<sub>2</sub> присутствует и в яде *V. ammodytes ammodytes*: она состоит из трех изоформ, названных *аммодитоксинами* А, В и С, которые блокируют высвобождение ацетилхолина в нервно-мышечном синапсе. Примером гетеродимерной фосфолипазы А<sub>2</sub> служит *виноксин* из яда *V. ammodytes meridionalis* (Boulenger, 1903), являющийся постсинаптическим нейротоксином. Он состоит из пресинаптического нейротоксического щелочного белка с активностью фосфолипазы А<sub>2</sub> и нетоксического, неэнзиматического кислого белка, защищающего щелочную субъединицу от деградации и модифицирующего ее фармакологическую активность. Подобные гетеродимерные нейротоксины были найдены в ядах *V. aspis zinnikeri* (*ваксин*) и *Vipera nikolskii*.

Прежде чем обобщить имеющиеся сведения о токсических фосфолипазах яда гадюк, целесообразно кратко их охарактеризовать.

*Каудоксин* – нейротоксический полипептид из яда южноафриканской гадюки *Bitis caudalis*. Его молекулярная масса 13331 Да, состоит из 121 аминокислотного остатка и содержит 7 дисульфидных связей. Каудоксин обладает фосфолипазой

<sup>180</sup> МТТ-тест – используется для оценки цитотоксичности соединений в эксперименте и основан на способности дегидрогеназ живых клеток восстанавливать неокрашенные формы 3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтеразола (МТТ-реактента) до голубого кристаллического фармазана, растворимого в диметилсульфоксиде.

активностью, его  $DL_{50}$  – 0.18 мг/кг. По своему фармакологическому действию это пресинаптический токсин, блокирующий высвобождение ацетилхолина из двигательных нервных окончаний. При низком содержании  $Ca^{2+}$  в растворе действие каудоксина характеризуется трехфазностью, типичной для пресинаптических токсинов. Однако, в отличие от них, каудоксин обладает сравнительно низким миотоксическим действием. Каудоксин кальций-зависимым образом стимулирует высвобождение из синапсом лактатдегидрогеназы, но блокирует обратный захват дофамина синапсосомами в безкальциевой среде.

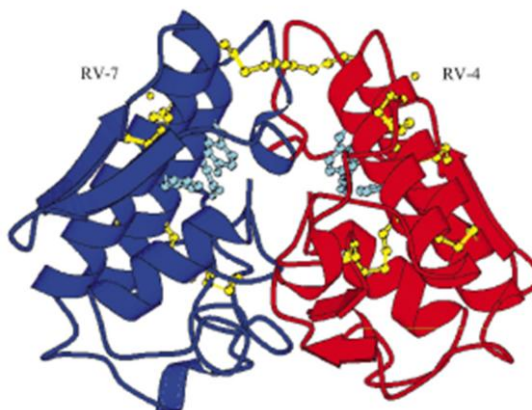
*Битанарин* – постсинаптический полипептид, выделенный из яда *Bitis arietans*, блокирует никотиновые холинорецепторы (нХР) в идентифицированных нейронах моллюска *Lymnaea stagnalis* ( $IC_{50}$  11.4 мкМ) и конкурирует с  $\alpha$ -бунгаротоксином за связывание с нХР мышечного и  $\alpha 7$  типов ( $IC_{50}$  4.3 и 20 мкМ соответственно), а также с ацетилхолин-связывающим белком (АХСБ). Молекулярная масса битанарина составляет 27.4 кДа, в нем имеется 28 остатков цистеина, образующих 14 дисульфидных мостиков. Структура (молекулярная масса, количество дисульфидных связей, частичная аминокислотная последовательность) и высокая  $Ca^{2+}$ -зависимая фосфолипазная активность (1.95 ммол/мин/мкмоль) позволяют предположить, что битанарин является новой формой фосфолипазы  $A_2$ . Это первый известный белок, обладающий как фосфолипазной активностью, так и сродством к нХР. Классические фосфолипазы  $A_2$  из ядов трех видов змей (*Vipera ursinii*, *Bungarus fasciatus* и *Naja kaouthia*) также проявили слабую способность взаимодействовать с нХР.

*Аммодитоксины* (Atxs) А, В и С – группа пресинаптических нейротоксинов с активностью фосфолипазы  $A_2$ , выделены из яда *Vipera ammodytes ammodytes*. Аммодитоксины обладают высокой степенью структурной гомологии, но отличаются по биологической активности. Так, наиболее токсичным является AtxA –  $DL_{50}$  21 мкг/г для мышей при внутрибрюшинном введении, тогда как для AtxB и AtxC токсичность составляла, соответственно, 580 и 360 мкг/г. Установлено, что различия в токсичности обусловлены наличием Trn-115 и Pe-116 в молекуле AtxA.

*Випоксин* (вайпоксин) – двухкомпонентный гетеродимерный нейротоксин. Он выделен из яда носатой гадюки *Vipera ammodytes*. Випоксин состоит из нетоксического кислого белка и щелочной фосфолипазы  $A_2$ , обладающей пресинаптическим действием. Эти два компонента випоксина обладают высокой степенью гомологии (62%). Нейротоксическая фосфолипаза  $A_2$  состоит из 122 аминокислотных остатков и стабилизирована 7 дисульфидными мостиками. Сам випоксин пресинаптическим действием не обладает, а проявляет постсинаптическую блокирующую активность. Содержание випоксина в целом яде достигает 16%, а его высокая токсичность (0.4 мг/кг) свидетельствует, что это основной летальный компонент яда.

*Васпин* – также гетеродимерный нейротоксин, выделенный из яда *Vipera aspis aspis*. Васпин подобен трем известным нейротоксическим комплексам из яда гадюк: постсинаптической фосфолипазе  $A_2$ -I (PLA<sub>2</sub>-I) из яда *Vipera aspis zinnikeri*, випоксину из яда *Vipera ammodytes meridionalis* и пресинаптическому комплексу RV4/RV7 из яда *Daboia russelli siamensis*. Субъединица А васпина является ингибиторной, а субъединица В обладает фосфолипазной активностью. Ингибиторная субъединица стабилизирует нестабильную энзиматическую субъединицу благодаря гидрофобным и электростатическим взаимодействиям и водородным связям. Полагают, что васпин, действующий постсинаптически, ответственен за неврологические симптомы при отравлении ядом *Vipera aspis aspis*. Кроме того, в яде *Vipera aspis aspis* присутствует мономерный нейротоксин, идентичный аммоди-

Рис. 20.12. Ленточная диаграмма вперотоксина F из яда *Vipera russelli formosensis*. Токсическая субъединица RV-4 окрашена красным, нетоксическая субъединица RV-7 – синим, дисульфидные мостики – желтым, активные аминокислотные остатки – голубым (Perbandt et al., 2003)



токсину В из яда *Vipera ammodytes ammodytes*. Авторы полагают, что полученные результаты свидетельствуют о появлении новой географической расы *Vipera aspis aspis*, у которой экспрессируются гены, отвечающие как за мономерные, так и гетеромерные нейротоксины. Ген аммотоксина В мог быть приобретен в результате интербридинга *Vipera ammodytes ammodytes* и *Vipera aspis aspis*. Васпин мог появиться в результате экспрессии существовавших ранее у *Vipera aspis aspis* генов, до разделения «aspis» и «ammodytes».

**Вперотоксин** – полипептид, выделен из яда палестинской гадюки *Vipera palaestinae*, состоит из 108 аминокислотных остатков (молекулярная масса 11600), вызывает гемодинамические расстройства, приводящие к летальному исходу.

**Вперотоксин F** – двухкомпонентный пресинаптический нейротоксин, выделен из яда тайваньской гадюки *Vipera russelli formosensis*. Вперотоксин F – гетеродимер, состоящий из двух высокомолекулярных (65%) субъединиц: щелочной нейротоксической фосфолипазы A<sub>2</sub> (RV-4) и кислого нетоксичного компонента (также фосфолипазы A<sub>2</sub>), имеющего в 100 раз более низкий уровень энзиматической активности (RV-7) (рис. 20.12).

Мишенью действия вперотоксина F являются пресинаптические окончания нервно-мышечного синапса. Нетоксическая фосфолипаза играет важную роль в фармакологическом действии вперотоксина F, усиливая блокирующее действие RV-4.

**Дабоятоксин** является пресинаптической щелочной токсической PLA<sub>2</sub> из яда бирманской гадюки *Daboia russelli siamensis*, обладает сильным нейротоксическим, миотоксическим и цитотоксическим действием. Он также вызывает отеки и обладает непрямым гемолитическим действием, но лишен геморрагического действия. Укусы гадюки Рассела (*Vipera russelli*, известной также как *Daboia russelli*) являются основной причиной фатальных змеиных укусов в Юго-Восточной Азии, вызывая более 1000 смертельных исходов ежегодно. Клинические исследования показали географические вариации в составе яда и симптомологии картины отравления. Известны пять подвидов *Daboia russelli*: *D. russelli russelli* (индийская гадюка), *D. russelli pulchella* (шри-ланкийская гадюка), *D. russelli siamensis* (тайландская и бирманская гадюка), *D. russelli formosensis* (тайваньская гадюка) и *D. russelli limitis* (индонезийская гадюка). Первичная структура некоторых изоформ PLA<sub>2</sub>, присутствующих в ядах *Daboia russelli* (VRVs или DRVs), установлена.

Известны различные токсичные фосфолипазы  $A_2$  (VRV PL-V, VRV PL-VI, VRV PL-VIIIа и дабоятоксин) с молекулярной массой от 10 до 16 кДа, выделенные из DRVс. Они обладают различным фармакологическим и патофизиологическим действием, включая нейротоксическое, гемолитическое, кардиотоксические и гипотензивное. Дабоятоксин является гетеродимером и состоит из фосфолипазных цепей (DbTx-A и DbTx-B) (рис. 20.13А). Цепь DbTx-A эквивалентна нетоксической кислот субъединице вперотоксина RV-7, а цепь DbTx-B – нейротоксической фосфолипазе  $A_2$  (RV-4).

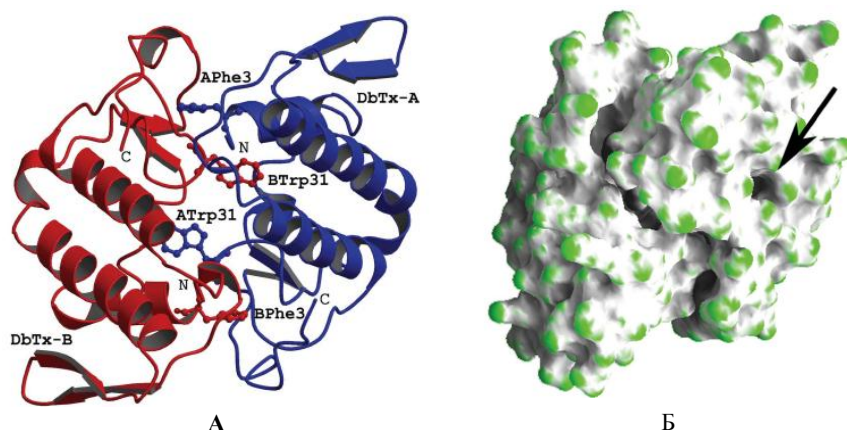


Рис. 20.13. Трехмерная структура и активные участки дабоятоксинов: А – ленточная диаграмма димера гетеродимерной  $PLA_2$  (DbTx-A и DbTx-B). Остатки Phe3 и Trp31 образуют гидрофобный туннель, обеспечивающий взаимодействие с молекулами субстрата; Б – молекулярная поверхность и электростатический потенциал субъединицы DbTx-A, стрелкой показан вход в гидрофобный туннель (Gopalan et al., 2007)

В настоящее время различают два основных типа ядов *Daboia russelli* (DRVs). Первый – N-тип, включает яды *D. russelli formosensis*, *D. russelli siamensis* и *D. russelli russelli*, у которых N-терминальный конец  $PLA_2$  представлен остатком аспарагина<sup>181</sup>. Второй – S-тип, включает яд *D. russelli pulchella*, фосфолипаза  $A_2$  которого имеет N-терминальный серин (S). На рис. 20.14 представлена первичная структура DbTx из яда *D. russelli siamensis*, вперотоксина F из яда *D. russelli formosensis* и випоксина из ядов *V. ammodytes meridionalis* и *V. ammodytes ammodytes* (Gopalan et al., 2007).

*Фосфолипаза  $A_2$  яда Vipera b. berus*. Из яда обыкновенной гадюки *Vipera berus berus* была выделена и очищена щелочная фосфолипаза  $A_2$ , представляющая собой одиночную полипептидную цепь, состоящую из 122 аминокислотных остатков и стабилизированную 7 дисульфидными мостиками. Для полученного фермента характерны высококонсервативные элементы: His48, Asp99, Tyr28, Gly30 и 32, Asp49 и 14 остатков цистеина, присутствующие в фосфолипазах  $A_2$  других ядов. Установлена высокая степень гомологии первичной структуры фосфолипазы  $A_2$  из яда *Vipera berus berus* с другими токсичными фосфолипазами: випоксином (69.7%), каудоксином (60.6%), аммодитоксинами (свыше 57%).

<sup>181</sup> Обозначается буквой N в однобуквенном коде аминокислот.



Фосфолипаза  $A_2$  яда *Vipera nikolskii*. В яде *Vipera nikolskii* содержатся одновременно две гетеродимерные фосфолипазы  $A_2$  (HDP-1 и HDP-2), что впервые обнаружено в яде гадюк. Каждая фосфолипаза  $A_2$ , в свою очередь, состоит из мономерных субъединиц: гидрофобной щелочной энзиматической субъединицы HDP-1P ( $M_r$  13798 кДа) и HDP-2P (13827 кДа) соответственно и кислой субъединицы HDP-In, лишённой ферментативной активности. Субъединица HDP-In не обладает биологическим действием. N-концевые последовательности HDP-1 и HDP-2 имеют высокую степень гомологии с випоксином из яда *Vipera ammodytes* и васпином из яда *Vipera aspis*. В то же время N-концевая последовательность компонента HDP-In является гомологичной кислым субъединицам васпина и випоксина. Следует отметить, что ферментативно активные субъединицы HDP-1P и HDP-2P проявляли более высокую по сравнению с гетеродимерами биологическую активность. Они обладали более высокой ферментативной и антикоагулянтной активностью и более эффективно ингибировали агрегацию тромбоцитов. В то же время кислая субъединица HDP-In была практически лишена биологической активности. Исследование биологической активности гетеродимерных фосфолипаз показало наличие у них пресинаптической нейротоксической активности. Поскольку в яде *Vipera berus berus* подобные токсины не обнаружены, авторы полагают, что *Vipera nikolskii* можно рассматривать как самостоятельный вид.

Подводя итог краткому рассмотрению токсических фосфолипаз яда гадюк, следует отметить, что по современным представлениям многообразие форм фосфолипаз (рис. 20.15, табл. 20.6) является результатом дупликации генов, приводящей к образованию повторяющихся нуклеотидных последовательностей, кластеров генов и мультигенных семейств. В этом аспекте интерес представляет яд *V. aspis aspis*, в котором, как уже указывалось, присутствуют два нейротоксина, встречающиеся в яде гадюк: мономерный аммодитоксин В и гетеродимер васпин. Анализ нуклеотидной последовательности субъединиц васпина позволяет предположить, что кислая субъединица имеет общего предка с аммодитином I2 из яда *Vipera ammodytes ammodytes*, который также присутствует в яде *Vipera aspis aspis*. Установлено, что «классический» геном *Vipera aspis aspis* также содержит гены кодирующие аммодитин I1, аммодитин I2 и субъединицы васпина, тогда как популяция *Vipera aspis aspis* из юго-востока Франции имеют гены, кодирующие изоформы аммодитоксинов и ретротранспозона Bov-B Line. Филогенетический анализ показывает, что кислая и щелочная субъединицы гетеродимерного комплекса вместе с AmL/Atx (мио-/нейротоксины) являются ключевыми элементами, лежащими в основе эволюции фосфолипаз  $A_2$  европейских гадюк.

Большой интерес представляет функциональная инверсия в механизме действия гетеродимерного комплекса по сравнению с эффектами его компонентов. Действительно, щелочная фосфолипаза  $A_2$ , входящая в состав постсинаптических гетеродимерных нейротоксинов васпина и випоксина, при изолированном применении обладает пресинаптическим действием, характерным для большинства известных фосфолипаз  $A_2$  ядов гадюковых и элапид. Исключение, пожалуй, составляет битанарин, обладающий как фосфолипазной активностью, так и сродством к постсинаптическим нХР. Создается впечатление, что наличие в гетеродимерном комплексе нетоксичной и практически лишённой энзиматической активности кислой субъединицы придает комплексу эмерджентные свойства, не выводимые из суммы свойств отдельных субъединиц. Вопросы молекулярной эволюции змеиных ядов еще ждут своего решения, однако очевидно, что вопросы внутривидовой изменчивости токсичности являются на этом пути лимитирующими.

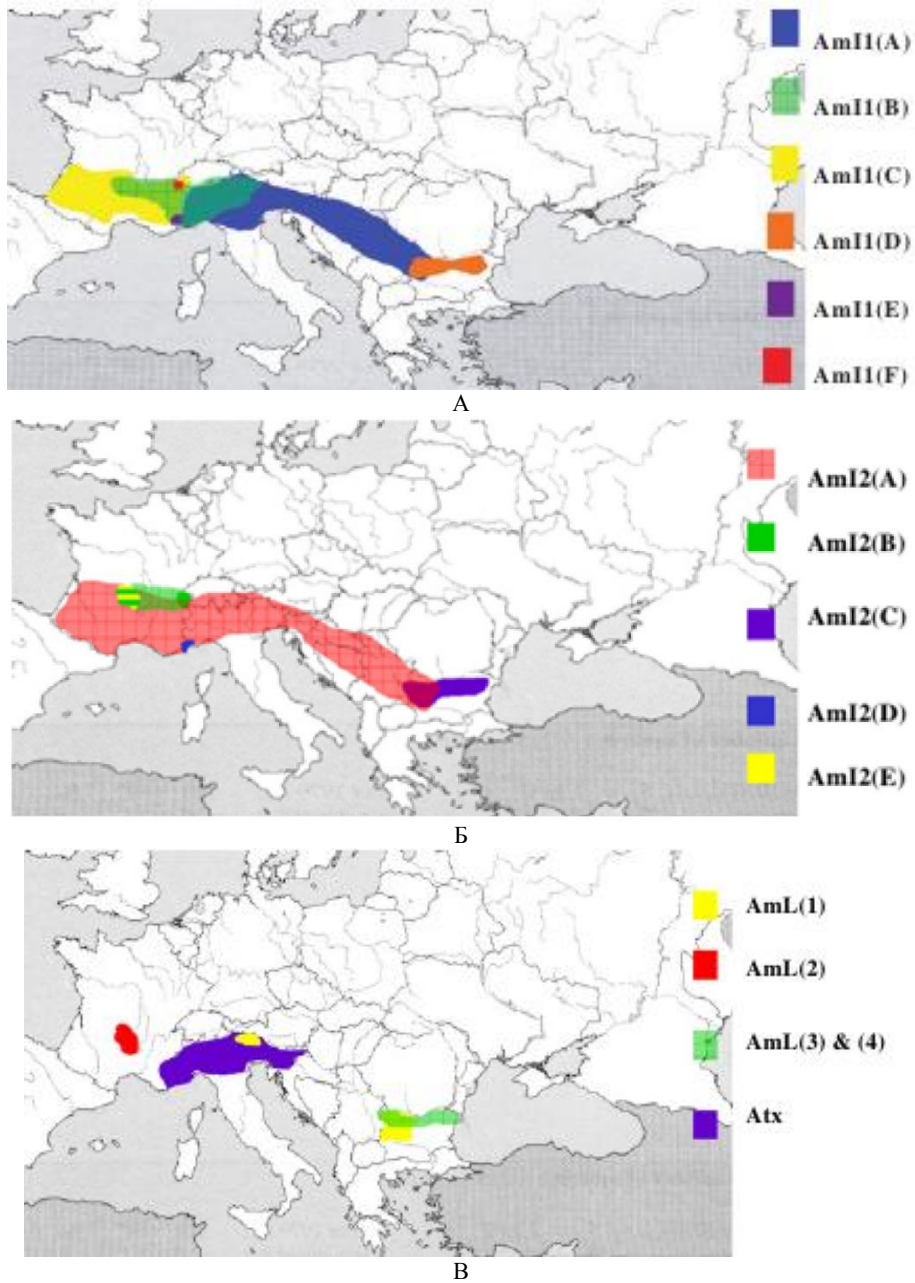


Рис. 20.15. «Распространение» различных изоформ токсинов гадюк на юге Европы. Обозначения: А – изоформы аммодитина I1 (AmI1) А–F; Б – изоформы аммодитина I2 (AmI2) А–Е; В – изоформы аммодитина L (1–4); AmL – аммодитин L, Atx – аммодитоксины (Jan et al., 2007)

Таблица 20.6

Токсические фосфолипазы A<sub>2</sub> европейских гадюк (Jan et al., 2007)

Вид	Название/шифр фосфолипазы A <sub>2</sub>	N-терминальная последовательность	C-терминальная последовательность	Фармакологическое действие
1	2	3	4	5
<i>Bitis caudalis</i>	Каудотоксин	NLIQFGNMISAMTGKSSLAYAS	ASKHSYNKNLWRYPSSKCTGTAEKC	Пресинаптический нейротоксин
<i>Daboia russelli</i>	VRV-PL-VIII	SLLEFGKMILEETGKLAIPSYS	QNLNTYSKKYMLYPDFLCKGELKC	Мионейротоксин (щелочной)
	RVV-VD	NLFQFAEMIVKMTGKNPLSSY	DNLNTYDKKYHNYPPSQCTGTEQC	Антикоагулянт
	RV-7	NLFQFGEMILEKTGKEVVHSYA	QNVNTYDKNYEYYSISHCTEESQCC	Нетоксичная субъединица пресинаптического комплекса
	RV-4	NLFQFARMINGKLGAFSVWNYI	QNKNTYNKEYKFLSSSKCRQRSEQC	Токсичная субъединица пресинаптического комплекса
<i>Echis carinatus</i>	Экарполин S	SVVELGKMI IQETGKSPFPSYT	KNLNTYNKKYTYYPNFWCKGDIEKC	Агрегация тромбоцитов
<i>Vipera ammodytes ammodytes</i>	Аммодин I1	HLSQFGDMINKKTGIFGIMSYI	ENMNTYDKKYMLYSLFDCKEESQCC	Непрямая гемолитическая активность
	Аммодин I2	NLYQFGNMI FKMTKKSALLSYS	ENLNTYDKKYKNYPSSHCTETEQC	Увеличение капиллярной проницаемости и непрямая гемолитическая активность
	Аммодинтоксин C	SLLEFGMMILGETGKNPLTSYS	KNLKTYNIIYRNPDLCKEESQCC	Пресинаптический мономер
	Аммодинтоксин B	SLLEFGMMILGETGKNPLTSYS	KNLKTYNHIYMYPDFLCKEESQCC	Пресинаптический мономер
	Аммодинтоксин A	SLLEFGMMILGETGKNPLTSYS	KNLKTYNIIYRNPDLCKEESQCC	Пресинаптический мономер
	Аммодин L	SVIEFGKMIQEETDKNPLTSYS	ENLKTYNKKYKVYLRFKCKGVSEKC	Миотоксин



Продолжение табл. 20.6

1	2	3	4	5
<i>Vipera ammodytes meridionalis</i>	Випоксин В	NLFQFAKMINGKLGAFSVWNYI	QNKNTYNKNYKFLSSSRRCRQTSEQC	Токсичная щелочная субъединица постсинаптического комплекса
	Випоксин А	NLFQFGDMILQKTGKEAVHSYA	ENVNTYDKNYEYYSISHCTEESEQC	Кислая нетоксичная субъединица постсинаптического комплекса, фосфолипаза А <sub>2</sub> -подобная
<i>Vipera aspis aspis</i>	Аммодин I1	HLSQFGDMINKKTGIFGIMSYI	ENVNTYDKNYEYYSISHCTEESEQC	Непрямая гемолитическая активность
	Аммодин I2	NLYQFGNMIFKMTKKSALLSYS	ENMNTYDKKYMLYSLLDCKEESEQC	Увеличение капиллярной проницаемости и непрямая гемолитическая активность
	Аммодинтоксин В	SLLEFGMMILGETGKNPLTSYS	ENLNTYDKKYKNYPSSHCTETEQC	Пресинаптический мономер
	Васпин В	NLFQFAKMINGKLGAFSVWNY	KNLKTYNHIYMYPDFLCKKESEKC	Антикоагулянт, увеличение капиллярной проницаемости, фосфолипазная субъединица постсинаптического комплекса
	Васпин А	NLFQFGDMILQKTGKEAVHSYA	QNKNTYNKNYRFLSSSRRCRQTSEQC	Антикоагулянт, ингибиторная субъединица постсинаптического комплекса
<i>Vipera aspis zinnikeri</i>	Васпин В	NLFQFAKMINGKLGAFSVWNYI	ENVNTYDKNYEYYSISHCTEESEQC	Антикоагулянт, увеличение капиллярной проницаемости, фосфолипазная субъединица постсинаптического комплекса
	Васпин А	NLFQFGDMILQKTGKEAVHSYA	QNKNTYNKNYRFLSSSRRCRQTSEQC	Антикоагулянт, ингибиторная субъединица постсинаптического комплекса
	Аммодин I1	HLSQFGDMINKKTGIFGIMSYI	ENVNTYDKNYEYYSISHCTEESEQC	Непрямая гемолитическая активность

Окончание табл. 20.6

1	2	3	4	5
<i>Vipera berus</i>	Аммотитин I1	NLSQFGDMINKKKTGIFGIMSYI	ENMNTYDKKYMLYSLLDCKEESQCC	Непрямая гемолитическая активность
	Аммотитин I2	NLYQFGNMIFKMTKKSALLSYS	ENMNTYDKKYMLYSLFDCKEESQCC	Увеличение капиллярной проницаемости и непрямая гемолитическая активность
	Фософолипаза A <sub>2</sub> berus	NLFQFGNMINHMGKHAVWSY	ENLNTYDKKYKNYPSSHCTETECC	Антикоагулянт
<i>Vipera palaestinae</i>	VP7	HLTQFGDMINKKKTGTFGLLSY	ENMNTYDTKYMLHSLFDCMEESKCC	Гипотензивное действие

### 20.5.2. Белки семейства CRISPs (цистеин-богатые секреторные белки)

В яде змей обнаружены белки, относящиеся к семейству цистеин-богатых секреторных белков (cysteine-rich secretory proteins – CRISPs), которые обозначаются аббревиатурой CRISP-Vs. В настоящее время эти белки обнаружены в яде змей сем. Elapidae и Colubridae, а также подсемейства Crotalinae. CRISP-Vs не обладают ферментативной активностью, представляют собой одиночную полипептидную цепь с  $M_r$  23–26 кДа, содержат 16 остатков цистеина и стабилизированы 8 дисульфидными связями. Из яда *V. nikolskii* и *V. berus* выделены высокомолекулярные CRISP-белки (рис. 20.16). Они различаются только наличием в белке *V. nikolskii* остатка Lys92, тогда как у *V. berus* в этом положении находится Glu92.

```
NVDFDSESPRKPEIQNEIIDLHNSLRRSVNPTASNMLKMEWYPEAAAANAERWA- (1)  
NVDFDSESPRKPEIQNEIIDLHNSLRRSVNPTASNMLKMEWYPEAAAANAERWA- (2)
```

Рис. 20.16. N-концевые последовательности CRISP-белков из яда *V. nikolskii* (1) и *V. berus* (2) (Рамазанова, 2011, с изменениями)

Аминокислотные последовательности (1) и (2) имеют высокую степень гомологии с аналогичными CRISP-белкам из яда *Protobothrops jerdonii* (85.5%), абломина из *Agkistrodon blomhoffi* (83.7%) и трифлина из *Protobothrops flavoviridis* (82.8%).

Необходимо отметить несколько уникальных аминокислотных замен, характерных для CRISP-белков из ядов *V. nikolskii* и *V. berus*. Так, упоминавшийся остаток Lys92 имеется только в белке *V. nikolskii*. Другой уникальной заменой является Ser215, тогда как в других белках положение занимает остаток фенилаланина. Известно, что CRISP-белки могут взаимодействовать с различными ионными каналами. Однако в ядах *V. nikolskii* и *V. berus* из необходимого набора функционально важных остатков аминокислот присутствует только Gln198, что ставит под сомнение наличие каналоблолирующей активности этих белков. Однако, по мнению Рамазановой (2011), имеющиеся у CRISP-белков из ядов *V. nikolskii* и *V. berus* уникальные замены (Glu/Lys92 и Ser215) позволяют выдвинуть гипотезу о том, что эти белки обладают биологической активностью, отличной от других CRISP.

### 20.5.3. Трехпетельные токсины

До последнего времени трехпетельные токсины рассматривались как характерные компоненты яда змей семейства Elapidae. Несмотря на то, что экспрессия мРНК, кодирующих такие токсины, была обнаружена также в ядовитых железах некоторых ямкоголовых и ужеобразных змей, сами трехпетельные токсины в ядах этих змей до сих пор не идентифицированы. Отсутствовали также данные об экспрессии трехпетельных токсинов у гадюк. Однако в последнее время появились данные о клонировании кДНК, кодирующих трехпетельные белки в ядовитых железах *V. nikolskii* и *V. berus*, и установлении их аминокислотной последовательности для пяти изоформ (3FTx1–3FTx5). Интересно, что в отличие от большинства трехпетельных токсинов, содержащих четное число остатков цистеина, образующих внутримолекулярные дисульфидные связи, изученные белки гадюк содержат 9 остатков цистеина, что делает возможным образование межмолекулярных дисульфидных связей (рис. 20.17).

	1	10	20	30	40	50	60	70
3FTx1	LTCATC	SSVRCFVTPNVQ	CTEGSNQCF	-KKWTG--	SEGLLTKYERE	CAANCSNVTGEER	-VNYCATDNCNK	
3FTx2	LTCATC	SSVRCFVTPNVQ	CTEGSNQCF	-KKWTG--	SEGLLTKYERG	CAANCSNVTGEER	-VNYCATDNCNK	
3FTx3	LTCATC	SSVRCVWTPNVQ	CTEGSNQCF	-KKWNG--	SEGLLTKYERG	CAANCSNVTGQER	-VNYCATDNCNK	
3FTx4	LTCASCSRRK	CVWTPNVQ	CTEGSNQCF	-KKWTG--	SERLRTRYERG	CAANCSNVTGEER	-VNYCATDNCNK	
3FTx5	LICASCSRRK	CVWTPNVQ	CTEGSNQCF	-KKWTG--	SEGLRTRYERG	CAANCSNVTGEER	-VNYCATDNCNK	
WTx	LTCLNCP	EMFCG-KFQI	-CRNGEKI	CF-KKLHQ--	RRPLSWRYIRG	CADTCPVGKPYE	-MIECCSTDKCNR	
CTx	IRCFITPDITS	---KD--C	-PNGHVQYTKTW	DAFCSIRGKRVDL	GCAATCPTVKTGV	-DIQCCSTDNCNPF	PTRKRP	
K.Btx	RTCLISPSSTPQT	-----	CPNGQDIFLKAQ	CDKFC	SIRGPVIEQGC	VATCPQFRSNYRSL	LCCTDNCNH	
Erb	RICFNHQSSQPQT	TKT--	CSPGESSYHKQ	WSD----	FRGTIIERGCG--	CPTVKPGIK-LSC	CESEVCNN	

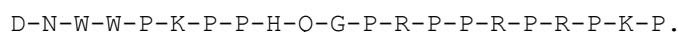
Рис. 20.17. Аминокислотные последовательности предполагаемых трехпетельных токсинов из яда гадюк *V. nikolskii* и *V. berus* (3FTx1–3FTx5) и известных трехпетельных токсинов: «слабого» токсина WTx<sup>182</sup> (*Naja kaouthia*), альфа-кобротоксина (CTx, *Naja siamensis*), каппабунгаротоксина (κ-Btx, *Bungarus multicinctus*) и эрабутоксина (Erb, *Laticauda semifasciata*). Остатки цистеина выделены серым фоном (Рамазанова, 2011)

<sup>182</sup> «Слабые» токсины – WTx, weak toxins.

Сравнение установленных последовательностей с таковыми трехпетельных токсинов показало, что белки гадюк имеют наибольшее сходство с так называемыми «необычными» или «слабыми» токсинами элапид, у которых дополнительная пятая дисульфидная связь расположена в первой полипептидной петле. Наличие свободной сульфгидрильной группы может приводить к образованию дисульфидных связей как между двумя трехпетельными белками, так и с другими белками. Еще раз подчеркнем, что хотя транскрипты аналогов трехпетельных токсинов на уровне мРНК находили у змей подсемейств Crotalinae и Colubrinae, а теперь найдены и у представителей подсемейства Viperinae, сами токсины в ядах этих змей до сих пор не обнаружены, и, следовательно, идет ли их трансляция – пока также остается невыясненным.

#### 20.6. ЯД ЗМЕЙ ПОДСЕМЕЙСТВА БИРМАНСКИЕ ГАДЮКИ (Azemiophinae)

Из яда бирманской гадюки *Azemiops feae* выделен токсический полипептид *аземиопсин*. Он состоит из 21 аминокислотного остатка, имеет  $M_r$  2540 Да и, в отличие от других аналогичных токсинов, не содержит остатков цистеина:



Изучение яда *Azemiops feae* показало, что он не влияет на свертывание крови, не обладает геморрагическим эффектом или миолитической активностью. Токсичность ( $DL_{50}$ ) аземиопсина составила  $2.6 \pm 0.3$  мг/кг для мышей при внутрибрюшинном введении. Однако аземиопсин эффективно конкурирует с  $\alpha$ -бунгаротоксином за связывание с никотиновыми Ах-рецепторами Torpedo ( $IC_{50}$   $0.18 \pm 0.03$  мкМ) и менее эффективно с Ах-рецепторами человека  $\alpha 7$  ( $IC_{50}$   $22 \pm 2$  мкМ). Как известно, большинство компонентов яда гадюк влияет на систему крови, но в них также присутствуют нейроактивные соединения, наиболее известными из которых являются рассмотренные выше нейротоксические фосфолипазы  $A_2$  и ваглерины – полипептиды, состоящий из 22–24 аминокислотных остатков, выделенных из яда азиатских ямкоголовых змей *Trimeresurus waglerii*. Известно, что ваглерины являются селективными блокаторами Ах-рецепторов мышечного типа. До недавнего времени ваглерины были единственными постсинаптическими нейротоксическими полипептидами, обнаруженными в яде змей семейства Viperidae. Позднее описали битанарин – постсинаптический полипептид, очищенный из яда *Bitis arietans*, блокирующий никотиновые холинорецепторы. Теперь, с выделением аземиопсина, нейротоксины – блокаторы постсинаптических Н-холинорецепторов – обнаружены в ядах представителей трех подсемейств гадюковых змей: Crotalinae, Viperinae и Azemiophinae.

#### 20.7. ЯД ЗМЕЙ ПОДСЕМЕЙСТВА АФРИКАНСКИЕ ЖАБЫ ГАДЮКИ (Causinae)

При укусе жабы гадюки могут вводить большое количество яда, который, однако, не является высокотоксичным (табл. 20.7). В составе яда обнаружены протеазы, фосфодиэстераза, щелочная фосфомоноэстераза, 5'-нуклеотидаза, гиалуронидаза, тромбин-подобный фермент, фосфолипаза  $A_2$ .

Таблица 20.7

Токсичность и ядопродуктивность некоторых видов гадюк рода *Causus*

Вид	Ядопродуктивность, мг	DL <sub>50</sub> , мг/кг
<i>Causus maculatus</i>	100	10
<i>Causus rhombeatus</i>	300	8.75

В эксперименте подкожное введение 50 мкг яда мышам приводило к развитию очага геморрагии площадью 1–3 см<sup>2</sup>. Из яда *Causus rhombeatus* выделена сериновая протеиназа (CR-серпиназа) с  $M_r$  45.5 кДа (рI 4.7), содержащая 18.9% углеводных остатков. Инкубация CR-серпиназы с очищенным человеческим антитромбином III<sup>183</sup> в молярном отношении 1:66 снижала более чем на 90% начальную активность антитромбина III в течение 10 мин. Возможно, что CR-серпиназа защищает другие сериновые протеазы яда от действия антитромбина III, присутствующего в плазме жертв, например лягушек и жаб. Действительно, проверка этого предположения на африканской лягушке *Xenopus laevis* показала, что антитромбин III этой амфибии эффективно инактивировался CR-серпиназой.

В некоторых регионах Африки жабы гадюки *Causus rhombeatus* и *Causus defilippii* кусают людей чаще, чем другие ядовитые змеи, но смертельные случаи в настоящее время неизвестны. Сообщалось о случаях быстрой смерти, возможно, связанной с шоком после укуса жабьей гадюки. У укушенных людей отмечаются боль, отёк средней тяжести, лимфаденит, лихорадка, иногда некрозы. Лечение укусов включает консервативную терапию.

Южноафриканская поливалентная сыворотка обладает активностью в отношении яда *Causus rhombeatus*.

<sup>183</sup> **Антитромбин III (АТ III)** – гликопротеид, основной естественный первичный регулятор гемостатического механизма, ингибитор всех сериновых протеаз (тромбина, факторов IXa, Xa, XIa, калликреина, плазмина, урокиназы), вовлеченных в процесс свертывания крови, главный ингибитор тромбина и фактора X; на его долю приходится 80–90% антикоагулянтной активности крови. Антитромбин III не ингибирует фактор VIIa и не влияет на факторы в составе мембранных комплексов, а устраняет ферменты, находящиеся в плазме крови, препятствуя распространению тромбообразования в кровотоке. Антитромбин III является плазменным кофактором гепарина, образуя с ним быстродействующий комплекс, обладающий выраженными антикоагулянтными свойствами.

ШПИЛЬКОВЫЕ ЗМЕИ  
(Atractaspidae)  
И УЖЕОБРАЗНЫЕ ЗМЕИ  
(Colubridae)

И послал Господь на народ ядовитых змеев, которые жалили народ, и умерло множество народа из [сынов] Израилевых.

*Числ. 21:6*



Wikipedia Commons

### 21.1. СЕМЕЙСТВО ШПИЛЬКОВЫЕ ЗМЕИ (*Atractaspididae*)

Семейство *Atractaspididae* (Шпильковые змеи) состоит из 64 видов, объединенных в 12 родов. Земляные гадюки рода *Atractaspis* распространены широко в Африке, а также в Израиле, в том числе на палестинских территориях, на Синае, в Иордании, Саудовской Аравии, Ливане. Голова у этих змей маленькая, покрыта крупными щитками, глаза крошечные. Туловище гладкое и блестящее, хвост короткий. Змеи появляются на поверхности только ночью, проводя большую часть времени под землей или скрываясь в опавших листьях или песчаной почве. Они охотятся на других роющих животных, обитающих в верхних слоях почвы: грызунов, ящериц, амфисбен и змей. Некоторые виды высоко специализированы в пище и едят только определенные виды позвоночных.

Представители рода *Atractaspis* имеют только большие пустотелые клыки. Особенность строения ядовитого аппарата земляных гадюк такова, что даже при закрытой пасти из нее торчит наружу ядовитый зуб (рис. 21.1). Поэтому змея не кусает в прямом понимании этого слова, а наносит укол ядовитым зубом за счет резкого движения головы. По-видимому, это является приспособлением к роющему образу жизни и охоте под землей. Эти особенности строения ядовитого аппарата земляных гадюк следует иметь в виду при попытке получить у нее яд при ядовязтии традиционным образом. Поскольку рукой практически невозможно зафиксировать голову змеи, для получения яда применяют специальные методы (рис. 21.2А). Строение ядовитой железы земляных гадюк, лишенной дифференцированной придаточной железы, ближе к строению железы Дювернуа колюбрид, чем к железам viperид, однако в настоящее время их выделяют в отдельное семейство.



Рис. 21.1. Голова *Atractaspis engaddensis* с ядовитым зубом (Wikipedia Commons)



### 21.1.1. Клиника отравления

Земляные гадюки представляют серьезную эпидемиологическую опасность более чем в 25 странах. Из 333 укусов, зарегистрированных в Судане за 16 лет, 6 летальных случаев были вызваны укусами *Atractaspis irregularis*, *Atractaspis microlepidota* и *Atractaspis engaddensis*. В тяжелых случаях, особенно у детей, смерть может наступить в течение одного часа. Смерть, как правило, наступает в результате спазма коронарных сосудов сердца. Отравление ядом земляной гадюки характеризуется местными и системными эффектами. Среди местных проявлений отравления на первый план выходят отек, эритема, онемение в месте укуса, позже развиваются обширный отек и некротические повреждения тканей (рис. 21.2Б). Пострадавший жалуется на общую слабость, потливость, наблюдаются спутанность сознания, обильное слюноотделение, боли в животе, рвота, диарея, дыхательная недостаточность. Характерны гипертензия, иногда тахикардия, спазм сосудов сердца, на ЭКГ – симптомы атриовентрикулярного блока и инверсия Т-зубца.

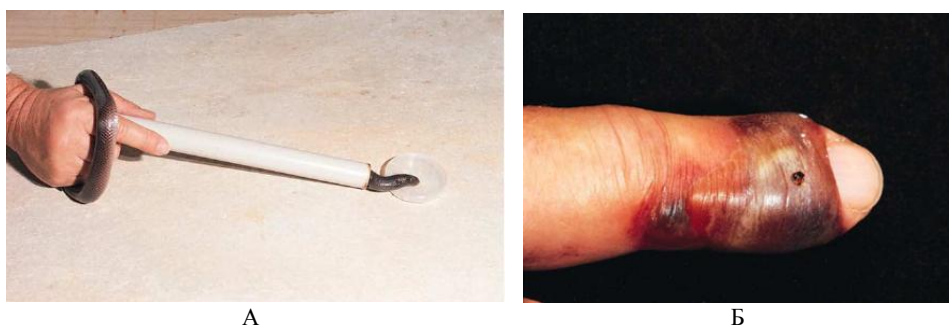


Рис. 21.2. Получение яда от земляной гадюки (А) и последствия укуса (Б) (Kumik et al., 1999)

Количество яда, которое можно получить от разных видов земляных гадюк, заметно варьирует. Например, *Atractaspis bibroni* и *Atractaspis dahomeyensis* выделяют по 1 мг сухого остатка яда, тогда как *Atractaspis engaddensis* – 6.8 мг. Существенные колебания наблюдаются и в токсичности яда, полученного от разных видов. Так,  $DL_{50}$  яда *Atractaspis dahomeyensis* составляет 2.24 мг/кг, *Atractaspis bibroni* – 0.15 мг/кг, а *Atractaspis engaddensis* – 0.25 мг/кг.

### 21.1.2. Химический состав и механизмы действия яда

Яды земляных гадюк обладают своеобразным химическим составом. В них отсутствует ацетилхолинэстераза, характерная для элапид, и аргининэстеразная активность, присущая гадюкам, однако, обнаружены фосфолипаза и оксидаза L-аминокислот. Токсичность яда *Atractaspis engaddensis* составляет  $DL_{50}$  75 мкг/кг для мышей. Однако даже в высоких дозах яд не блокирует нервно-мышечную передачу. Особенно сильное действие яд оказывает на сердечно-сосудистую систему. Изменения в ЭКГ подобны наблюдаемым у человека при развитии атриовентрикулярного блока и вызваны прямым действием яда на сердце.

Из яда *Atractaspis engaddensis* выделены и охарактеризованы три изотоксина, названные сарафотоксинами<sup>184</sup> S6a1, S6b и S6c. Сарафотоксины – сосудосуживающие пептиды, они состоят из 21 аминокислотного остатка, стабилизированы двумя дисульфидными связями и представляют собой новый тип пептидных токсинов змеиных ядов (рис. 21.3, 21.4).

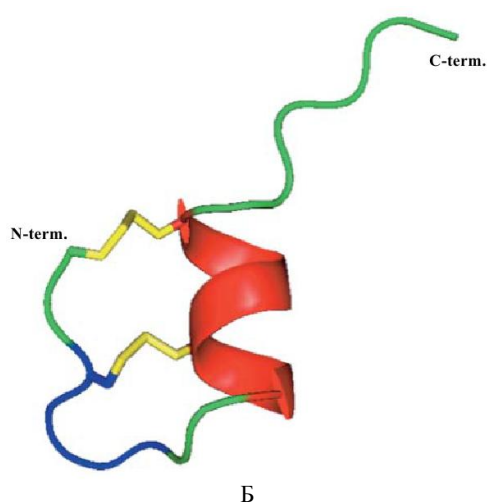
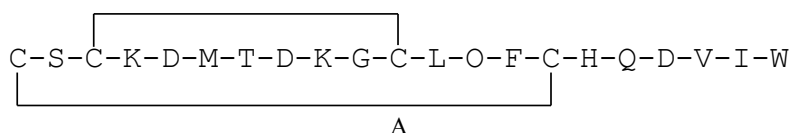


Рис. 21.3. Структура сарафотоксина: А – первичная структура, Б – мотив укладки полипептидной цепи сарафотоксина по данным ЯМР-анализа; желтым обозначены дисульфидные связи, красным –  $\alpha$ -спираль (Ducancel, 2005)

S6a1	C S C K D M T D K E C L N F C H Q D V I W
S6b	C S C K D M T D K E C L Y F C H Q D V I W
S6c	C T C N D M T D E E C L N F C H Q D V I W
Btx	C S C A D M T D K E C L Y F C H Q D V I W

Рис. 21.4. Первичная структура сарафотоксинов S6a1, S6b и S6c из яда *Atractaspis engaddensis* и Btx из яда *Atractaspis bibroni*

Аналогичный токсин – *бибротоксин* (Btx) – новый член семейства эндотелин-сарафотоксиновых пептидов выделен из яда *Atractaspis bibroni* (рис. 21.4). Кроме того, из яда *A. m. microlepidota* изолировано новое семейство сарафотоксинов, так называемые «длинные» сарафотоксины, состоящие из 24 аминокислотных остатков.

Сарафотоксины, состоящие из 21 аминокислотного остатка, имеют структурное и функциональное сходство с эндотелинами<sup>185</sup> (рис. 21.5) и являются селективным агонистом рецепторов эндотелина В-типа. Они обнаруживают высокую

<sup>184</sup> От названия *Atractaspis engaddensis* на иврите Saraf Ein Gedi.

<sup>185</sup> Эндотелины, в частности, эндотелин-1 – сосудосуживающий пептид из 21 аминокислотных остатков, играющий ключевую роль в гомеостазе кровеносных сосудов. Эндотелин-1 является самым мощным из известных сосудосуживающих агентов, он в 10 раз активнее ангиотензина II.

аффинность к рецепторам мембран мозга и предсердия и вызывают гидролиз фосфоинозитидов в этих тканях. Различия в пространственной химической структуре сарафотоксинов и эндотелинов являются существенными для объяснения специфики связывания лигандов с рецепторами эндотелина. Следует подчеркнуть, что сарафотоксины и эндотелины были открыты практически одновременно в 1988 г.

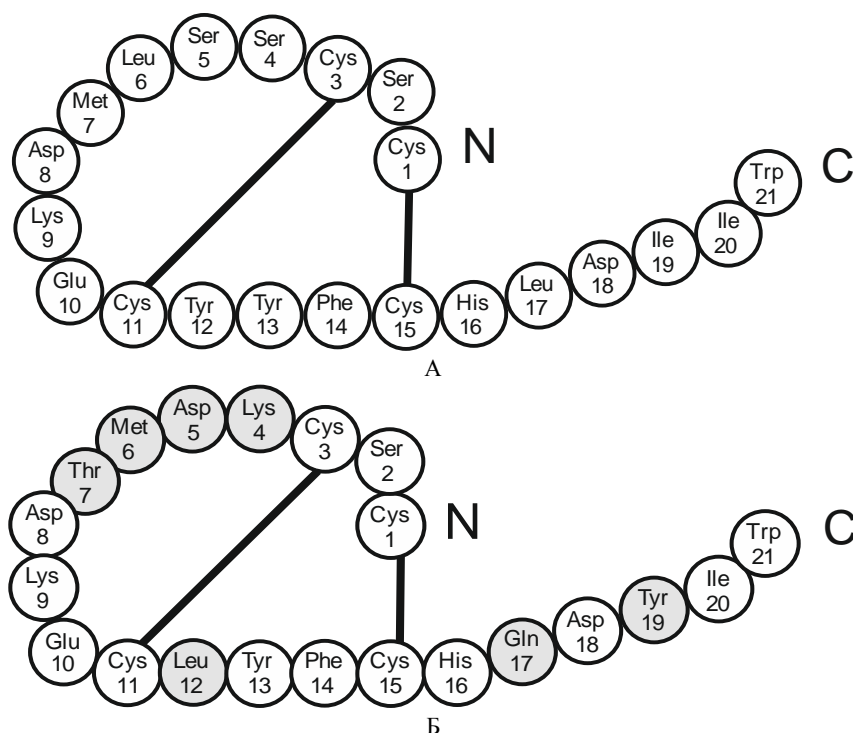


Рис. 21.5. Сравнение структур эндотелина-1 (А) и сарафотоксина S6b (Б)

Сарафотоксины а и б, отличающиеся только одной заменой аминокислотного остатка, имеют одинаковую токсичность  $DL_{50}$  0.01 мг/г, тогда как сарафотоксин-с в 30 раз менее токсичен  $DL_{50}$  0.3 мг/г. В опытах на морских свинках показано, что сарафотоксин-с (S6C) вызывает дозозависимое сокращение изолированных бронхов и повышает легочное артериальное давление в сердечно-легочных препаратах, что связывают с действием сарафотоксина на эндотелиновые рецепторы В-типа в изолированных тканях легких, а также вовлечение в механизм гипертензии и бронхоспазма метаболитов циклооксигеназы, в частности тромбоксана А.

Лечение отравлений ядом земляной гадюки имеет важное медицинское значение для африканских стран. Дело в том, что существует сыворотка против яда *Atractaspis* sp., разработанная в Саудовской Аравии, однако по экономическим причинам в Африке такая сыворотка – редкость. В то же время известно, что в организме человека избыточное образование эндотелина может вызывать лёгочную гипертензию. Для лечения такой лёгочной гипертензии успешно применяют неселективный антагонист эндотелиновых рецепторов типов А и В ( $ET_A$  и  $ET_B$ ) – бозентан. Бозентан снижает как легочное, так и

системное сосудистое сопротивление, приводя к повышению сердечного выброса без увеличения ЧСС. Это послужило основанием для экспериментального изучения антидотного эффекта бозентана при отравлении ядом земляной гадюки и показало его эффективность, не уступающую сыворотке и превосходящую нитроглицерин (табл. 21.1).

Таблица 21.1

**Влияние бозентана, нитроглицерина и противоземной сыворотки на спазм коронарных сосудов кролика, вызванный ядом земляной гадюки (Abd-Elsalam, 2011)**

Варианты опыта	Коронарный кровоток, мл/мин
Контроль (раствор Рингер – Локка)	7.2±0.23
Яд	1.77±0.09
Яд + бозентан	8.2±0.20
Бозентан + яд	7.1±0.19
Яд + сыворотка	8.0±0.15
Яд + нитроглицерин	2.7±0.25
Нитроглицерин + яд	2.17±0.27

Несмотря на то, что при иммунодиффузионном тесте яд *Atractaspis engaddensis* дает полосы преципитации с антисыворотками к ядам кобры *Naja naja* и гадюки *Vipera palaestinae*, эти сыворотки не защищают мышей от летального действия яда земляной гадюки. Это еще раз подчеркивает филогенетические различия между земляными гадюками и элапидами.

## 21.2. СЕМЕЙСТВО УЖЕОБРАЗНЫЕ ЗМЕИ (Colubridae)

Это семейство самое большое в подотряде и насчитывает около 1700 видов, что составляет примерно 60% всех змей. Ужеобразные – весьма неоднородная группа как по образу жизни, так и по характеру питания. В ней есть наземные и в разной степени осваивающие водный образ жизни формы, а также виды, переходящие к роющему образу жизни. Ужеобразные широко распространены на земном шаре (рис. 21.6).

К входящему в сем. Colubridae подсемейству настоящих ужей (Colubrinae) относится более 1400 видов. Характеризуя в целом эту группу, можно отметить, что все сказанное о семействе в той или иной степени может быть отнесено и к данной группе.

Подсемейство Colubrinae представляет интерес, так как в нем имеются виды, слюна которых обладает токсическим действием для человека. Яд этих змей, как правило, имеет определенную избирательность и действует в основном на мелких позвоночных, служащих обычной пищей для тех или иных видов ложных ужей. Среди таких видов назовем, например, разноцветного полоза (*Coluber ravergieri*) (рис. 21.7А), встречающегося на Кавказе, в Средней Азии и Казахстане, и тигрового ужа (*Rhabdophis tigrinus*) (рис. 21.7Г), обитающего у нас в Приморском и Хабаровском краях. У последнего из названных видов надо отметить также наличие специальных нухо-дорзальных желез (на верхней поверхности шеи под кожей), имеющих защитное значение, так как они выделяют едкий секрет, который при попадании в пасть хищника вынуждает его бросить свою жертву. Определен-

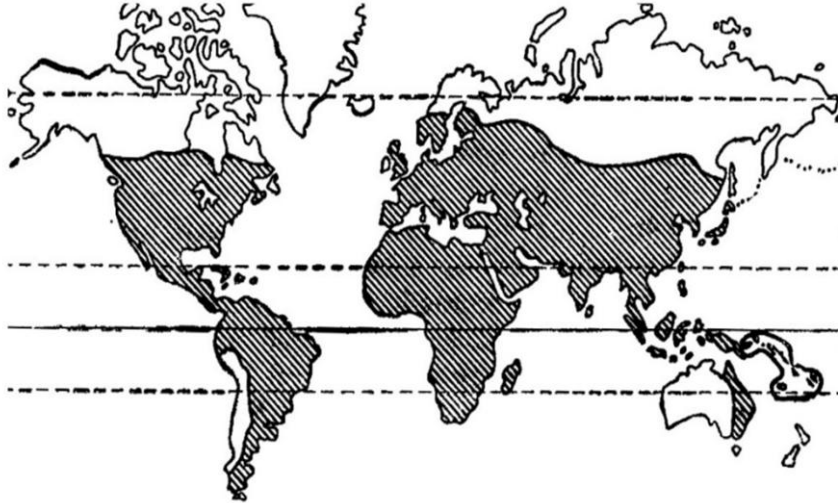


Рис. 21.6. Области распространения семейства ужеобразных змей (Colubridae) (Даревский, 1969)

ную опасность представляет серая древесная змея (*Thelotornis kirtlandi*), распространенная в Центральной и Западной Африке. Эта змея имеет длину около 120 сантиметров и пестро окрашена. Голова сверху зеленая с черными пятнами и линиями (рис. 21.7В), верх тела имеет серый или коричневатый цвет с темными и светлыми пятнами и поперечными полосами, живот желтоватый или коричневый, розовый или кремовый с черными пятнами.

При раздражении ее красный язык страшно шевелится, кончик его имеет блестящий черный цвет. Ее укусы могут привести к очень тяжелым отравлениям человека. Среди представителей нашей фауны в качестве примера можно назвать кошачью змею *Telescopus fallax*, ящеричную змею (*Malpolon morspessulanus*), змею-стрелу (*Psammophis lineolatus*) (рис. 21.7Б), бойгу (*Boiga trigonatum*).

В Южной, Передней и Средней Азии, тропической Африке и Австралии встречаются 30 видов бойги (*Boiga*). Это крупные змеи, достигающие в длину 2.8 м. Голова с укороченной мордой резко отграничена от шеи, туловище заметно уплощено с боков (рис. 21.7Д). Обитают преимущественно на деревьях и кустарниках, где ведут ночной образ жизни. Очень подвижное и быстрое животное, одинаково ловко передвигающееся среди ветвей и на земле. Питается мелкими позвоночными, которых сдавливает кольцами своего тела и парализует ядом. Ее излюбленную пищу составляют ящерицы, реже поедает птиц и мелких зверьков. Потревоженная человеком бойга ведет себя крайне воинственно: она поднимает вверх голову и переднюю треть тела, а лежащую на земле часть туловища свивает восьмеркой; в сторону врага следуют броски головой с широко разинутой пастью, которые сопровождаются шипением и частыми колебательными движениями хвоста. При попытке поймать змею она яростно сопротивляется и очень склонна кусаться.



Рис. 21.7. Представители сем. Colubridae: А – разноцветный полоз (*Coluber ravergeri*); Б – змея-стрела (*Psammophis lineolatus*); В – серая древесная змея (*Thelotornis kirtlandi*); Г – тигровый уж (*Rhabdophis tigrinus*); Д – бойга (*Boiga trigonatum*); Е – бумсланг (*Dispholidus typus*). (Wikipedia Commons). А и Б – фото М.В. Пестова

В тропической Африке южнее Сахары до Южной Африки распространён бумсланг<sup>186</sup> (*Dispholidus typus*). Обитает в различных биотопах от карру – засушливого региона на юге Африки – и сухих саванн до равнинных лесов и финбоша – кустарниковой растительности, преобладающей на территории Капской области ЮАР – самого богатого видами флористического царства планеты. Взрослые особи длиной 1.2–1.5 м, максимально 2 м. Активен днём, держится на деревьях и ку-

<sup>186</sup> От местного наречия (афр.) – древесная змея.

стах. Змея прекрасно лазает, способна имитировать ветки деревьев (рис. 21.7Е). Окраска варьирует от совершенно зелёной или зелёной с чёрными полосами и пятнами до оливковой, коричневой или чёрной. Питается ящерицами, другими змеями и лягушками, а также крупными гусеницами и личинками насекомых. Змея пуглива и, имея прекрасное зрение, своевременно избегает встречи с человеком. Кусает, только если окажется схваченной<sup>187</sup>.

Следует указать также муссурану, обитающую от юга Мексики через Центральную Америку до Бразилии, Уругвая, Парагвая и Перу. Встречается также на Антильских островах, предпочитает тропические леса. Общая длина достигает 2.4 м. Голова узкая. Туловище стройное, цилиндрическое с гладкой чешуёй. Взрослые муссураны совсем чёрные, молодые особи – красные с чёрной «шапочкой» на конце головы и белым «воротничком». Активна ночью. Офиофаг предпочитает ямкоголовых змей, питается также ящерицами и грызунами. Яд не представляет угрозы для человека, смертельные случаи среди людей не зафиксированы. Осуществляются мероприятия по увеличению популяции муссураны (в частности в Бразилии) для борьбы с гремучими змеями. При этом яд гремучих змей совсем не опасен для муссураны.

Немногочисленное подсемейство пресноводных змей *Homolopsinae*, обитающих в водоемах Юго-Восточной Азии, так же как и ложные ужи, относится к заднебородчатым змеям. Отмечается, что их яд действует на ракообразных, рыб и амфибий, которыми они питаются, и отличается очень высокой избирательностью своего действия. Например, яд фордонии *Fordonia leucobalia*, питающейся крабами, не оказывает действия на других холоднокровных, кроме ракообразных.

### 21.2.1. Клиника отравления

Представители этого семейства менее опасны для человека, чем аспиды, гадюки или гремучники. У некоторых колюбрид ядовитый секрет достаточно токсичен и при определенных условиях может вызвать тяжелое отравление. Особенно опасны в этом отношении африканские виды, например бумсланг *Dispholidus typus*, древесная змея *Thelotornis kirtlandi*. Периодически в литературе появляются сведения об укусах колюбрид и симптомах вызываемых ими отравлений. В подавляющем большинстве случаев поражение характеризуется местными явлениями: отек, боль, локальные кровоизлияния (рис. 21.8).



Рис. 21.8. Последствия укуса бойги (Wikipedia Commons)

<sup>187</sup> Поучительной является печальная история известного американского герпетолога Karl P. Schmidt (1890–1955), который скончался от укуса молодого бумсланга. Он отказался от лечения сывороткой и перед смертью описал действие яда.

Подобные симптомы описаны при зарегистрированных случаях укусов южноамериканского полоза *Philodryas olfersi*, разноцветного полоза *Coluber ravergieri*, эскулаповой змеи *Elaphe longissima*. В качестве иллюстрации можно привести результаты самоэксперимента, проведенного в 1975 г. Р. Сейбом. Автор дал укусить себя в палец левой руки фальшивой коралловой змеей *Pliocercus elapoides* длиной около 200 мм. В момент укуса ощущалась сильная боль. На место укуса были нанесены 4 продольных разреза и наложен жгут на 1 ч. Через 6 ч была введена поливалентная сыворотка, анальгетики, кортикостероиды. Несмотря на эти меры, развивался отек руки, сопровождающийся лимфоденитом. В первые 6 ч наблюдалось повышение АД, в течение суток тахикардия и повышенная температура, одышка. Местные явления (парестезия) удерживались более месяца.

В целом отравление ядом заднебороздчатых змей напоминает картину поражения ядом гадюк и гремучников, но менее выраженную.

#### 21.2.2. Химический состав и механизмы действия яда

Полифелитическое семейство Colubridae включает примерно две трети известных видов змей, из которых около половины (~ 700 видов) продуцируют яд с помощью железы Дювернуа. Биохимические и фармакологические свойства большинства ядов, кроме наиболее опасных для человека, изучены недостаточно. Однако известно, что яды колюбрид являются источниками новых соединений и некоторых токсинов, родственных токсическим белкам CRISP-типа с  $M_r$  20–26 кДа (*хелвепринам*)<sup>188</sup>.

В яде колюбрид имеются металло- и сериновые протеиназы, фосфолипаза  $A_2$ , фосфодиэстераза, ацетилхолинэстераза, а также активатор протромбина. В яде некоторых видов показано наличие постсинаптических нейротоксинов и миотоксинов. Яды ряда видов колюбрид высокотоксичны для инбредных мышей, тогда как другие виды токсичны только для птиц и/или амфибий. Поскольку многие колюбриды не питаются млекопитающими, токсичность их яда для мышей имеет ограниченную информативность – в основном для оценки потенциальной опасности для человека. Для более полной характеристики яда колюбрид важное значение приобретают модели токсичности, полученные на других видах животных. Наиболее опасными для человека являются *Dispholidus typus*, *Thelotornis capensis*, *Rhabdophis tigrinus*, *Philodryas olfersii*, *Tachymenis peruviana* и некоторые другие. Для колюбрид характерна низкая ядопродуктивность. Так, от бумсланга (*Dispholidus typus*), имеющего крупную железу Дювернуа, можно получить при традиционной технике максимум 20 мкл (или 1.5 мг) яда, тогда как фармакологическая стимуляция железы кетаминем или пилокарпином увеличивает ядопродуктивность в 5–10 раз. Так же как и у других змей, ядопродуктивность колюбрид связана с размером змеи (рис. 21.9).

---

<sup>188</sup> Хелвеприны – токсические белки, обнаруженные в яде змей и структурно гомологичные хелотермину из яда мексиканского ядозуба *Heloderma horridum*.



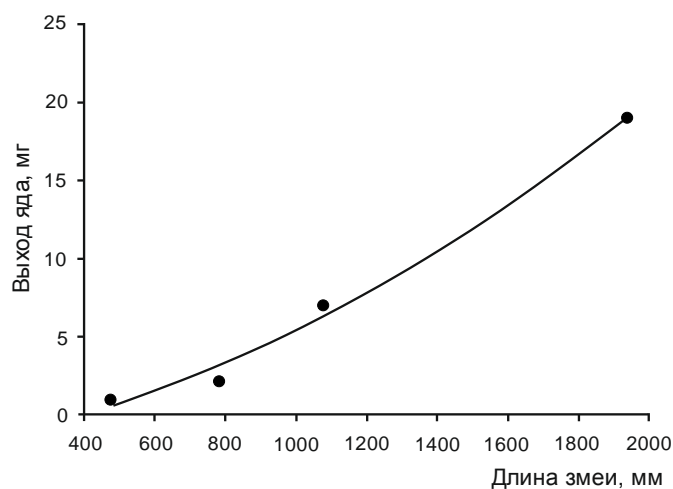


Рис. 21.9. Зависимость выхода яда от длины змеи (Mackessy, 2002)

Приведенные в табл. 21.2 результаты дают представление об острой токсичности яда некоторых колюбрид для млекопитающих.

Таблица 21.2

**Острая токсичность яда некоторых колюбрид для мышей при внутривенном введении (Datta, Tu, 1993)**

Вид	DL <sub>50</sub> , мг/кг
<i>Rhabdophis s. subminiatus</i>	0.125
<i>Rhabdophis tigrinus</i>	0.265
<i>Enhydris bocourti</i>	7.300
<i>Enhydris chinensis</i>	2.050
<i>Homolopsis buccata</i>	14.60
<i>Boiga dendrophila</i>	3.850
<i>Boiga irregularis</i>	10.33
<i>Boiga blandingi</i>	3.300
<i>Attractaspis engaddensis</i>	0.250
<i>Dispholidus typus</i>	0.07
<i>Thelotomis kirtlandi</i>	0.250
<i>Thamnophis elegans vagrans</i>	13.85*
<i>Thamnophis sirtalis parietalis</i>	33.00
<i>Hypsiglena torquata taana</i>	26.00**
<i>Malpolon monspessulanu</i>	6.500
<i>Spalerosophis diadema</i>	2.750

\*Внутрибрюшинное введение.

\*\* Подкожное введение.

Геморрагические токсины. Токсичность яда колюбрид связана с уже упоминавшимися ранее ферментами, однако специфичность действия ядов во многом определяется входящими в их состав токсинами. Так, геморрагические эффекты колюбрид связывают с действием геморрагических токсинов, выделенных из их ядов. В яде *Malpolon monspessulanus* содержится геморрагический токсин (СМ-в), имеющий  $M_r$  24 кДа и DL<sub>50</sub> для мышей 1 мкг/г. Показано,

что геморрагический эффект СМ-b не связан с протеиназной активностью. Другая фракция (СМ-a) частично охарактеризована и вызывает легочные геморрагии. Геморрагическая фракция содержится и в яде *Philodryas olfersi*, из которого выделены два белка с  $M_r$  70 и 58 кДа, обладающие казеинолитической активностью. Поскольку ЭДТА и 1,10-фенантролин ингибируют протеолитическую и геморрагическую активность этих фракций, был сделан вывод, что геморрагические протеазы являются, скорее всего, металлопротеиназами, так же как и в яде вилперид. В дальнейшем было показано, что геморрагическая активность сосредоточена во фракции с  $M_r$  58 кДа, являющейся металлопротеиназой. Отравления ядами *Thamnophis elegans vagrans* и *Hypsiglena torquata* также вызывают интенсивную локальную геморрагию и некроз, что обусловлено казеинолитической протеолитической активностью. Интересно, что сыворотка крови змей жабу *Trimeresurus flavoviridis* и *Dinodon semicarinatus* нейтрализует геморрагическую активность яда колюбрид *Amphiesma pryeri* и *Rhabdophis tigrinus*, тогда как сыворотка мангусты *Herpestes edwardsii* была не эффективна. Следует отметить, что летальную токсичность яда колюбрид эти сыворотки не нейтрализовали.

**Миотоксины.** Следует заметить, что большинство протеаз и геморрагических агентов змеиных ядов способно повреждать и мышечную ткань, вызывая мио-некрозы, но эти эффекты, как правило, не специфичны. В то же время в змеиных ядах содержатся миотоксины, обладающие в большинстве случаев кардиотоксической или фосфолипазной  $A_2$  активностью. Такие миотоксические компоненты охарактеризованы и в яде некоторых колюбрид (*Thamnophis elegans vagrans*, *Boiga irregularis*, *Philodryas olfersii*).

**Нейротоксины.** Нейротоксические эффекты характерны для яда некоторых колюбрид, но первичная структура компонентов, ответственных за эти эффекты пока не установлена. Яд бумсланга *D. tyurus* в концентрации 50 мкг/мл усиливал тонус и силу ритмических сокращений гладкомышечных препаратов, которые блокировались высокими дозами атропина. В то же время на препарате поперечно-полосатой мускулатуры лягушки этот яд в более высокой концентрации 100 мкг/мл был не эффективен даже в течение 4 часов. Напротив, яд *Heterodon platirhinos* вызывал полный необратимый нервно-мышечный блок лягушки, который предотвращался ингибитором ацетилхолинэстеразы физостигмином. Эти результаты коррелируют с пищевой специализацией змей: *Heterodon platirhinos* питается бесхвостыми амфибиями, тогда как бумсланг «специализируется» на птицах и ящерицах. Известно, что укус *Boiga blandingi* вызывает быструю смерть небольших животных. Из яда бойги выделен нейротоксин ( $M_r$  7100–8500 Да), составляющий до 5% белков яда. В концентрации 50 мкг/мл нейротоксин вызывал блокаду нервно-мышечного препарата лягушки. Поскольку при действии нейротоксина (10 мкг/мл) снижается амплитуда МПКП и существенно не изменяется мембранный потенциал мышцы, то по характеру действия нейротоксин можно отнести к постсинаптическим токсинам. Компоненты, взаимодействующие с постсинаптическими Ах-рецепторами, обнаружены в яде и других видов бойги *Boiga irregularis*, *B. dendrophila*, *B. irregularis*. Предполагают, что нейротоксическая фракция в этих ядах представлена двумя нейротоксинами с  $M_r$  10–12 кДа. Необратимое блокирование нервно-мышечной передачи на постсинаптическом уровне вызывает также яд *Dryadophis bifossatus*. Видоспецифический эффект об-

наружен у яда *Phylodryas olfersii* и токсина, выделенного из этого яда. Нервно-мышечный препарат диафрагмы мыши был устойчив к действию целого яда, тогда как препарат двубрюшной шейной мышцы цыпленка блокировался как целым ядом, так и токсином, что еще раз подчёркивает недостаточность стандартных фармакологических исследований на мышах. Следует отметить, что ранее упоминавшиеся хелвеприны (токсические белки CRISP-типа), присутствующие в яде колюбрид, гомологичны хелотермину из яда мексиканского ядозуба. Возможно, что относящиеся к CRISP-типу гомологичные белки колюбрид, в том числе и ранее выделенные тигрин (*Rhabdophis tigrinus*) и трифлин (*Trimeresurus flavoviridis*), могут быть блокаторами ионных каналов, но прямых экспериментальных доказательств пока не получено.

Перейдем к дополнительной характеристике ядов наиболее изученных представителей заднебороздчатых змей.

***Rhabdophis tigrinus*.** Тигровый уж *Rhabdophis tigrinus* способен накапливать в своём организме экзогенные яды, используя их как кайромоны. Обороняясь, тигровый уж принимает характерную позу: поднимает переднюю часть туловища почти вертикально, шипит, делает выпады в сторону противника (рис. 21.10А). Из расположенных на верхней стороне шеи нухо-дорзальных желёз (рис. 21.10Б, В) выделяется едкий секрет, который вынуждает хищника, схватившего тигрового ужа, немедленно его выпустить. В составе этого секрета есть полигидроксилированные стероиды, сходные по структуре с кардиотоксическими буфодиенолидами из яда жаб (21.10Г), у которых кожные железы – паротиды – выделяют защитные вещества – буфодиенолиды<sup>189</sup>. Рацион *R. tigrinus* очень широк и включает, в частности, ядовитых жаб. У тигрового ужа после съедания ядовитой жабы нухо-дорзальные железы наполняются практически такими же токсическими соединениями. Характерно, чтоужи, в пище которых не хватает ядовитых жаб, практически не имеют яда. Соответственно, и поведение *R. tigrinus* меняется в зависимости от питания. Если у змеи достаточно яда, то в случае нападения, например со стороны птиц, она защищается. Однако если рацион беден ядовитыми жабами, то змея, не имеющая яда в железах, предпочитает просто покинуть опасное место.

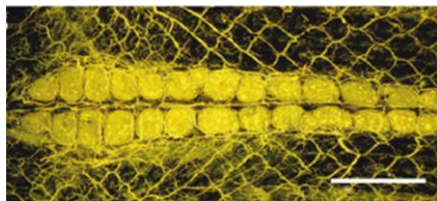
Из секрета железы Дювернуа тигрового ужа выделены протромбиновый активатор и однопочечный белок (30 кДа) *тигрин*, состоящий из 219 аминокислотных остатков. Тигрин имеет до 50% гомологии с белками CRISP-типа. С помощью «анти-тигриновой» сыворотки были идентифицированы дополнительно три белка с  $M_r$  25 кДа из других ядов: *абломин* (221 аминокислотный остаток) из яда щитомордника *Agkistrodon blomhoffi*, *трифлин* (221 аминокислотный остаток) из яда жабы *Trimeresurus flavoviridis* и *латиземин* (217 аминокислотных остатков) из яда морской змеи *Laticauda semifasciata*. Абломин, трифлин и латиземин блокировали деполаризацию мембран, но не влияли на вызванные кофеином сокращения гладкой мускулатуры, что указывает на то, что все три токсина являются блокаторами  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа. В противоположность этому, тигрин не влиял ни на деполаризацию, ни на вызванные кофеином сокращения.

---

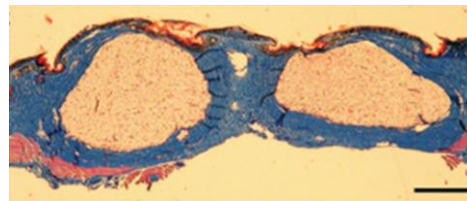
<sup>189</sup> См. главу 16.



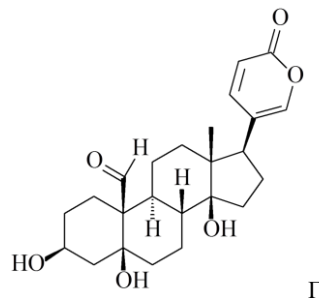
А



Б



В



Г

Рис. 21.10. Тигровый уж *Rhabdophis tigrinus*: А – типичная оборонительная позиция. Б – нухо-дорзальные железы (внешний вид); В – нухо-дорзальные железы – поперечный срез, видно отсутствие секреторного эпителия; Г – буфодиенолид хеллебригенин (Hutchinson et al., 2007)

***Dispholidus typus*.** Яд бумсланга – сильный прокоагулянт, вызывающий превращение протромбина в тромбин. Активное коагулирующее начало яда – термолабильный гликопротеид с молекулярной массой ~55000. Свертывание крови, вызываемое этим гликопротеидом, не требует участия ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и тромбоцитов. Целый яд и коагулирующая фракция обладают примерно одинаковой токсической активностью, их  $\text{DL}_{50}$  составляет, соответственно, 0.72 и 0.78 мг/кг. Это указывает

на то, что поражающее действие яда бумсланга связано, в основном, с его влиянием на свертывающую систему крови. Выпускается сыворотка против яда бумсланга.

***Thelotornis kirtlandi***. Весьма сильным коагулирующим действием обладает также яд *Thelotornis kirtlandi*. Экспериментальное изучение яда *Th. kirtlandi* показало его высокую токсичность –  $DL_{50}$  0.25 мг/кг. Коагулирующее действие яда связано с белковым фактором, имеющим молекулярную массу ~85000 и рI 5.25. Так же как и коагулирующий фактор из яда бумсланга, прокоагулянт из яда *Th. kirtlandi* свертывает цитратную плазму в отсутствие ионов  $Ca^{2+}$ , тромбоцитов и фосфолипидов за счет прямого активирования перехода протромбина в тромбин. Геморрагическая активность целого яда *Th. kirtlandi* сопоставима с ядом жарараки *Bothrops jararaca* и примерно в два раза ниже, чем у яда щитомордника *Agkistrodon rhodostoma*. Отметим, что в яде *Th. kirtlandi* отсутствуют фосфолипаза  $A_2$  и оксидаза L-аминокислот, обычно присутствующие в ядах других змей. Яд *Th. kirtlandi* обладает чрезвычайно сильной дефибрилирующей активностью: уже через 10 мин после введения яда в дозе 10 мкг/кг содержание фибриногена в плазме падает практически до нуля. Для достижения такого же эффекта с помощью экарина из яда эфы *Echis carinatus* необходимо не менее 2 ч.

***Thamnophis elegans vagrans***. Геморрагическим действием обладает также яд подвзвочной змеи ( $DL_{50} = 13.9$  мг/кг). У животных, погибших от этого яда, отмечаются локальные очаги геморрагии в месте инъекции яда, а также диффузные геморрагии в легких, кишечнике, диафрагме. Клиническая картина отравления ядом подвзвочной змеи характеризуется отеком, болью, подкожными кровоизлияниями.

### 21.3. ПРИРОДНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗМЕИНЫМ ЯДАМ. ПРОФИЛАКТИКА УКУСОВ ЗМЕЙ

Завершая рассмотрение ядовитых змей, коснемся вкратце проблемы природной резистентности к змеиному яду. Этот феномен известен давно. Большинство ядовитых змей также устойчивы к своему яду, но не к яду других змей, за исключением близкородственных видов. В основе природной устойчивости лежат два механизма. Первый связан с нечувствительностью биологической мишени к токсину в результате генетической модификации, вызванной мутацией в первичной структуре. Например, мышечные Ах-рецепторы элапид и мангуст не чувствительны к альфа-бунгаротоксину и кобратороксину. Второй тип природной резистентности связан с присутствием в сыворотке крови нейтрализующего фактора. Такие антигеморрагические и антинейротоксические факторы выделены из сыворотки млекопитающих, ядовитых и неядовитых змей. Для некоторых защитных факторов определена первичная структура. В общем виде они характеризуются как кислые белки с  $M_r$  50–100 кДа.

За исключением макроглобулинов, выделенных из крови ежа *Erinaceus europaeus*, они представлены термостабильными основными гликопротеинами. Они не обладают протеолитической активностью и не являются иммуноглобулинами. Первичные структуры двух антигеморрагических факторов из сыворотки крови змеи *Trimeresurus flavoviridis* и опоссума *Didelphis virginian* разительно отличаются. Механизмы действия факторов, нейтрализующих токсина, пока не

раскрыты полностью, но антигеморрагические факторы, как представляется, действуют как ингибиторы металлопротеиназ, образуя стабильные нековалентные комплексы с геморагинами яда. Из сыворотки крови *Crotalus durissus terrificus* выделен противоядный белок, нейтрализующий основной токсин яда этой змеи кротоксин (crotoxin inhibitor from Crotulus serum – CICS). CICS представляет собой кислый олигомерный гликопротеин с  $M_r$  130 кДа, нековалентно соединенный с субъединицей, имеющей  $M_r$  23–25 кДа. CICS связывает токсичную фосфолипазную субъединицу СВ кротоксина, но не взаимодействует с нетоксичной кислотной шапероновой субъединицей СА. Он эффективно ингибирует активность фосфолипазы кротоксина и его отдельной субъединицы СВ, а также вызывает диссоциацию комплекса кротоксина. Полагают, что CICS позволяет циркулировать кротоксину в кровеносной системе, предотвращая его действие на нервно-мышечную систему змеи.

Механизмы биологической резистентности к змеиным ядам имеют большое теоретическое и практическое значение, поскольку открывают перспективу использования в медицине природных веществ, нейтрализующих яды змей. Давно известно, что некоторые животные обладают повышенной устойчивостью к действию ядов змей. Среди них наиболее известны ежи *Erinaceus europaeus*, *Periechinus deserti*, соня садовая *Eliomys nitela*, мангусты *Herpestes ichneumon*, *H. edwardsii*, американский барсук *Taxidea taxus*, опоссумы *Didelphis marsupialis*, *D. virginiana*, лесной хомяк *Neotoma micropus*, полевка *Microtus ochrogaster*. Так, исследования американских ученых показали, что лесной хомяк *Neotoma micropus* и виргинский опоссум *Didelphis virginiana* более чем в 100 раз устойчивее к яду гремучей змеи, чем лабораторные мыши. Сравнительный анализ способности сыворотки крови различных животных нейтрализовать яд гремучей змеи показал, что наибольшей активностью в этом отношении обладает сыворотка крови самой змеи, затем опоссума и лесного хомяка, несколько слабее была сыворотка мексиканской щетинистой мыши (табл. 21.3). Наличие в крови опоссумов гуморальных защитных факторов объясняет случаи совместного обитания опоссума и гремучей змеи в одной норе.

Выделение из сыворотки опоссума и хлопковой крысы антигеморрагических факторов показало, что это белки, не относящиеся к классу иммуноглобулинов, поскольку они не преципитировали с ядом при иммунодиффузионном тесте. У опоссума антигеморрагический фактор представляет собой белок с молекулярной массой ~ 68000, лишенный протеолитической активности и близкий по физико-химическим свойствам к альбуминам. Напротив, у хлопковой крысы антигеморрагический фактор – скорее  $\alpha$ -глобулин с молекулярной массой ~ 90000, но также не обладающий протеолитическим действием. Любопытно, что один и тот же антигеморрагический фактор из сыворотки хлопковой крысы способен нейтрализовать 5 геморагических изофакторов из яда *C. atrox*. Белковые антигеморрагические факторы имеются и в сыворотке самих змей, например у хабу *Trimeresurus flavoviridis*, гадюки *V. palaestinae*. В крови последней имеется и антинейротоксический белковый фактор. Кроме того, сыворотка крови некоторых неядовитых змей, например колубриды *Clelia clelia*, способна нейтрализовать яд гремучника *Bothrops asper*. Механизмы антигеморрагического действия факторов сыворотки крови теплокровных животных во многом не ясны. Эти факторы не относятся к иммуноглобулинам и, следовательно, нейтрализация яда не является иммунной реакцией. Антигеморрагические факторы также или лишены протеолитической

Таблица 21.3

**Антигеморрагическая активность сыворотки крови разных животных против яда  
гремучей змеи *Crotalus atrox***

Источник сыворотки	Антигеморрагический титр *
Антисыворотка (козья) к яду <i>C. atrox</i>	256
Змея <i>C. atrox</i>	256
Опоссум <i>Didelphis virginiana</i>	256
Лесной хомяк <i>Neotoma micropus</i>	64
Щетинистая мышь <i>Spermophilus mexicanus</i>	64
Хлопковая крыса <i>Sigmodon hispidus</i>	64
Рисовый хомяк <i>Oryzomys couesi</i>	32
Серая крыса <i>Rattus rattus</i>	16
Карманчиковая мышь <i>Liomys irroratus</i>	8
Обыкновенная ондатра <i>Mephitis mephitis</i>	4
Человек <i>Homo sapiens</i>	2

\*Антигеморрагический титр определяется как максимальное разведение сыворотки, нейтрализующей минимальную геморрагическую дозу яда, то есть дозу, вызывающую очаг геморрагии 10 мм в диаметре.

активности, либо она имеет узкую субстратную специфичность, до сих пор не выявленную. В плазме крови человека нейтрализующим действием на протеазы ядов змей обладают  $\alpha_2$ -макроглобулины.

Дальнейшее изучение гуморальных факторов природной резистентности представляется весьма перспективным, так как совместное применение специфической моновалентной сыворотки и факторов, выделенных из крови этих животных, может оказаться высокоэффективным при лечении отравлений змеиными ядами. В рассматриваемом плане определенный интерес представляют также исследования, проведенные в Японии по активной иммунизации людей малыми дозами яда змеи хабу *Trimeresurus flavoviridis*.

**Профилактика укусов змей.** В большинстве случаев укусов змей можно избежать, если соблюдать минимальные правила поведения в местности, где существует потенциальная «змеиная опасность».

1. Если отлов змеи не самоцель, то лучше не трогать змею.
2. В «змеиной местности» нужно носить прочную высокую обувь.
3. Быть внимательным в густой траве, заросших ямах, не вступать туда, предварительно не убедившись, что там нет змеи.
4. Ночью необходимо пользоваться фонарем – многие змеи особенно активны в теплые летние ночи.
5. Помнить, что мыши и крысы привлекают змей – бороться с грызунами.
6. Не разрешать детям ловить змей. Если вы увидите, что дети играют со змеей, не оставляйте этого без внимания. Убедитесь, что змея не опасна.
7. Не устраивать ночлег возле деревьев, входов в пещеры, куч мусора.

В полевых условиях прежде чем лечь спать (особенно в спальный мешок) – тщательно осмотрите свою постель. Если, проснувшись, вы обнаружите в своей

постели змею, постарайтесь не поддаваться панике. Помните, что ваше испуганное движение может спровоцировать змею на укус. Следует позвать на помощь или ждать, когда змея уползет. При определенном навыке можно попытаться неожиданным резким движением сбросить змею, если она находится, например, поверх одеяла или спального мешка. Однако при этом не забывайте о своих соседях по палатке.

Для лиц, работающих в герпетологических лабораториях, и профессиональных ловцов змей существуют специальные инструкции, регламентирующие правила обращения с ядовитыми змеями. Кроме опасности быть укушенным, при длительных работах со змеями могут наблюдаться и аллергические реакции к их яду.



## ЯЩЕРИЦЫ (Lacertilia)

Вино их яд драконов и  
гибельная отрав аспидов.

*Втор. 32:33*



Э. Геккель, 1904

Ящерицы (лат. Lacertilia, ранее Sauria) – подотряд пресмыкающихся из отряда чешуйчатых. Подотряд ящериц не является биологически чётко определяемой категорией, а включает в себя все те виды, которые не относятся к другим двум подотрядам чешуйчатых – змеям и двухоткам. Ящерицы представляют собой наиболее обширную группу современных пресмыкающихся, встречающихся, в сущности, на всех материках и многих океанических островах, за исключением Антарктиды и островов, расположенных в приполярных областях. Всего по состоянию на январь 2014 года насчитывалось 5907 видов ящериц. В отличие от змей, у большинства ящериц (за исключением некоторых безногих форм) имеются в той или иной степени развитые конечности. Хотя безногие ящерицы внешне похожи на змей, у них сохраняется грудина, а у большинства – пояса конечностей; в отличие от змей, левая и правая половины челюстного аппарата неподвижно сращены. Характерным признаком подотряда является также неполное окостенение передней части мозговой коробки и не более двух крестцовых позвонков. Ранее считалось, что из всего многообразия видов ящериц ядовиты лишь два, что закреплено в самом названии их – ядозубы. Однако в настоящее время к ядовитым ящерицам с полным основанием можно причислить и варанов.

Ящерицы и змеи обладают разнообразными стратегиями питания и защиты, и некоторые из них используют модифицированные зубы для введения яда в организм добычи и врага. Самым древним известным представителем чешуйчатых с бороздками на зубах, похожими на таковые у современного рода *Heloderma* (яздозубы), является монстерзавр *Estesia mongoliensis*. Из современных ящериц только у рода *Heloderma* есть бороздчатые краевые зубы, которые используются для введения яда. У современных ядозубов глубокие бороздки расположены на ростральной кромке зуба, проходят от основания зуба к его кончику и используются для проведения яда.

Некоторыми учёными для объяснения филогенетического родства змей, варанов, ядозубов, веретеницевых и игуанообразных предложена гипотетическая безранговая группа Toxicofera. Объединение основано на присутствии общих токсических компонентов и предполагает наличие для всех «ядовитых» групп одного предка.

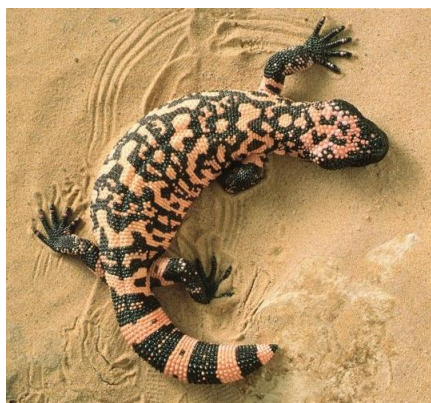
## 22.1. СЕМЕЙСТВО ЯДОЗУБЫ (*Helodermatidae*)

Представлено всего двумя видами (рис. 22.1). Один из них – аризонский ядозуб, или жилатье (*Heloderma suspectum*). Еще одно его название «Gila monster» (Гила монстр) дано по названию реки Гила (Gila) в Аризоне. Второй вид – эскорион, или мексиканский ядозуб (*Heloderma horridum*), местное название «толахини» (мексик.). Ядозубы населяют сухие каменистые предгорья и полупустыни Северной Америки от юго-запада США до юго-запада Мексики и Гватемалы. Ядозубы истребляются ради кожи, идущей на различные украшения. В настоящее время они находятся под охраной закона.

***Heloderma suspectum*.** Жилатье – крупная ядовитая ящерица длиной около 60 см, из которых у взрослых ящериц примерно 15–17 см занимает хвост, и массой 1–2 кг. Встречается в юго-западной части США – штатах Невада, Юта, Аризона, Нью-Мексико до берегов Калифорнийского залива на юге Калифорнии, а также на северо-западе Мексики. Водится жилатье в засушливых райо-

нах – главным образом среди зарослей кактусов, кустарника, травы; встречается на каменистых склонах, на дне каньонов. Питается главным образом яйцами разнообразных животных (особенно черепахи *Gopherus agassizii*), а также птицами, ящерицами и мелкими млекопитающими (крольчатами, мышами и белками). При обильном питании быстро накапливает жир; способен за один раз съесть до 35% от массы своего тела. Самки откладывают 2–12 яиц, обычно в июле–августе. Период инкубации длится 35–55 дней. Тело покрыто крупной бугорчатой чешуей. Окраска имеет апосематический характер: на оранжево-красном или беловато-желтом фоне разбросаны темные пятна и полосы. Молодые особи окрашены более контрастно и ярко. Вид образует 2 подвида: *Heloderma suspectum suspectum* – распространён в южной части ареала вида и *Heloderma suspectum cinctum* – занимает северную часть ареала (встречается преимущественно в пустыне Мохаве).

***Heloderma horridum***. Эскорпион отличается от жилачье более крупными размерами (старые особи достигают почти 90 см в длину, из которых почти половину занимает хвост, и массы до 4,5 кг), а также более тёмной окраской с пятнами и полосами жёлтых тонов, обычно не образующими правильного поперечного узора. Встречаются и одноцветные, серовато-бурые и почти чёрные экземпляры. Распространён на побережье Калифорнийского залива в западной и юго-западной Мексике, проникая примерно на 275 км вглубь страны. На юге ареала проникает в Гватемалу (подвиды *Heloderma horridum alvarezii* и *Heloderma horridum charlesbogerti*), а на севере сравнительно небольшая популяция (подвид *Heloderma horridum exasperatum*) обитает на границе мексиканских штатов Сонора и Синалоа. Населяет полузасушливые каменистые местности; встречается на дне каньонов, в пересохших руслах рек и в редколесьях. Активны в сумеречное и ночное время, охотясь преимущественно на мелких млекопитающих, в меньшей степени – на пресмыкающихся. Поедают также насекомых, яйца птиц и рептилий, птенцов. При поисках пищи ориентируются с помощью обоняния и якобсонова органа.



А



Б

Рис. 22.1. Ядозубы: А – аризонский ядозуб (жилачье), *Heloderma suspectum*; Б – мексиканский ядозуб (эскорпион) *Heloderma horridum* (Wikipedia Commons)

Некоторое представление об особенностях строения и биологии мексиканского и аризонского ядозубов дает табл. 22.1.

Подобно многим другим пресмыкающимся, ядозубы способны длительное время (до 5 месяцев) голодать. Организм этих ящериц хорошо приспособлен к редкому употреблению больших объемов пищи. Это является существенным преимуществом в условиях, когда регулярная добыча встречается не часто. Взрослые особи способны за один раз съесть количество пищи, составляющее около одной трети их массы. Полный годовой запас пищи они в основном съедают всего за 3–4 кормления. При этом, особенно когда пища обильна, излишки питательных веществ откладываются в виде жировой ткани в хвосте – этот запас жира служит источником питания в длительные периоды зимней спячки. Низкая скорость метаболизма и относительно низкая температура тела также способствуют уменьшению потребности в регулярном питании. Таким образом, особенности физиологии организма ядозубов обеспечивают поддержание нормального энергетического баланса в длительные периоды между кормлениями.

Таблица 22.1

**Диагностические признаки мексиканского (*Heloderma horridum*) и аризонского (*Heloderma suspectum*) ядозубов**

Показатели	<i>Heloderma horridum</i> (эскорион)	<i>Heloderma suspectum</i> (жилатье)
Длина общая	До 89 см	33–56 см
Длина и строение хвоста	Длинный (до 40 позвонков), с 6–7 светлыми полосами	Короткий (25–28 позвонков), с 4–5 светлыми полосами
Окраска	Тёмно-бурая с желтоватыми пятнами и полосами, обычно не образующими правильного поперечного узора, иногда однотонная серовато-бурая или почти чёрная; пятна на голове отсутствуют	Тёмно-бурая или чёрная с оранжево-жёлтыми, оранжево-красными, красно-бурыми или беловато-жёлтыми пятнами, обычно образующими поперечный узор; есть пятна на голове
Ареал	Мексика, Гватемала	Юго-западные штаты США, Мексика
Количество яиц в кладке	До 13	2–12
Инкубационный период	6 месяцев	10 месяцев
Количество подвидов	4	2

### 22.1.1. Ядовитый аппарат

Свою добычу ядозубы убивают путем укуса и введения в тело жертвы яда, вырабатываемого нижнегубными железами, расположенными по бокам снизу у передней половины нижней челюсти (рис. 21.2). Снаружи железы имеют вид опухолей, расположенных снизу челюсти.

Каждая железа заключена в капсулу из фиброзной ткани, проникающей внутрь железы в виде септ, разделяющих саму железу на 3 или 4 крупные доли. Более мелкие перегородки, отходящие от капсулы и крупных септ, подразделяют доли на многочисленные дольки. Яд по нескольким протокам поступает к наружной

стороне наиболее крупных зубов нижней челюсти, которые окружены складкой слизистой оболочки. Изогнутые и длинные зубы несут на передней и задней поверхностях бороздки, из которых передняя более глубокая. Бороздки имеют острые режущие края. Всего у взрослых ящериц жилае 41–45 зубов: 18 на зубной кости, 16–18 на верхнечелюстной и 7–9 на переднечелюстной. Длина наиболее крупных зубов, сидящих на зубной кости, у жилае 5.0 мм, у эскариона – 6.0 мм, соответственно длина зубов на верхнечелюстной кости равна 3.2 и 4.5 мм, а на переднечелюстной – 2.0 и 2.3 мм. Бороздки наиболее глубоки на зубах, сидящих на переднем крае зубной (от четвертого до седьмого зуба) и верхнечелюстной кости, следующие за ними зубы, сидящие на краю предчелюстной; имеют слабо выраженные бороздки, а зубы, сидящие в середине предчелюстной кости, обычно вообще лишены бороздок. Яд заполняет бороздки зубов исключительно за счет капиллярного эффекта. На верхнечелюстные зубы яд попадает при закрытии рта и соприкосновении зубов. Во время укуса десны отодвигаются, что, видимо, не только освобождает зубы, но и увеличивает давление на ядовитые железы. Выпавший или сломанный зуб быстро заменяется новым. Зубы окружены складкой слизистой оболочки, и вдоль всех зубов нижней челюсти проходит желобок, образованный выстилкой ротовой полости. По этому желобку яд свободно растекается и достигает основания зубов.

Таким образом, в состав ядовитого аппарата ядозубов входят парные ядовитые железы, протоки, ведущие к зубам, и сами зубы. Несовершенство ядовитого аппарата, не позволяющего сделать быстрый укол (как это наблюдается у гадюк и ямкоголовых змей), приводит к тому, что ящерица вынуждена при укусе удерживать некоторое время свою жертву для того, чтобы яд проник через покровы внутрь тела.

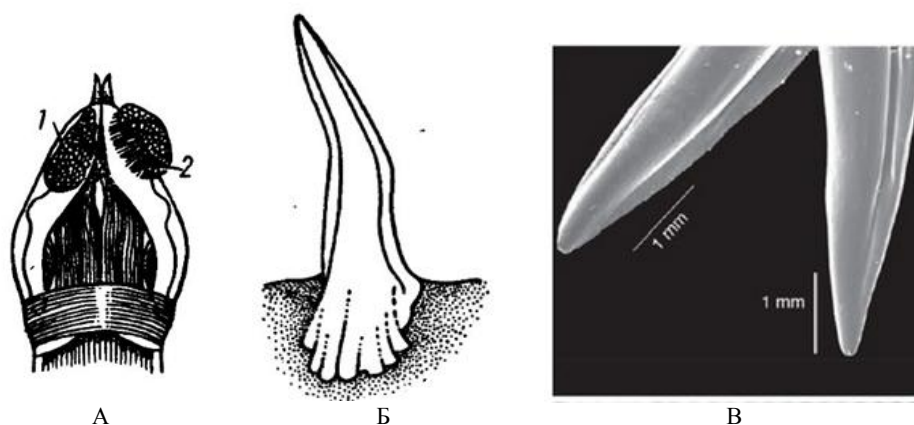


Рис. 22.2. Ядовитый аппарат ядозубов. А и Б – *Heloderma horridum* (рисунки из Физали, 1922): А – ядовитые железы: 1 – ядовитая железа; 2 – железа отогнута, видны кровеносные сосуды; Б – бороздчатый ядовитый зуб. В – бороздчатые ядовитые зубы *Heloderma suspectum* (фото)

Мелкие животные погибают после укуса через несколько минут. Для человека укусы весьма болезненны, известны даже случаи гибели пораженных людей. Устойчивость ядозубов к собственному яду очень высока.

### 22.1.2. Клиника отравления

Укусы ядозуба довольно редки и, как правило, являются следствием неосторожного обращения с этой ящерицей, например при отлове или содержании в неволе. Клиническая картина отравления ядом ядозуба (хелодерматизм) характеризуется прежде всего болью в месте укуса, которая в зависимости от тяжести отравления может длиться от 30 мин до 8 ч и более. В месте инокуляции яда развивается отек, который проявляется уже через 15 мин после укуса и прогрессивно нарастает в течение нескольких часов. Больные жалуются на слабость, дурноту, головокружение. Эти симптомы могут быть связаны со снижением АД, наблюдаемым во время отравления. Кроме того, развивается тахикардия, редко – инфаркт миокарда. Слизистые, как правило, синюшные, дыхание учащено. Яд, очевидно, дренируется лимфатической системой, и у больных наблюдаются лимфодениты. Очень часто места укуса кровоточат, и у больных отмечена тромбоцитопения. Хотя имеют место повреждения тканей в месте укуса, некрозы отмечены крайне редко. Однако следует опасаться попадания вторичной инфекции, и поэтому проведение противостолбнячной терапии обязательно. В целом лечение носит симптоматический характер, рекомендуется также применение анальгетиков и сердечно-сосудистых средств.

### 22.1.3. Химический состав и механизмы действия яда

Яд ядозубов содержит серотонин, гиалуронидазу, оксидазу L-аминокислот, фосфолипазу A<sub>2</sub>, фосфодиэстеразу, протеазы, биоактивные полипептиды. Яд токсичен для морских свинок, мышей и крыс (DL<sub>50</sub> от 1 до 20 мг/кг). Токсичный эффект у лабораторных животных включал тахипноэ и диспноэ, спонтанные судороги, геморрагические очаги в глазах и желудочно-кишечном тракте, застойные явления в легких, приводящие к отеку, гипотензию, слабость, саливацию, рвоту, недержание мочи и кала. Смерть наступала от острой дыхательной недостаточности. У кроликов яд вызывает уменьшение протромбинового времени свертывания крови, у собак и крыс – гипотензию, тахикардию и расстройство дыхания. При добавлении яда в среду, омывающую изолированные мышечные препараты кишки или матки крысы, наблюдается отсроченная сократительная реакция, которая не блокируется ни атропином, ни димедролом. Важное значение имеет способность яда высвободить брадикинин, чем можно объяснить его гипотензивный эффект. Брадикининлибераторное действие яда может быть связано с каллекриин-подобными компонентами.

Яд ядозубов активизирует циклазную систему. Добавление яда *H. suspectum* и *H. horridum* к препаратам печени, почек, легких, сердца, мозга крыс вызывало существенное повышение активности гуанилатциклазы и, соответственно, уровня цГМФ (рис. 22.3). Кроме того, яд *H. horridum* активизирует аденилатциклазу в срезах поджелудочной железы морской свинки, что сопровождается усилением секреции амилазы. Сопоставление действия яда с эффектами вазоактивного интестинального пептида<sup>190</sup> (ВИП) и секретина, также стимулирующими поджелудочную железу, указывает на присутствие в яде пептида, способного воздействовать на те же рецепторы, что и ВИП.

---

<sup>190</sup> Вазоактивный интестинальный пептид (называемый также вазоактивный интестинальный полипептид; общепринятые аббревиатуры ВИП и VIP) – нейропептидный гормон, обнаруживаемый во многих органах, включая кишечник, головной и спинной мозг, поджелудочную железу.

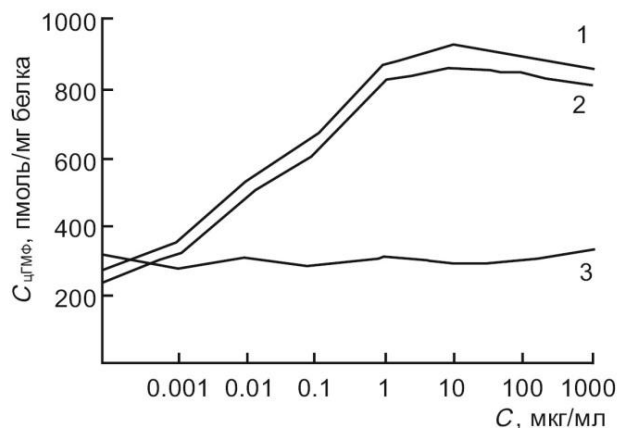


Рис. 22.3. Влияние яда *Heloderma suspectum* (1) и *Heloderma horridum* (2) на активность гуанилатциклазы в печени крыс; (3) – контроль (Vesely, 1982)

В настоящее время из яда ядозубов выделен ряд биоактивных пептидов (рис. 22.4).

	5	10	15	20	25	30	35	40
Glukagon	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT							
VIP	HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSILN							
Secretin	HSDGTFTSELSRLRDSARLQRLQGLV							
Helospectin-I	HSDATFTA EYSKLLAKLALQKYLE SILGSSTSPRPPSS							
Helodermin	HSDAIFTEEYSKLLAKLALQKYLASILGSRTSPPP							
Exendin-3	HSDGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS							
Exendin-4	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS							

Рис. 22.4. Первичная структура некоторых биоактивных пептидов из яда ядозубов и нейропептидных гормонов

*Гилатоксин* – летальный кислый белок с  $M_r$  33 кДа, обнаружен в яде *Heloderma suspectum* и *Heloderma horridum*. Гилатоксин является гликозилированной сериновой протеазой, первичная структура которой имеет до 40% сходства с протеазами змеиных ядов, а также 32, 29 и 26% сходства с трипсином, калликреином и тромбином соответственно.

*Хелодерматин* — имеет  $M_r$  63 кДа, является сериновой протеазой и обнаружен в яде *Heloderma horridum*. Гилатоксин и хелодерматин вызывают глубокую гипотензию у лабораторных животных.

*Хелотермин*, представляет собой одиночную полипептидную цепь, имеет  $M_r$  25 кДа и выделен из яда *Heloderma horridum*. Он вызывает у мышей летаргию, мышечную слабость, гипотермию, ослабляет калиевый ток в нейронах мозжечка. В противоположность гилатоксину и хелодерматину, хелотермин лишен энзиматиче-

ской активности. Показано, что хелотермин является специфическим блокатором рианодиновых рецепторов<sup>191</sup> в скелетной и сердечной мускулатуре, не влияя на дигидропиридиновые рецепторы (рис. 22.5).

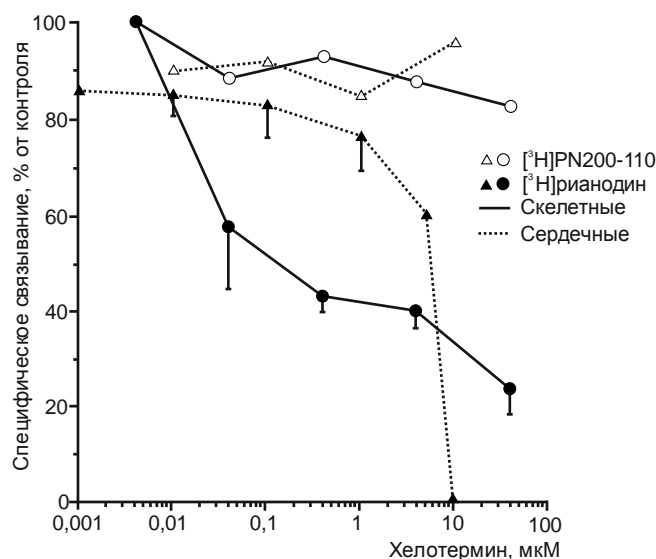


Рис. 22.5. Влияние хелотермина на специфическое связывание <sup>3</sup>H-рианодина и блокатора дигидропиридиновых рецепторов кальциевых каналов <sup>3</sup>H-PN200-110 саркоплазматическим ретикуломом сердечных и скелетных мышц (Morrissette et al., 1995)

Следует упомянуть, что именно хелотермин дал название новому классу богатых цистеином (CRISP-Vs) белков рептилий. Основываясь на первичной структуре хелотермина, семейство таких белков было названо *хелвепринами* (Helothermine-related Venom Proteins). Позднее такие белки CRISP-Vs (хелвеприны) были выделены из различных ядовитых змей, обитающих на разных континентах.

Напомним, что к охарактеризованным белкам CRISP-Vs относятся трифлин из яда куфии *Trimeresurus flavoviridis* (Viperidae, Азия), абломин из яда щитомордника *Agkistrodon blomhoffi* (Viperidae, Азия), псевдехетоксин из яда *Pseudechis australis* (Elapidae, Австралия), офанин из яда королевской кобры *Ophiophagus hannah* (Elapidae, Азия), тигрин из яда тигрового ужа *Rhabdophis tigrinus tigrinus* (Colubridae, Азия) и др. Например, натрин из яда *Naja atra* взаимодействует как с кальций-активируемыми высокопроводящими калиевыми каналами, так и с потенциал-управляемыми калиевыми каналами Kv1.3. Хелвеприны, такие как абло-

<sup>191</sup> Рианодиновый рецептор (RyR) в мышечных клетках выполняет важнейшую функцию сопряжения потенциала действия с мышечным сокращением. Активность RyR модулируется растительным алкалоидом рианодином из коры *Ryania speciosa*, что и определило его название. В скелетных мышцах рианодиновые рецепторы активируются посредством специализированного механизма прямого электромеханического сопряжения, а сокращение сердечной мышцы запускается по механизму Ca<sup>2+</sup>-индуцированного выброса Ca<sup>2+</sup>.



мин, латиземин, офанин, трифлин и писциворин способны тормозить сокращение гладкой мускулатуры, вызываемое высокими концентрациями  $K^+$ , но не кофеином. Эти токсины известны также как блокаторы  $Ca^{2+}$  L-типа.

**Хелоспектины.** Хелоспектин-I состоит из 38 аминокислотных остатков, хелоспектин-II – из 37 аминокислотных остатков, оба стимулируют секрецию амилазы из ацинусов поджелудочной железы в 100 раз менее сильно, чем ВИП.

**Хелодермин** (35 аминокислотных остатков,  $M_r$  5900) обнаружен в яде *Heloderma suspectum* – сильный активатор аденилатциклазы, но не стимулирует секрецию амилазы. Хелодермин также взаимодействует с рецепторами ВИП в мембранах мозга крыс и сердца человека.

**Экседины.** Экседин-3 присутствует в яде *Heloderma horridum*, состоит из 39 аминокислотных остатков,  $M_r$  4200, стимулирует образование цАМФ и секрецию амилазы. Экседин-4 найден в яде *Heloderma suspectum*, состоит из 39 аминокислотных остатков,  $M_r$  4184. Нативный и синтетический экседин-4, в отличие от экседины-3, только стимулирует образование цАМФ, не влияя на секрецию амилазы. Экседины взаимодействуют с рецепторами глюкагон-подобного пептида-1 (GLP-1) в большинстве органов, а также усиливают секреторную активность холецистоккина (ССК).

**Эксенатид.** Особенность биологии *Heloderma suspectum* (жилатье), питающегося всего 4 раза в год, послужила основанием для предположения, что в организме ядозуба имеется вещество, контролирующее концентрацию сахара в крови – в противоположном случае резкое ее увеличение после каждого приема пищи неминуемо вызывало бы нарушения метаболизма животного. Было установлено, что таким веществом является мощный агонист рецепторов глюкагон-подобного пептида-1 (ГПП-1) экседин-4. Синтетический аналог экседины-4 под названием «Эксенатид» («Баета») (рис. 22.6) в настоящее время разрешен к применению для лечения сахарного диабета 2-го типа. Эксенатид является первым препаратом, относящимся к совершенно новому классу лекарственных средств для лечения сахарного диабета 2-го типа – миметиков инкретина, или глюкагон-подобного пептида-1. При гипергликемии введение эксенатида подавляет избыточную секрецию глюкагона и усиливает глюкозозависимую секрецию инсулина из бета-клеток поджелудочной железы. Усиленная секреция инсулина прекращается по мере снижения концентрации глюкозы в крови, при этом нормальный глюкагоновый ответ на гипогликемию не нарушается.



Рис. 22.6. Лекарственный препарат «Баета» для лечения сахарного диабета 2-го типа (Wikipedia Commons)

## 22.2. СЕМЕЙСТВО ВАРАНОВЫЕ (Varanidae)

Насчитывают около 70 видов, относящихся к одному роду *Varanus*. Обитают в Африке (отсутствуют на Мадагаскаре), Азии, Австралии. Большинство современных видов распространено в Австралии и Новой Гвинее. На территории бывшего СССР обитает только один вид – серый варан *Varanus griseus*, который населяет песчаные пустыни Средней Азии и Южного Казахстана, относясь к очень редким видам, включенным в международную Красную книгу. Самым крупным современным видом рода является комодский варан (*Varanus komodoensis*), достигающий 3 метров в длину (рис. 22.7). Наиболее мелкий вид – варан короткохвостый (*V. brevicauda*) длиной всего 28 см. Настоящие вараны образуют хорошо оформленную группу, представителей которой легко идентифицировать по вытянутому телу, удлиненной шее, полувыпрямленному положению конечностей и раздвоенному языку. Вараны отличаются от других ящериц полностью окостеневшим черепом. Зубная и пластинчатая кости отделены от остальных костей нижней челюсти вертикальным швом, формирующим подвижное сочленение. Зубы плевродонтные, обычно конические и острые, расширенные у основания. У форм, питающихся моллюсками, задние зубы расширенные и притупленные. У комодского варана около 60 очень острых зубов, часто сменяющихся на протяжении его жизни; зубы сильно сжаты с боков и обладают зазубренными режущими краями (рис. 22.8). Зубы варанов демонстрируют слабую лабиринтовую складчатость дентина, которая видна на поверхности как продольная исчерченность. На небных и крыловидных костях у современных варанов зубы отсутствуют. Язык длинный, спе-



Рис. 22.7. Комодский варан *Varanus komodoensis* (Wikipedia Commons)

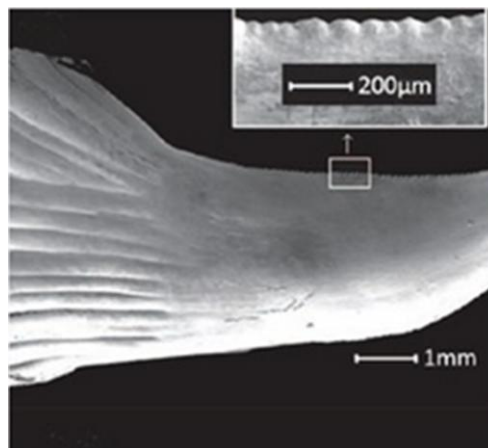


Рис. 22.8. Пильчатый зуб *Varanus komodoensis*, на врезке крупно показан режущий край (Fry et al., 2009)

реди глубоко раздвоенный, способен втягиваться в специальное влагалище, как у змей. Сравнительно крупные глаза расположены по бокам головы, хорошо развиты, с круглым зрачком и отдельными подвижными веками. Ушные отверстия открыты, большие. Вытянутая голова сидит на длинной шее, переходящей в удлиненное мощное тело. Хорошо развитые мускулистые пятипалые конечности снабжены изогнутыми когтями. Хвост сильный и довольно длинный. Полуводные виды используют хвост как основной орган передвижения при плавании, и у них хвост сильно сжат с боков, имеет в верхней части киль. У древесных видов хвост может быть цепким. Вараны могут использовать хвост и как орудие защиты, нанося им, словно кнутом, сильные удары. Чешуя мелкая, округлой или овальной формы. Вараны являются хищниками и питаются различными беспозвоночными и позвоночными животными: насекомыми, моллюсками, ракообразными, рыбой, амфибиями, ящерицами, змеями (в том числе ядовитыми), мелкими млекопитающими и птицами, а также яйцами птиц и рептилий.

Комодский варан может охотиться на таких крупных животных, как олени и дикие свиньи. Крупные взрослые комодские вараны питаются главным образом падалью, однако эту падаль они нередко получают необычным образом. Так, выследив в кустах оленя, кабана или буйвола, варан атакует и стремится нанести животному рваную рану, в которую заносится яд и множество бактерий из ротовой полости варана. Даже у самых крупных самцов варанов не хватает силы, чтобы сразу одолеть крупное копытное животное, но в результате такого нападения рана у жертвы воспаляется, наступает заражение крови, животное постепенно слабеет и через некоторое время погибает. Варанам остаётся только следовать за жертвой, пока она не умрёт. Время, за которое она гибнет, разнится в зависимости от её размеров. У буйвола смерть может наступить и через 3 недели. Вараны обладают хорошим обонянием и находят трупы по запаху с помощью длинного раздвоенного языка развитого органа Якобсона. Жертва убивается сжатием челюстей и энергичным встряхиванием, ударами о землю. Заглатыванию крупной добычи способствует относительно подвижное сочленение костей нижней челюсти. Лишь для варана Грея и смараг-

дового варана отмечено поедание растительной пищи – фруктов. Преимущественно растительноядным является карликовый варан. Мозговая коробка варанов, как и у змей, снизу защищена костями, предохраняющими мозг от возможного механического повреждения при заглатывании крупной добычи. Очень крупную жертву вараны могут расчленять, придерживая пищу передними лапами и отрывая куски зубами или, наоборот, удерживая в пасти и разрывая когтями передних лап.

### 22.2.1. Клиника отравления

Комодские вараны – один из потенциально опасных для человека видов, хотя они менее опасны, чем крокодилы или кошачьи, и прямой опасности для взрослых людей обычно не представляют. Тем не менее, известны несколько случаев нападения варанов на людей, когда вараны из-за какого-либо запаха принимали человека за привычную варану пищу (падаль, птиц и т.д.). Укусы комодских варанов крайне опасны. После укуса следует немедленно обратиться к врачу. Количество летальных исходов из-за несвоевременного оказания врачебной помощи (и, как результат, заражения крови) достигает 99%. Особенно уязвимы дети. Вараны вполне могут убить ребёнка младше 10 лет или нанести тяжёлые увечья. Известны случаи гибели детей от нападения варана. После укуса *Varanus komodoensis*, *V. varius*, *V. scalaris* быстро развиваются симптомы отравления: в течение нескольких минут возникает опухоль, пострадавший жалуется на головокружение, стреляющие боли (например от укушенных пальцев до локтя), наблюдаются местные нарушения в свертывании крови. Перечисленные симптомы могут иметь место в течение нескольких часов и указывают на токсигенное, а не бактериальное поражение.

В голодные годы, особенно в засуху, вараны близко подходят к поселениям. Особенно привлекает их запах человеческих экскрементов, рыбы и т.д. Хорошо известны случаи выкапывания варанами человеческих трупов из неглубоких могил. В последнее время, однако, мусульмане-индонезийцы, проживающие на островах, хоронят умерших, накрывая их плотными литыми цементными плитами, защищая от варанов. Егеря обычно отлавливают особей и перемещают их в другие районы острова. Убивать варанов запрещено законом. Поскольку взрослые вараны обладают очень хорошим обонянием, они могут определить местонахождение источника запаха крови на расстоянии до 5 км. Задокументировано несколько случаев, когда комодские вараны пытались напасть на туристов с небольшими открытыми ранениями или царапинами. Подобная опасность грозит и женщинам, которые посещают острова обитания комодских варанов, находясь в цикле менструации. Туристы, как правило, предупреждаются егерями о потенциальной опасности; все группы туристов обычно сопровождаются егерями, вооружёнными для обороны от возможных атак длинными шестами с раздвоенным концом.

Кожа крупных варанов используется в галантерейной промышленности для изготовления различных аксессуаров, предметов обуви и одежды. В некоторых странах эти ящерицы являются традиционными объектами промысла – их мясо и яйца употребляются в пищу местным населением.

Традиционно считалось, что последствия укусов комодского варана (воспаление в месте укуса, сепсис и т.д.) вызываются бактериями, обитающими в ротовой полости варана. В слюне варана обнаружены *Escherichia coli*, *Staphylococcus* sp., *Providencia* sp., *Proteus morgani* и *Proteus mirabilis*. Было выдвинуто предположение, что бактерии попадают в организм ящериц при питании падалью, а также при совместном кормлении от других варанов. Однако в пробах со слизистой ротовой полости, полученных от питающихся свежей пищей варанов, были обнаружены 57 различных штаммов бактерий, имеющих у диких варанов, включая возбудителя пастереллеза<sup>192</sup> *Pasteurella multocida*.

### 22.2.2. Ядовитый аппарат

В последнее время были получены убедительные доказательства в пользу токсигенной гипотезы отравления при укусе варанов, а также прибрежной агамы *Pogona barbata* – эффект так называемой мягкой интоксикации. Применение современных высокоинформативных методов исследований, в частности магнитно-резонансной томографии (МРТ), позволило установить наличие двух ядовитых желёз в нижней челюсти варанов<sup>193</sup>. Ядовитая железа варанов устроена более примитивно, чем у ядовитых змей. Железа расположена на нижней челюсти прямо под слюнными железами, её протоки открываются у основания зубов, а не выводятся сквозь особые каналы в ядовитых зубах, как у змей (рис. 22.9). В ротовой полости яд и слюна смешиваются с разлагающимися остатками пищи, образуя смесь, в которой размножается множество различных бактерий.

Некоторыми учёными для объединения змей, варанов, ядозубов, веретеницевых и игуанообразных предложена гипотетическая безранговая группа Toxicofera. Объединение основано на присутствии токсических компонентов в слюне и предполагает наличие для всех «ядовитых» групп одного предка (что не бесспорно). Полагают, что у комодского варана самые сложные ядовитые железы из всех известных на настоящий момент рептилий и что его ближайший вымерший предок мегалания<sup>194</sup> был самым крупным из когда-либо существовавших ядовитых животных.

Принимая максимальную длину мегалании в 7 м, ее масса была около 1940 кг, что близко к максимальному размеру современного гребнистого крокодила. Однако когда с помощью компьютерной техники было произведено сравнение силы давления в челюстях при укусе комодского варана и крокодила, обнаружилось, что укус варана намного слабее укуса крокодила. Полагают, что строение черепа варана плохо приспособлено для создания высокого давления при укусе, но гораздо лучше адаптировано для нагрузок, связанных с

---

<sup>192</sup> Пастереллёз (геморрагическая септицемия) – острая зоонозная инфекционная болезнь, для которой характерны лихорадка, интоксикация, воспаления кожи, подкожной клетчатки, артриты, остеомиелиты. Возбудителем пастереллёза является грамотрицательная неподвижная овоидная палочка *Pasteurella multocida*.

<sup>193</sup> Следует отметить, для установления этого факта пришлось удалить хирургическим путем железу у смертельно больного комодского варана из Сингапурского зоопарка.

<sup>194</sup> Мегалания (лат. *Megalania prisca* или *Varanus priscus*) – крупнейшая из известных науке наземных ящериц. Мегалания относилась к семейству варанов (*Varanidae*), которое включает в наше время всего один род *Varanus* с множеством видов.

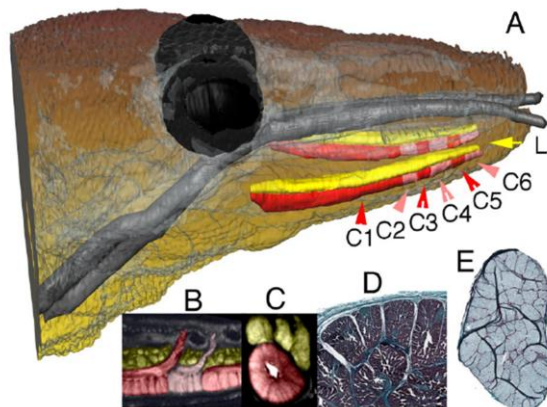


Рис. 22.9. Ядовитый аппарат комодского варана *Varanus komodoensis*. А – магнитно-резонансная томография головы варана. Показана нижнечелюстная железа, секретирующая яд с 6 долями, попеременно окрашенными красным и розовым цветом (С1–С6). Инфралабиальная мускусная железа окрашена желтым цветом; В – продольный разрез ядовитой железы. Показаны большие протоки, выходящие из каждой доли и разделенные зубными промежутками (черные овалы). С–Е – поперечные срезы ядовитой железы (Fry et al., 2009)

удержанием и разрывом тканей жертвы. По-видимому наличие ядовитых желез и особых заостренных зубов, создающих глубокие надрезы для введения яда, компенсируют варану слабый укус. Таким образом, эффективность укуса комодского варана (*Varanus komodoensis*) объясняется сочетанием специализированных пилообразных зубов и яда, что опровергает широко распространенное мнение, согласно которому добыча умирает от сепсиса, вызванного токсичными бактериями, живущими во рту варана.

### 22.2.3. Химический состав и механизмы действия яда

Токсические компоненты яда вызывают торможение свёртывания крови, падение кровяного давления, паралич мышц и развитие гипотермии, ведущих к шоку и потере сознания у укушенной жертвы. В частности, гипотензивный эффект яда (рис. 22.10) объясняет развитие шока у жертвы и ее иммобилизацию.

Выделенные яда варанов токсины ответственны за наиболее хорошо изученные патологические эффекты: гиполокомоцию, гипотонию, гипотермию, иммуномодулирующее действие, кишечные спазмы, мионекроз, паралич периферических гладких мышц, активацию комплемента, гипералгезию (рис. 22.11, табл. 22.2). Фосфолипаза  $A_2$  из яда ядозуба блокирует агрегацию тромбоцитов. Глубокая гипотензия может быть связана с эффектами калликрейна и натрийуретического токсина, что, в свою очередь, ведет к потере сознания, которое может усугубляться профузным кровотечением вследствие антиагрегационного действия фосфолипазы  $A_2$ .

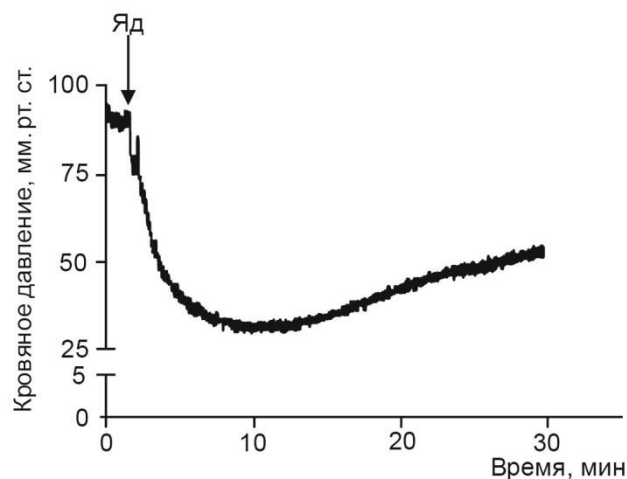


Рис. 22.10. Влияние внутривенного введения целого яда (1 мг/кг) *V. varius* на артериальное давление наркотизированной крысы (Fry et al., 2006)

Таблица 22.2

**Токсические эффекты компонентов яда варанов**

Тип токсинов	Токсический эффект
AVIT	Вызывают сильное сокращение гладких мышц, приводящее к болезненным спазмам и гипералгезии
CRISP	Вызывают паралич периферической гладкой мускулатуры, гипотермию, блокируют $Ca^{2+}$ -каналы L-типа и $Ca^{2+}$ -активируемые калиевые каналы большой проводимости
Калликреин	Увеличивает сосудистую проницаемость и вызывает гипотензию, участвует в развитии воспаления
Натрийуретический пептид	Вызывает сильную гипотензию, приводящую к потере сознания
Фосфолипаза $A_2$ (тип III)	Оказывает антикоагулянтное действие за счет торможения агрегации тромбоцитов

Некоторые токсины хотя и не оказывают летального эффекта, но также усиливают тяжесть отравления, например в результате гипералгезии или спазмов, вызываемых токсинами семейства AVIT. Тем не менее есть мнение, что основная функция яда варанов заключается не в защите, а в повышении скорости и эффективности переваривания пищи.

В железе взрослого комодского варана, достигающего размера до 3 м, может содержаться до 6 мл жидкого яда, или 1 г сухого остатка. Интересно, что при кормлении варана только яйцами наблюдается редукция и атрофия ядовитого аппарата, что указывает на большие биоэнергетические затраты на поддержание его в активном состоянии. В целом, яд усиливает эффекты механического повреждения тканей жертвы благодаря антикоагулянтному эффекту (фосфолипаза  $A_2$ ) и шоку, вызванному падением АД (CRISP, калликреин, натрийуретический пептид), с последующей иммобилизацией жертвы в результате гипералгезии и спазмов (AVIT-токсины).

1 GAFTMPGTVWCAGDSASDFSDLGAFQGPDSCCQHQDQCSVQITALQRKHGIFNLRPYTISHCDCDTRFTRCLMDLNDTIAD-SW  
 ITGGQECNEDSHPWLVLLYAEASFMCGATLLNQDWVLTAAHCYDSRPIHLYFGIHNTKQPRGHEQARDAVSTFCYPDSPGTTNSSCPSFRL-----  
 2 DRGDDI-MLIKLNASVTYNEHIAPMAL  
 ITGGEECNEDSHPWLVVIYTEANTMCGATLLNQDWVLTAAHCYKRGKIWLNFVHNREQARGDEEVREAVGTFCYPDSPGTTNSSCPCFRL-----  
 3 DRGDDI-MLIKLNASVTYNEHIAPMAL  
 ITGGQECDETGHPWLALLHRSEGSTWSGVLLNRDWILTAAHCEELGPMKICFGMKNRNVLRGDEQVKVAAVKKCYPATAG-  
 4 TIYNCNYVNTVLMNNDLLKRELFPMLIKLDSSVDYNERVAPLSL  
 GFGPTIPGVMVGHYTQVVWYKSYKVGCAINLCPAQL-  
 5 KYFQVCQYCPGGNVAGRKYEPYTI GEPCAACPKDCDNLCTNPCAYNDDYTSCPDLTQVGCNHPV---TANCKASCQCTTEIQ  
 NYGPTAQNVMI GHYTQVVWYKSYEVGCAINYCPDQPTYKYYQVCYCPGGNIRSRKYTPYSIGPPCGDCPDACDNLCTNPCKQNDVYNNCPDLKKQVGCCH-  
 6 -P-IMKDCMATCKCLTEIK

Рис. 22.11. Выровненные аминокислотные последовательности биоактивных полипептидов из ядовитого секрета варанов и ядозубов (Fry et al., 2006):  
 1 – фосфолипаза A<sub>2</sub> из яда *Varanus varius* и *Heloderma suspectum*; 2 – калликреин из яда *Varanus mitchelli*; 3 – калликреин из яда *Varanus acanthurus*;  
 4 – калликреин из яда *Heloderma horridum*; 5 – CRISP-токсин из яда *Varanus variu*; 6 – CRISP-токсин из яда *Heloderma horridum*



Если учесть, что яд в дозе 0.1 мг/кг вызывает глубокую гипотензию, а в дозе 0.4 мг/кг приводит к сосудистому коллапсу, то запаса яда у взрослого комодского варана вполне достаточно, чтобы вызвать шок и полную иммобилизацию оленя массой 40 кг, для чего потребуется всего лишь 16 мг яда.

\* \* \*

Подведем некоторые итоги рассмотрения ядов рептилий. Основное внимание в этой главе было уделено ядам змей не только потому, что среди них встречается наибольшее число ядовитых видов, но главным образом в связи с высокой эффективностью действия их ядов. Среди ящериц, как известно, ядовитыми железами обладают только ядозубы и вараны, однако общий ферментный состав ядов змей и ящериц указывает на единство их происхождения от общего предка. Широкий спектр ферментов, встречающихся в ядах рептилий, не случаен, а обусловлен тесной филогенетической связью ядовитых желез с экзокринными железами пищеварительного тракта. Так, специализация слюнных желез привела к их способности вырабатывать наряду с ферментами и неэнзиматические полипептиды, обладающие нейротоксическим действием. Таким образом, секрет слюнных желез приобрел качественно новое свойство, основным назначением которого стало не столько переваривание пищи, сколько обездвиживание жертвы. Змеи, как известно, питаются животной пищей, заглатывая ее целиком. Такой способ питания неизбежно требует предварительной иммобилизации добычи, особенно если речь идет о крупных объектах. Змеи обездвигивают жертву двумя основными способами: более древним – удушающим, сжимая ее кольцами своего тела, и более совершенным – с помощью яда. По мнению зоологов, ядовитость как массовое явление возникло у змей сравнительно поздно – в миоцене. Обездвиживающее, парализующее действие яда несомненно имеет приспособительное значение, однако достигаться этот эффект может за счет различных физиологических механизмов. Яркий пример высокого уровня специализации и вместе с тем эффективности поражающего действия демонстрируют змеиные яды. В состав их входят нейротоксины, избирательно действующие на различные звенья нервно-мышечной передачи, начиная от секреции медиатора (пресинаптические нейротоксины) до его взаимодействия с холинорецептором (постсинаптические нейротоксины). Кроме того, в состав змеиных ядов, как правило, входит ацетилхолинэстераза, гидролизующая ацетилхолин, что также ведет к нарушению нервно-мышечной передачи. Наконец, в ядах содержатся деполяризующие полипептиды (цитотоксины, кардиотоксины), действие которых ускоряется в присутствии традиционного фермента змеиных ядов – фосфолипазы A<sub>2</sub>. Действие каждого из токсинов может привести к нарушению нервно-мышечной передачи, тем более эффективным должно быть блокирующее влияние целого яда, содержащего все эти токсические компоненты.

Увеличение молекулярной массы токсинов ведет к появлению качественно новых свойств – пресинаптического характера действия. Эти токсины имеют определенную гомологию с нетоксическими панкреатическими фосфолипазами, что указывает на возможную общность их происхождения. Пресинаптические токсины – обычно комплексы, состоящие из нескольких субъединиц, одна из которых обладает фосфолипазной активностью. Если постсинаптические токсины

характерны для ядов элапид и морских змей, то пресинаптические токсины встречаются как у филогенетически древних (элапиды), так и у филогенетически сравнительно молодых форм (гадюки и ямкоголовые змеи). Другим существенным отличием ядов гадюк и ямкоголовых следует считать наличие мощной системы протеолитических ферментов, вызывающих коагулопатию и деструкцию тканей. Нейротоксическое действие змеиных ядов в сочетании с их способностью поражать систему крови и кровообращения вызывает процессы дезинтеграции на клеточном, органном и организменном уровнях и может быстро привести животное или человека к гибели.

Ядовитость ужеобразных змей довольно редка и относится скорее к исключению, чем к правилу. Среди них встречаются как виды с прокоагулянтными ядами (бумсланг и др.), что сближает их с гадюками и гремучниками, так и виды с нейротоксическими ядами (бойга), имеющими сходство с ядом элапид, – оба эти примера иллюстрируют параллелизм в эволюции змей. Изучение ядов ядозубов и варанов уже принесло немало сюрпризов и сулит большие перспективы в экспериментальной биологии и медицине.

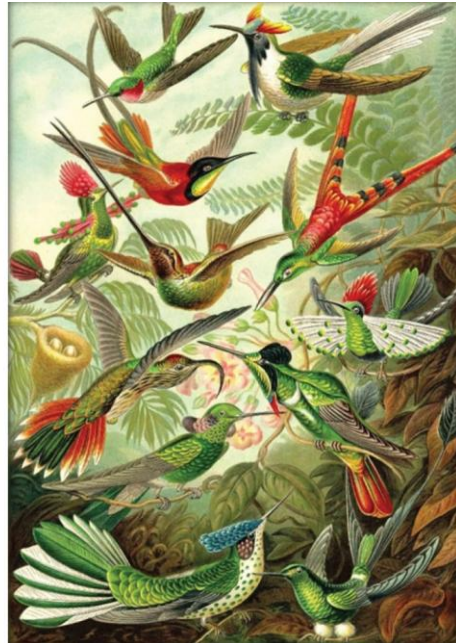
Успехи в экспериментальном изучении ядов рептилий послужили мощным стимулом для создания эффективных противоядий, где на первом месте стоят моно- и поливалентные сыворотки, хотя их отрицательное побочное действие (анафилаксия) не снимает с повестки дня разработку средств неспецифической терапии.

Яды рептилий – одна из кладовых природы, из тайников которой уже удалось добыть уникальные «инструменты» для изучения принципов организации биосистем и новые лекарства, но сокровища эти далеко еще не исчерпаны.

МЛЕКОПИТАЮЩИЕ (Mammalia)  
И ПТИЦЫ (Aves)

Всякую птицу чистую еште.

*Втор. 14:17*



Э. Геккель, 1904

### 23.1. ЯДОВИТЫЕ МЛЕКОПИТАЮЩИЕ

**М**лекопитающие (Mammalia) – класс наиболее высокоорганизованных теплокровных позвоночных животных, которым свойственно живорождение (за исключением однопроходных) и выкармливание детенышей молоком. Благодаря этому млекопитающие смогли заселить практически всю сушу земного шара и Мировой океан, а приспособление к активному полету (рукокрылые) позволило им освоить и воздушную среду обитания.

Современная фауна млекопитающих насчитывает около 4500 видов, которые объединяются в два очень неравноценных по объему подкласса: Яйцекладущие млекопитающие (или первозвери) – Prototheria с отрядом Однопроходные Monotremata – и Живородящие млекопитающие Theria, включающие все остальное видовое разнообразие.

Ядовитость в общем не свойственна представителям данного класса и встречается лишь в некоторых наиболее примитивных отрядах. Видимо, это можно объяснить тем, что высокое совершенство нервной системы у прогрессивных отрядов млекопитающих по сравнению со всеми предшествующими классами позвоночных позволило им выработать достаточно эффективные средства защиты и способы нападения путем различных рефлекторных и поведенческих реакций. В провинции Альберта (Канада) найдены костные останки ископаемого млекопитающего *Bizonalveus braun* (возраст 60 млн лет), клыки которого имеют бороздки, возможно способствовавшие введению ядовитого секрета в тело врага или жертвы.

#### 23.1.1. Яйцекладущие млекопитающие (Prototheria)

В единственный отряд подкласса входит всего 6 современных видов, объединяемых в 2 семейства: утконосы Ornithorhynchidae с 1 видом *Ornithorhynchus anatinus* и ехидны *Tachyglossidae* – 2 рода с 5 видами. Большое своеобразие организации однопроходных и история их развития позволяют в настоящее время говорить о целесообразности выделения этой группы в самостоятельный класс позвоночных животных.

Распространение однопроходных ограничено Австралией, Тасманией и Новой Гвинеей (рис. 23.1). Встречаются они в лесах, кустарниках и на открытых пространствах, поднимаясь в горы до 2,5 тыс. м над уровнем моря.

Ведут при этом либо наземный (ехидны), либо полуводный (утконос) образ жизни. Тело ехидны покрыто грубым волосом и иглами, а утконоса – мягким мехом. Длина тела ехидн не превышает 80 см, утконоса – 45 см.

Утконос был открыт в XVIII в. во время колонизации Нового Южного Уэльса. В опубликованном в 1802 г. списке животных этой колонии упоминается «животное-амфибия из рода кротов». Наиболее любопытное его качество – это то, что он обладает вместо обычного рта утиным клювом, позволяющим ему питаться в иле, как птицам» (рис. 23.2).

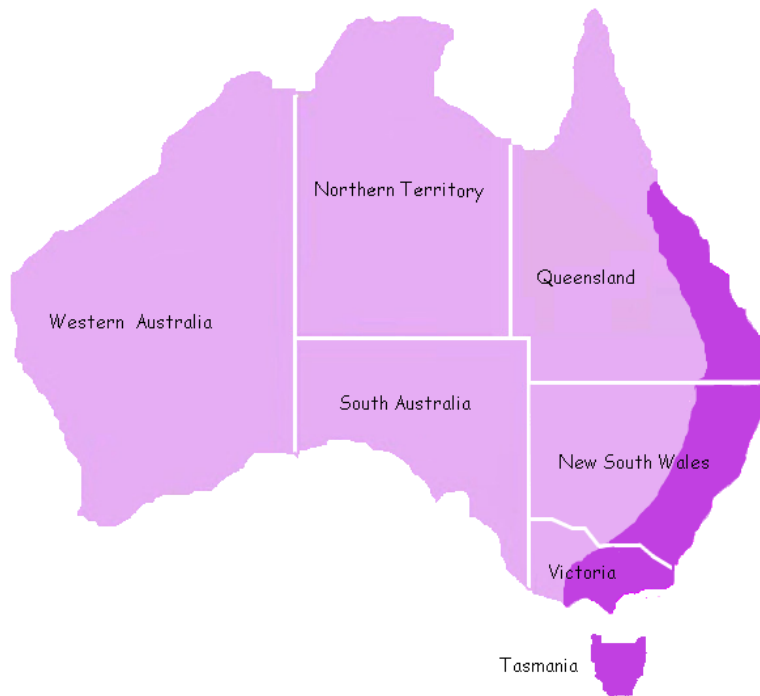


Рис. 23.1. Ареал утконоса *Ornithorhynchus anatinus*  
(Wikipedia Commons)



Рис. 23.2. Голова и нос утконоса (Wikipedia Commons)



Рис. 23.3. Утконос *Ornithorhynchus anatinus* (Wikipedia Commons)

Длина тела утконоса 30–45 см, хвоста – 10–15 см, весит он до 2 кг (рис. 23.3). Самцы примерно на треть крупнее самок. Тело у утконоса приземистое, коротконогое; хвост уплощённый, похож на хвост бобра, но покрыт шерстью, которая с возрастом заметно редет. В хвосте утконоса, как у тасманского дьявола (*Sarcophilus lanianus*), откладываются запасы жира. мех у него густой, мягкий, обычно тёмно-коричневый на спине и рыжеватый или серый на брюхе. Голова круглая. Впереди лицевой отдел вытянут в плоский клюв длиной около 65 мм, шириной 50 мм. Клюв не жёсткий как у птиц, а мягкий, покрытый эластичной голой кожей, которая натянута на две тонкие, длинные, дугообразные косточки. Ротовая полость расширена в защечные мешки, в которых во время кормёжки запасается пища. Внизу у основания клюва самцы имеют специфическую железу, продуцирующую секрецию с мускусным запахом. У молодых утконосов имеется 8 зубов, однако они непрочные и быстро стираются, сменяясь ороговевшими пластинками.

Лапы у утконоса пятипалые, приспособленные как для плавания, так и для рытья земли. Плавательная перепонка на передних лапах выдаётся перед пальцами, но может подгибаться таким образом, что когти оказываются выставленными наружу, превращая плавательную конечность в копательную. Перепонки на задних лапах развиты намного слабее; для плавания утконос использует не задние лапы, как другие полуводные звери, а передние. Задние лапы в воде выступают в роли руля, а хвост служит стабилизатором. Походка утконоса на суше больше напоминает походку рептилии – ноги он ставит по бокам тела. Носовые отверстия у него открываются на верхней стороне клюва. Ушных раковин нет. Глаза и ушные отверстия расположены в желобках по сторонам головы. Когда животное ныряет, края этих желобков, как и клапаны ноздрей, смыкаются, так что под водой у него не действуют ни зрение, ни слух, ни обоняние. Однако кожа клюва богата нервными окончаниями, и это обеспечивает утконосу не только высоко развитое осязание, но и способность к электролокации. Электрорецепторы клюва могут обнаруживать слабые электрические поля, которые возникают, например, при сокращении мускулатуры ракообразных, что помогает утконосу в поисках добычи. Отыскивая её, утконос во время подводной охоты непрерывно водит головой из стороны в сторону.

Замечательной особенностью всех представителей подкласса является размножение путем откладки яиц, покрытых мягкой оболочкой и имеющих размер около 1.5 см, которые вынашиваются у ехидны самкой в сумке на брюхе, а у утконоса высиживаются в гнезде. Появляющиеся детеныши выкармливаются молоком, которое они слизывают с млечных путей на брюхе самки.

### 23.1.1.1. Ядовитый аппарат

У ехидн и утконосов ядовитый аппарат представлен бедренной железой, которая протоком соединяется со шпорой, расположенной на запястье задней лапы с внутренней стороны (рис. 23.4). У утконоса железа имеет почковидную форму, уплощённую в дорсовентральном направлении. Размеры железы составляют  $3 \times 2 \times 1,5$  см. Выходящий из железы проток идет вместе с нервно-сосудистым пучком и в области шпоры расширяется, образуя пузырек, лежащий глубоко в тканях. Длина протока около 5 см при внешнем диаметре  $\sim 2$  мм. Проток не имеет собственных мышечных стенок и выстлан 4–5 слоями эпителия.

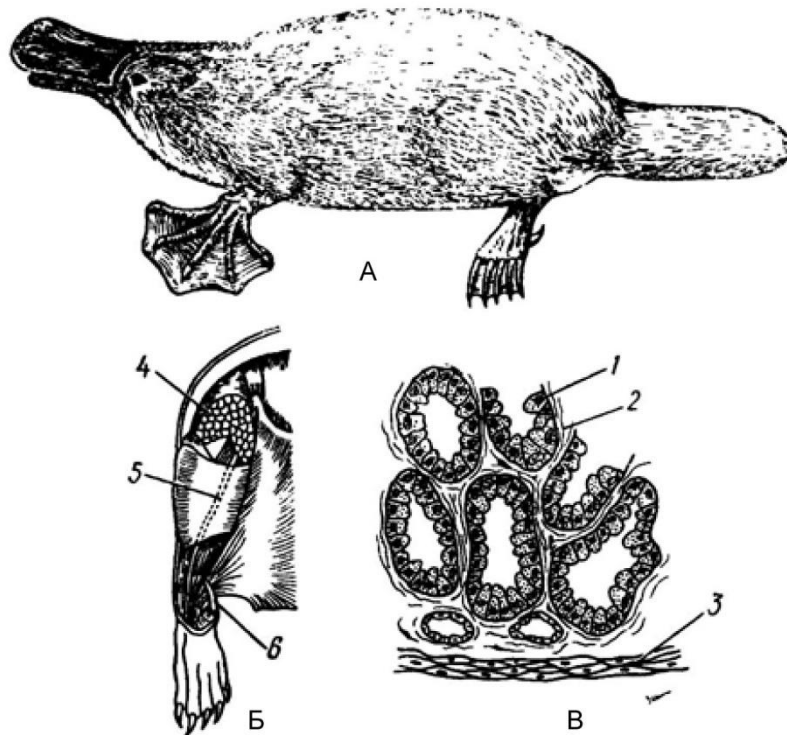


Рис. 23.4. Утконос *Ornithorhynchus anatinus* (Физали, 1922): А – внешний вид; Б – ядовитый аппарат; В – поперечный срез ядовитой железы: 1 – железистые клетки; 2 – фиброзная ткань; 3 – мышечный слой; 4 – бедренная железа; 5 – проток железы; 6 – шпора

Ядовитая железа характеризуется альвеолярным строением. Альвеолы выстланы однослойным железистым эпителием, лежащим на базальной мембране. Эпителиальные клетки крупные, неправильной формы, с утолщенной нижней частью и заполнены зернистой цитоплазмой. Ядовитый секрет хранится в просвете альвеол. Каждая альвеола окружена стромой из фиброзной ткани. В свою очередь железа заключена в капсулу, образованную 3–4 мышечными слоями.

Ранящий аппарат представлен толстой, слегка загнутой острой шпорой светло-желтого цвета. Развитая шпора присутствует только у самцов, у молодых самок шпора находится в рудиментарном состоянии и отсутствует у половозрелых самок. У последних имеется лишь небольшое углубление, куда может помещаться шпора самца при совокуплении, что и послужило основанием для утверждения некоторыми зоологами о вспомогательных репродуктивных функциях шпор. Согласно другим представлениям, шпора имеет защитное значение, компенсируя отсутствие зубов; но тогда остается не ясным отсутствие шпоры у самок. Н.Н. Дроздов (1980) указывает, что случайное поражение самцом утконоса самки привело ее к быстрой гибели. Эффективность ядовитого секрета утконоса для естественных врагов – варанов, крупных змей, водных крыс – практически не изучена.

#### 23.1.1.2. Химический состав и механизмы действия яда

Немногочисленные наблюдения поражения людей и экспериментальных животных ядом утконоса указывают, что его шпора является довольно эффективным средством защиты. Токсичность секрета носит сезонный характер, максимальна в июне перед началом половой активности, в апреле секрет малотоксичен. Ядовитый секрет имеет белковую природу, термолабилен, вызывает коагуляцию плазмы в отсутствие кальция, но гемолитической активностью не обладает. Подкожное введение этанольных экстрактов ядовитой железы кроликам и собакам вызывает развитие обширных отеков, спадающих через несколько дней. Отравленные животные становятся вялыми, угнетенными, отказываются от пищи. При поражении человека также отмечены отеки, сопровождающиеся нарушениями в сердечно-сосудистой системе. У людей смертельные случаи не зарегистрированы, однако есть указания, что собаки иногда гибнут во время охоты на утконосов. Впрочем, и утконосы могут стать жертвой собак.

При изучении острой токсичности яда утконоса на кроликах было установлено, что внутривенное введение яда в дозе 20–60 мг на животное вызывает выраженные сдвиги со стороны сердечно-сосудистой системы и дыхания. Уже через несколько секунд после введения яда наблюдаются резкая гипотензия, брадикардия и одышка. При введении больших доз смерть наступает через 90 с.

Из яда *Ornithorhynchus anatinus* был выделен натрийуретический пептид (ovCNP-39), вызывающий расслабление гладкой мускулатуры матки крыс *in vitro*. С этим пептидом связывают развитие острых эффектов поражения ядом утконоса, в том числе отеков, боли и эритемы. Установлено, что ovCNP-39, как и его эндогенный аналог, вызывает отек лапы и высвобождение гистамина из перитонеальных тучных клеток крыс.

Молекулярно-генетическими методами охарактеризованы 83 гена утконоса, которые потенциально могут быть ответственны за эффекты, аналогичные по крайней мере тринадцати семействам токсинов, известных для других ядовитых позвоночных (рыб, рептилий, насекомоядных) и беспозвоночных (пауков, актиний, морских



звезд) животных. Таким образом, требуются тщательные экспериментальные исследования, чтобы подтвердить или опровергнуть наличие того или иного вида токсичности. Подобные ансамбли токсичных белковых молекул можно рассматривать как еще одно свидетельство в пользу гипотезы о существовании «природных комбинаторных библиотек» биологически активных веществ. Такие «библиотеки» позволяют реализовывать ядовитым животным различные жизненные стратегии как в отношении выбора потенциальных жертв с относительно низкой устойчивостью к яду, так и возможности отбора селективно действующих токсинов.

### 23.1.2. Живородящие млекопитающие (Theria)

Подкласс разделяется на два инфракласса: сумчатые Metatheria с одним отрядом Marsupialis и плацентарные Eutheria с 18 отрядами. Среди сумчатых, населяющих Австралию, Южную и Центральную Америку и ряд островов, ядовитые представители не известны. У плацентарных указания на ядовитость относятся лишь к некоторым представителям наиболее примитивной группы насекомоядных<sup>195</sup> (Insectivora), предки которых считаются исходной группой для всех плацентарных.

Имеются указания, что слюна отдельных видов насекомоядных обладает нейротоксическим действием. При этом среди слюнных желез, продуцирующих ядовитый секрет, чаще называют подчелюстную. Все известные представители насекомоядных, обладающих ядовитостью, относятся к 2 семействам: щелезубы и землеройки.

**Семейство Щелезубы (Solenodontidae)** представлено в современной фауне всего 2 видами: гаитянский, или парадоксальный щелезуб *Solenodon paradoxus* и кубинский *S. cubanus*, видовые названия которых отражают их распространение – соответственно на островах Гаити и Куба. Научное название этого семейства происходит от греч. *solen-* (щель, канал) и *-odon* (зуб).

Внешне щелезубы напоминают очень крупных землероек на высоких ногах. Это сравнительно крупные для насекомоядных звери: длина тела 28–32 см, хвоста 17.5–25.5 см, масса до 1 кг. Тело покрыто мехом красновато-коричневого или чёрного цвета. Хвост почти голый, чешуйчатый. Морда узкая, вытянутая в хоботок, на конце безволосая; ноздри открываются по бокам рыла. Глаза маленькие. Уши частично безволосые. Пальцев на всех конечностях по 5; они снабжены когтями, которые на передних лапах длиннее и крепче (рис. 23.5). В позднем мезозое и начале кайнозоя щелезубы были широко распространены в Северной Америке и на островах Карибского бассейна. Сейчас встречаются только на Кубе и на Гаити, где обитают в горных лесах, кустарниковых зарослях, изредка заходя на плантации. Ведут наземный образ жизни, активны по ночам. Днём спят в естественных укрытиях или в норах. Питаются как животной, так и растительной пищей: беспозвоночными, мел-

---

<sup>195</sup> Насекомоядные (лат. Insectivora) – полифилетическая группа плацентарных млекопитающих, ранее рассматривавшаяся в ранге отряда. Согласно одной из современных точек зрения, должна подразделяться на три самостоятельных отряда: Afrosoricida, Erinaceomorpha и Soricomorpha. Некоторые российские исследователи продолжают использовать название «насекомоядные», обозначая им таксон Eulipotyphla, включающий землероек, щелезубов, кротов и ежей (то есть Erinaceomorpha и Soricomorpha).



Рис. 23.5. Гаитянский щелезуб *Solenodon paradoxus* (Wikipedia Commons)

кими ящерицами, плодами, а также падалью. По некоторым сведениям, нападают на домашнюю птицу. Пищу разыскивают, копаясь мордой и лапами в рыхлой почве и листовом опаде. Во время еды зверёк садится, опираясь на ступни и основание хвоста, и держит пищу передними лапами. Неуклюжи, но бегают довольно быстро; способны неплохо лазать. Весьма агрессивны; в неволе легко приходят в ярость и даже бросаются на человека.

Оба вида щелезубов малочисленны и внесены в Международную Красную книгу со статусом «находящиеся под угрозой вымирания» (Endangered). Несмотря на всеядность и скрытный образ жизни, щелезубы находятся на грани вымирания. Причиной этому является низкая скорость размножения в сочетании с уничтожением привычной среды обитания (лесов) и нападениями интродуцированных хищников: крыс (*Rattus*), собак, кошек и особенно мангустов (*Herpestes auroripunctatus*). До европейской колонизации щелезубы почти не имели естественных врагов, поэтому они не выработали средств защиты против хищников; они довольно медлительны и неуклюжи, при опасности порой просто замирают, вместо того чтобы спастись бегством. Гаитянский щелезуб быстро вымирает; кубинский считался вымершим, пока в 2003 году не был пойман живой экземпляр.

Свое название получили за особенность строения зубов – второй резец нижней челюсти имеет на внутренней стороне глубокую бороздку или щель, к которой подходит проток подчелюстной железы, выделяющей ядовитый секрет. Щелезубы поедают в основном различных беспозвоночных и мелких позвоночных животных, но употребляют и растительную пищу. Отмечается, что щелезубы не обладают иммунитетом к собственному яду, так как неоднократно наблюдалась гибель зверьков во время драк даже при незначительных ранениях.

**Семейство Землеройковые (Soricidae).** Это семейство – наиболее обширное в отряде по числу представителей (около 270 видов), но ряд родов и видов требует ревизии. Ареал семейства совпадает с ареалом отряда. При этом они могут заселять самые разнообразные ландшафты, но отмечается определенное предпочтение влажным биотопам. Землеройки (Soricidae) – семейство мелких зверей отряда Землеройкообразные, куда также входят кроты, щелезубы и выхухоли. Землеройки делятся на подсемейства Бурозубки (Soricinae) и Белозубки (Crocidurinae). Внешне землеройки похожи на грызунов, но с длинным узким рыльцем. Известны с середины эоцена (45 млн лет назад) в Северной Америке, в Евразии окаменелости датируются ранним олигоценом (34 млн лет назад), а в Африке землеройки находятся со среднего миоцена (14 млн лет назад).

Бурозубки (лат. Soricinae) – подсемейство небольших млекопитающих, принадлежащее к семейству Землеройковые (Soricidae), отряду Землеройкообразные (Soricomorpha). Подсемейство насчитывает не менее 163 видов (и более двухсот с подвидами). Наиболее большой и известный род – *Sorex* (триба Soricini), который так и называется: бурозубки. Водятся бурозубки преимущественно в Северной Америке, Северной Азии и Европе. В фауне Российской Федерации землеройки представлены в основном бурозубками.

Название бурозубки дано им за то, что эмаль кончиков их зубов окрашена красно-бурым цветом из-за железного пигмента. В английском языке их называют краснозубыми землеройками (red-toothed shrews). А четырёх (с подвидами шесть) бурозубок рода *Episoriculus* и одну из рода *Chodsigoa* зовут «brown-toothed shrew» (все живут в Южной Азии: южная граница Китая, Бирма, Непал и Вьетнам, а *Episoriculus fumidus* – на Тайване). У края зуба цвет чёрно-красный, в месте контакта с белой частью окрас оранжево-красный. Покрытие эмали железом позволяет упрочить эмаль в частях зубов, наиболее подлежащих износу, а именно – их острые кончики.

Челюсти землероек, вооруженные остробугорчатыми зубами, действуют как зазубренный пинцет, позволяющий схватывать и удерживать подвижную добычу – насекомых, которые составляют основу рациона большинства видов. В литературе имеются указания, что слюна некоторых видов (*Neomys*, *Cryptotis*, *Blarina*, *Sorex*) обладает нейротоксическим действием. Однако специальные исследования химического состава яда и механизмов его действия практически неизвестны. Описываются лишь фактические наблюдения парализующего действия слюны землероек при охоте на амфибий.

Несмотря на малые размеры (рис. 23.6), это свирепые хищники, безжалостно убивающие мышей, лягушек, насекомых и червей. Маленькие зверьки землеройки очень быстро остывают на холоде, поэтому для поддержания постоянной температуры тела им приходится очень много есть. Как известно, уровень обмена веществ у представителей семейства Soricidae наиболее высокий среди млекопитающих. В отличие от белозубок, у бурозубок практически отсутствует явление торпора. Таким образом, землеройки-бурозубки нуждаются в постоянном приеме пищи. Хорошо известно, что без пищи они могут просуществовать не более 1–3 ч. Бурозубки съедают за сутки вчетверо больше, чем весят сами. Очень большая интенсивность обмена веществ этих крошечных зверьков проявляется в том, что из всех млекопитающих у них самая большая



Рис. 23.6. Короткохвостая бурозубка (*Blarina carolinensis*) (Wikipedia Commons)

потребность в кислороде и самая высокая температура тела – свыше 40°C. Частота сердцебиения у них более 1000 ударов в минуту (у людей 70). Интенсивный обмен веществ вызывает быстрое старение организма землеройки. Этим объясняется их недолгая жизнь, обычно не больше 15 месяцев. Короткая жизнь и высокая смертность компенсируются обильным размножением. Землеройка очень агрессивна и может напасть на более крупных животных. Питаются землеройки членистоногими (насекомыми, пауками, скорпионами), слизняками, червями, змеями, ящерицами. Иногда (некоторые виды) также и семенами (зимой), и другими землеройками.

Считается, что бурозубки высокоагрессивные, территориальные животные, и именно эта особенность освоения пространства позволяет им успешно существовать. Однако заметим, что *S. araneus* сам по себе не является однородным видом. Таким образом, переносить полученные для *S. araneus* результаты на все остальные виды рода не вполне корректно. Молодые бурозубки разных видов в возрасте примерно до 1 месяца отличаются миролюбивым поведением. У них наблюдаются реакции коллективного обогрева и совместного использования несколькими особями одного убежища. Для *S. cinereus* и *S. araneus* описана такая редкая для бурозубок форма поведения как образование «караванчиков».

Изолированность участков *S. araneus* обеспечивается высокой агрессивностью этого вида. Все авторы, изучавшие его поведение в эксперименте, отмечали высокую частоту агрессивных столкновений. Схватки между зверьками часто приводят к гибели одного из участников. Однако высокая агрессивность взаимодействий не является общей чертой поведения для всех землероек рода *Sorex*. Миролюбивые взаимодействия при столкновениях на нейтральной территории описаны

у *S. caecutiens*. Поведение некоторых видов землероек-бурозубок в группах также характеризуется достаточно высокой миролюбивостью.

Короткохвостая бурозубка (*Blarina brevicauda*), живущая в США и Канаде, – одно из пяти ядовитых млекопитающих наряду с утконосом и щелезубами. Возможно ядовиты и некоторые другие землеройки. Имеются данные о чрезвычайной стреляющей боли в месте укуса наряду с краснотой и опухолью, длительностью в несколько дней. Лошади, покусанные землеройками, покрывались пузырями.

Американские короткохвостые бурозубки представляют собой группу сравнительно больших ядовитых землероек с относительно короткими хвостами, обитающую в Северной Америке. Слюна этих животных является токсичной и используется для того, чтобы убить добычу. Яд у них вырабатывается в подчелюстной слюнной железе и при укусе попадает в ранку жертвы. Воздействуя на нервную систему добычи, он позволяет этим мелким зверькам (длина тела американской короткохвостой бурозубки составляет 8–10 см, а масса – 15–30 г) справляться с животными, превышающими их по размеру.

Вполне возможно, что приобретение ядовитости секрета слюнных желез низшими млекопитающими является одним из приспособлений к охоте на подвижную и, по сравнению с размерами хищника, крупную жертву.

## 23.2. ЯДОВИТЫЕ ПТИЦЫ

Птицы (*Aves*) – класс теплокровных яйцекладущих позвоночных животных. Представляют собой хорошо обособленную группу, одним из наиболее характерных признаков представителей которой является покров из перьев, предохраняющий тело от неблагоприятных изменений температуры и играющий важную роль при полёте. Способность к полёту является главной особенностью птиц (отсутствие такой способности у некоторых современных птиц – вторичное явление). Верхние конечности приобрели форму крыльев. Птицы обладают особым строением органов дыхания и пищеварения, что тесно связано с их способностью летать. Ещё одним отличительным признаком является наличие клюва. Немногие виды птиц используют химическую защиту от хищников. Некоторые трубконосые способны выделять из желудка неприятную маслянистую жидкость против агрессора. В 90-е годы прошлого века реестр ядовитых животных пополнился птицами. Стало известно, что некоторые птицы Новой Гвинеи – дроздовые мухоловки (*Pitohui sp.*), синеголовая ифрита (*Ifrita kowaldi*), сорокопутовая мухоловка (*Colluricincla megarrhyncha*) – содержат один из самых сильных токсинов – батрахотоксин<sup>196</sup>.

Дроздовые мухоловки, или питоху (*Pitohui*) – род воробьиных птиц из семейства Австралийские свистуны (*Pachycephalidae*). Известно несколько видов:

---

<sup>196</sup> Впервые о ядовитости хохлатого питоху стало известно в 1989 году, когда биолог из Смитсоновского университета Д. Думдахер ловил райских птиц для изучения. Когда он выпутывал из сетей случайно попавшую питоху, то поцарапал палец, но вместо медицинской обработки засунул его в рот и тут же почувствовал, что его язык, губы и рука онемели, что было большой неожиданностью, так как птица является одной из самых распространенных пернатых Новой Гвинеи, но раньше никто не сообщал о ее странной особенности. Инцидент повторился еще пару раз, и только тогда научный мир узнал о существовании ядовитых птиц.

- изменчивая дроздовая мухоловка, чёрный питоху (*Pitohui kirhocephalus*);
- двухцветная дроздовая мухоловка, двухцветный питоху (*Pitohui dichrous*);
- пестрогрудая дроздовая мухоловка, пёстрогрудый питоху (*Pitohui incertus*);
- рыжая дроздовая мухоловка, рыжий питоху (*Pitohui ferrugineus*);
- хохлатая дроздовая мухоловка, хохлатый питоху (*Pitohui cristatus*);
- чёрная дроздовая мухоловка, чёрный питоху (*Pitohui nigrescens*).

**Двухцветный** питоху (*Pitohui dichrous*) населяет центральное нагорье Новой Гвинеи. Живет, как правило, на высоте от 600 до 1700 метров над уровнем моря и встречается обычно в садах, на опушках леса и в подлеске. Размером чуть мельче галки. Длина от хвоста до кончика клюва питоху не более 30 см, масса 400–500 г. Крылья и голова имеют черный окрас перьев. Шея, грудь и спинка окрашены в ярко-оранжевый цвет (рис. 23.7А). На голове заметен изящный хохолок. Яркое оперение, по-видимому, имеет апосематический характер. Сильные ноги и клюв также окрашены в черный цвет. Между самками и самцами нет различий ни в размерах, ни в окраске. Питоху питается мелкими беспозвоночными животными и некрупными плодами. Свои гнезда, напоминающие чашу, питоху обычно строят на деревьях или в расщелинах скал. Откладывают от 1 до 4 яиц белого или оливкового цвета с темными пятнами. Инкубация кладки – 16–18 суток, птенцы вылетают из гнезда уже на 13–16 день. Питоху относится к насекомоядным птицам, хотя бывают исключительные случаи, когда эта птица питается семенами растений.

Несмотря на то, что местные жители осведомлены о ядовитости питоху, туземцы Новой Гвинеи употребляют их в пищу, хотя и проявляют большую осторожность во время трудоемкого приготовления. Как правило, местное население именуется питоху мусорной птицей отчасти потому, что она издает неприятный запах при приготовлении и горькая на вкус. Некоторые племена Новой Гвинеи считают, что питоху можно употреблять в пищу только после истечения надлежащего периода траура для мертвых птиц.

Еще один вид ядовитых птиц – так называемая синеголовая ифрита (*Ifrita kowaldi*). Эти миниатюрные певчие существа, масса которых не превышает 60 г, а длина достигает 20 см. Она не родственна питаху (семейство Флейтистовые – *Cinclosomatidae*), но обитает в тех же местах – лесах Новой Гвинеи. Ифрита встречается на высокогорьях Новой Гвинеи, как правило, на высотах более 2000 м над уровнем моря, обитает в мшистых, влажных горных лесах. Синяя шапочка на голове, по-видимому, имеет апосематическую функцию, сигнализируя другим видам, что ифрита опасна (рис. 23.7Б). Однако это «украшение» есть только у самцов: самки отличаются ровной жёлтой окраской. У жителей провинции Маданг (рис. 23.8) Папуа – Новая Гвинея ифрита известна под названием «горькой птицы»<sup>197</sup>: по словам аборигенов, ее мясо по вкусу напоминает острый перец чили<sup>198</sup>, поэтому аборигены Новой Гвинеи не употребляют эту птицу в пищу, но наоборот – почитают как святое животное, преклоняясь перед ней.

<sup>197</sup> «Slek – Yakt» на местном диалекте.

<sup>198</sup> Кайенский перец *Capsicum annuum*.



А

Б

Рис. 23.7. Вторично-ядовитые птицы, содержащие батрахотоксин. А – двухцветный питоху (*Pitohui dichrous*), Б – синеголовая ифрита Ковальди (*Ifrita kowaldi*) (Wikipedia Commons)



Рис. 23.8. Провинция Маданг в Папуа – Новая Гвинея, где обитают питоху и синеголовая ифрита (Wikipedia Commons)

Отметим, что ифрита обычно встречается на больших высотах, чем питоху, поэтому эти два вида никогда не встречаются вместе и являются аллопатрическими.

### 23.2.1. Химический состав и механизмы действия яда

Изучение яда питоху показало, что действующим началом является батрахотоксин<sup>199</sup> и его дериваты. Из шести известных видов питоху в пяти видах содержится

<sup>199</sup> См. главу 16.

батрахотоксин в обнаруживаемых количествах, причем у двух видов – *P. dichrous* и *P. kirhocephalus* – в количестве, достаточном, чтобы вызвать раздражение верхних дыхательных путей человека. У двухцветного питоху (*P. dichrous*) массой 65 г содержится 15–20 мкг гомобатрахотоксина (гомоВТХ) в коже и 2–3 мкг в перьях, тогда как в мышцах и остальных органах менее 1 мкг. У черного питоху (*P. kirhocephalus*) массой 85–95 г в коже содержится 6–10 мкг гомоВТХ, тогда как в коже рыжего (*P. ferrugineus*) массой 100 г определено только 1–2 мкг гомоВТХ. У колумбийских лягушек рода *Phyllobates* батрахотоксин обнаружен в количестве от 100 мкг у *P. aurotaenia* и *P. bicolor* до 1000 мкг у *P. terribilis*. Относительный уровень гомоВТХ у питоху ниже, чем у лягушек, поскольку кожа питоху весит 4–5 г, тогда как кожа разных видов лягушек 0.2–0.5 г.

От трех видов питоху *Pitohui dichrous*, *P. kirhocephalus*, *P. ferrugineus* были получены образцы кожи, поперечно-полосатой мускулатуры, копчиковой железы, комбинаций сердца и легких, желудка, кишечника. Токсичность этанольных экстрактов была испытана на мышах при подкожном введении. В зависимости от дозы наблюдались судороги и/или летальный эффект. Наиболее токсичными (табл. 23.1) были экстракты кожи и перьев, причем у взрослых питоху содержание батрахотоксина было больше, чем у неполовозрелых. Сравнение токсикологических эффектов с действием чистого батрахотоксина показывает, что судорожный эффект, вызываемый экстрактами, эквивалентен применению 0.005–0.01 мкг гомобатрахотоксина, а летальный эффект в течение 18–19 мин соизмерим с введением 0.05 мкг гомобатрахотоксина.

Таблица 23.1

**Токсичность спиртовых экстрактов из органов тканей *Pitohui dichrous* для мышей при подкожном введении (Dumbacher et al., 1992)**

Органы и ткани	Эквивалентная доза, мг*	Токсический эффект
Кожа	10	Судороги и смерть через 18–19 мин
Перья	25	Судороги и смерть через 10–19 мин
Поперечно-полосатые мышцы	100	Судороги и смерть через 35–70 мин
Сердце и легкие	300	Отсутствие судорог и смерти
Желудок	300	Отсутствие судорог и смерти
Кишечник	300	Минимальный эффект или его отсутствие
Копчиковая железа	10	Минимальный эффект или его отсутствие

\* 100 мг эквивалентной дозы соответствуют 100 мкл спиртового экстракта.

У ифриты Ковальди в перьях и коже также обнаружен батрахотоксин и его дериваты. Высокий уровень батрахотоксина наблюдался в контурных перьях брюха, груди или ног. В меньших количествах найден в перьях головы, спины, хвоста и крыльев. Поскольку уровень батрахотоксина варьировал у разных популяций питоху и ифриты, было выдвинуто предположение о зависимости его содержания от источника питания. Следовательно, питоху и ифрита Ковальди являются вторич-



но-ядовитыми организмами, аккумулирующими экзогенный яд – батрахотоксин, который в данном случае является кайромоном. Поиски возможного продуцента батрахотоксина в этой пищевой цепочке привели к жукам из рода *Choresine*<sup>200</sup>, которыми питаются питоху, во всяком случае они были обнаружены в содержимом их желудков. Сами питоху, по-видимому, устойчивы к батрахотоксину. Мы уже упоминали (см. главу 16), что на местном диалекте сами жуки, ифрита Ковальди, так же как и вызываемые ими парестетические ощущения, при контакте с кожей и слизистыми, обозначаются одним словом – «нанизани».

Тот факт, что апосематическая окраска оперения ифриты и питоху является предостерегающей для людей, что подтверждается местными жителями, делает обоснованным предположение об эффективности такой защиты и против других врагов. Предполагается, что яд с перьев может переноситься на откладываемые яйца, защищая их от хищников (змей, грызунов, других птиц) и паразитов.

---

<sup>200</sup> О ядовитости жуков *Choresine* см. главу 12.

---

## ЧАСТЬ V

# БИОМЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ЗООТОКСИНОЛОГИИ

- Глава 24. Патфизиологические механизмы действия некоторых зоотоксинов при альтерации функций организма
- Глава 25. Иммунотоксикотерапия отравлений зоотоксинами
- Глава 26. Моделирование патологических состояний с помощью зоотоксинов



Wikipedia Commons

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ  
МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ  
НЕКОТОРЫХ ЗООТОКСИНОВ  
ПРИ АЛЬТЕРАЦИИ ФУНКЦИЙ  
ОРГАНИЗМА

Все есть яд. Ничто не лишено ядовитости.  
И только доза отличает яд от лекарства.

*Парацельс*



Зоотоксины и их компоненты эффективно и специфично могут модифицировать структуру и функцию живых структур на уровне мембран и молекул, приводя, в конечном итоге, к модификации функций органов, систем и всего организма. Естественно, что такие изменения в ряде случаев могут быть использованы для нужд физиологии и практической медицины. Некоторые яды, особенно в малых дозах, могут приводить не к отравлению, то есть ослаблению функций, а к их стимулированию – нормализации (вспомним цитату Парацельса, взятую эпиграфом к этой главе). И народная медицина давно пользуется этими свойствами зоотоксинов, применяя их для лечения разных заболеваний. Новые исследования молекулярной и клеточной зоотоксинологии открыли перспективу более широкого внедрения ядов как фармакологических и лекарственных средств. Для реализации такой перспективы необходимы исследования, вскрывающие патофизиологические механизмы действия ядов на различные системы организма. В этой главе приводятся основные результаты экспериментального изучения зоотоксинов, полученные на кафедре физиологии и биохимии человека и животных Нижегородского (Горьковского) госуниверситета им. Н.И. Лобачевского учениками и последователями профессоров Н.М. Артемова и Б.Н. Орлова.

## 24.1. ЯД СКОРПИОНОВ

### 24.1.1. Яд скорпиона и система кровообращения

Известно, что яд скорпионов при попадании в организм человека и животных активно модулирует функции системы кровообращения. Эти эффекты яда скорпиона удобно изучать в опытах на наркотизированных кошках в условиях торакотомии, при искусственном дыхании, по таким параметрам как САД, периферическая реограмма, ритм сердцебиений, поскольку в данных условиях эти функциональные показатели не отличились от таковых, установленных на «интактных» животных. Следует отметить лишь менее выраженный период гипофункции системы кровообращения, характеризующей первую фазу действия яда – она длилась не более 2 мин и была слабо выраженной (рис. 24.1). Было установлено, что вслед за первой кратковременной фазой, имеющей, в основном, рефлекторное происхождение, при введении яда в дозах 0.05–0.3 мг/кг, наступала фаза длительной (15–40 мин) кардио- и вазостимуляции. Наряду с повышением уровня САД, уменьшением периферической реограммы, в этот период происходит усиление сократительной функции сердца. Повышаются такие показатели сократимости, как скорость нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) в изоволюмическую фазу, увеличивается скорость снижения давления, индексы сократимости сердечной мышцы. Важно отметить, что кардиостимулирующее действие яда скорпионов обусловлено как непосредственным вмешательством токсинов яда в обмен кардиомиоцитов, так и опосредованно, за счет высвобождения физиологически активных веществ и продуктов их обмена в организме. Непосредственное действие токсинов скорпиона на миокард осуществляется не только на внутриклеточном уровне (изменение содержания циклических нуклеотидов), но и в результате модификации мембраны и соответственных изменений ее проницаемости для ионов. Установлено, что при увеличении сократительной активности trabeculae предсердия лягушки под действием яда происходило уменьшение на

30–40% кальциевого тока мембраны. Таким образом, увеличение сократительной активности сердца под действием яда скорпиона может реализоваться в результате стимуляции натрий-кальциевого обмена и поступления избыточного кальция в миокардиальную клетку именно по этому механизму. Следовательно, кардиостимулирующее действие яда скорпиона при внутривенном введении животным обусловливается как благодаря непосредственному влиянию яда на миокард, так и опосредованно – через повышение уровня норадреналина и адреналина в крови. Укажем, что увеличенное содержание норадреналина и адреналина в крови белых крыс отмечено на протяжении 60 мин. Кроме того, следует учитывать и другие слагаемые кардиотонического действия яда в условиях целостного организма. К ним относится гетерометрический механизм инотропной стимуляции – из-за увеличения кровенаполнения правого предсердия (повышается ЦВД) и гомометрический механизм – вследствие увеличения фронтального сопротивления выбросу крови из левого желудочка (вазоконстрикции). Все указанные механизмы кардиотонического действия взаимосвязаны и поддерживаются во времени, по всей видимости, длительной гиперсекрецией симпатических нейромедиаторов.

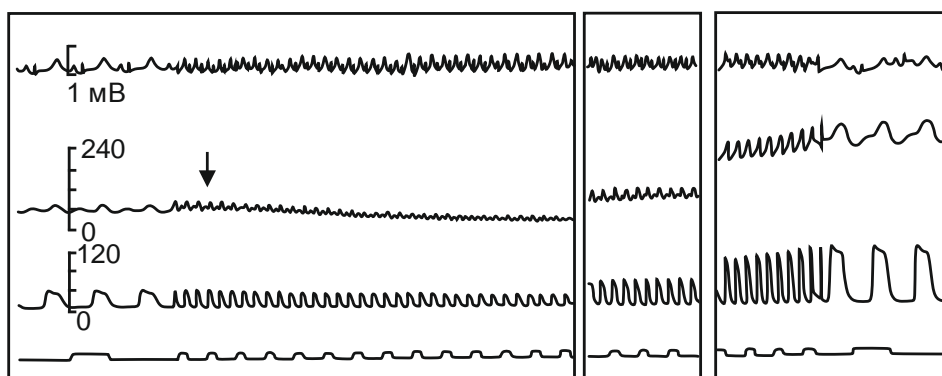


Рис. 24.1. Влияние внутривенного введения (отмечено стрелкой) яда скорпиона *Buthus eupeus* в дозе 0.1 мг/кг на (сверху вниз) ЭКГ, САД и давление в левом желудочке сердца (мм рт. ст.) наркотизированной этаминал-натрием (40 мг/кг) крысы (Крылов, 1990). Отметка времени 1 с

Таким образом, яд скорпиона, обладая кардиостимулирующими свойствами, при введении в организм животных способен длительно поддерживать систему кровообращения в состоянии гиперфункции. Важно отметить, что при этом не затрагиваются ритмогенные функции сердца, то есть кардио- и вазотоническое действие яда в нетоксических дозах осуществляется без учащения ритма сердцебиений, без возникновения аритмий.

Из вышеизложенного можно сделать вывод, что стимуляция функций системы кровообращения под влиянием малых доз яда скорпиона происходит в пределах, ограниченных самим организмом, его резервными возможностями. В силу указанных обстоятельств яд скорпиона может найти применение именно в таких ситуациях, когда при восстановлении нарушенных функций системы кровообращения важна их достаточно умеренная, определяемая резервами самого организма стимуляция – без перенапряжения энергетических и пластических ресурсов органов и тканей и, следовательно, без их необходимой деструкции. В этом плане яд

скорпиона является перспективным средством для реаниматологии – при восстановлении функций, когда органы и ткани организма находятся на грани необратимых изменений и очень уязвимы для экзогенных стимуляторов. Ниже приводится экспериментальное подтверждение такой перспективы.

#### 24.1.2. Яд скорпиона и кровопотеря<sup>201</sup>

Хорошо известно, что продолжительная гипотензия (САД ниже 50 мм рт. ст.), вызванная кровопотерей, закономерно приводит к развитию необратимых изменений в жизненно важных органах. Для предупреждения этих нарушений при геморрагическом шоке наиболее рациональным является своевременное возмещение утраченной крови. Однако это не всегда выполнимо на догоспитальном этапе. Поэтому весьма актуальна разработка средств пролонгирования периода развития обратимых изменений при тяжелом шоке и кровопотере, позволяющих отсрочить проведение лечебных мероприятий в полном объеме. Учитывая эти обстоятельства, а также то, что в патогенезе тяжелой кровопотери и шока ведущим является расстройство сердечной деятельности, было изучено влияние яда скорпиона на обратимость изменений кардиогемодинамики при циркуляторно-гемической гипоксии, вызванной кровопотерей у собак.

У контрольных животных сразу после кровопускания развивались тахикардия и тахипноэ, которые стабильно регистрировались весь период гипотензии. Угнетению биоэлектрической активности сердца соответствовало гиподинамическое состояние кардио- и системной гемодинамики. Минутный объем сердца (МОС) уменьшился на 68% по отношению к исходному уровню. Это связано как со снижением венозного возврата крови в правое предсердие (падение уровня ЦВД), так и с падением сократительной активности сердца. Следствием кровопотери явилась гибель собак от сердечной недостаточности через 100–120 мин гипотензии. У этих животных, как правило, за 5–10 мин до остановки сердца высокочастотная тахикардия сменялась синусовой брадикардией, сопровождающейся прогрессирующим ослаблением сократительной активности и падением САД до неопределенных величин. Асистолия наступала либо после идиовентрикулярного ритма, либо вследствие желудочковой фибрилляции.

Патологические реакции дыхания, сердечно-сосудистой системы и метаболические нарушения через 1 час были настолько выражены, что полностью не корригировались и последующим внутривенным восполнением аутокрови в полном объеме. Лишь в первые 10–15 мин после реинфузии крови у перенесших кровопотерю животных несколько улучшались показатели кардиогемодинамики. Спустя 1 час после восполнения кровопотери вновь развивалось падение МОС, УО, САД, уменьшение венозного возврата и увеличение ОПС.

Вышерассмотренные сдвиги функции и метаболизма сердца нашли свое подтверждение при электронно-микроскопическом исследовании ультраструктуры миокарда животных. В большинстве кардиомиоцитов имел место внутриклеточный отек. Обнаружено уменьшение количества хроматина и агрегация его по периферии ядра. Митохондрии имели плотный матрикс, часто наблюдалась гомогенизация крист. Встречались митохондрии набухшие, с нарушением целостности наружной мембраны, с вымыванием матрикса и разрушением крист. Увеличива-

---

<sup>201</sup> Разделы 24.1.2 и 24.1.3 написаны по материалам работы В.Н. Крылова (1990).

лось количество лизосом. Обнаруживалось расслоение миофибрилл, дезориентация и лизис. Одновременно с внутриклеточным отеком в ткани миокарда выявлялся перикапиллярный отек. В межклеточном пространстве обнаруживались эритроциты.

Из рассмотренных данных следует сделать вывод, что интравенная реинфузия крови после длительной кровопотери не способствовала благоприятному течению постреанимационного периода в результате перехода компенсаторных реакций в патологические еще в период гипотензии, а затем и в постреанимационный период. Отсюда можно сделать основной вывод: в период гипотензии появляются факторы, на которые нужно воздействовать еще до реинфузии крови. Исходя из полученных в контрольных экспериментах данных можно предположить, что наиболее эффективным воздействием в этом плане может оказаться стимуляция системы кровообращения и сократительной функции миокарда средствами, обладающими кардиостимулирующими, вазотоническими и антигипоксическими свойствами. Перспективным агентом, обладающим подобными свойствами, является яд скорпиона.

Внутривенное введение собакам яда скорпиона в дозе 0.2 мг/кг (введение в течение 1–2 мин в объеме 5–10 мл физиологического раствора) через 60 мин гипоксии приводило к существенным изменениям кардиогемодинамики и функции респираторной системы. Наряду с положительным изменением биоэлектрической активности сердца увеличивалась его производительность – повышались величины МОС и УО. Повышение УО связано, в основном, с увеличением сократительной активности миокарда. Подтверждением этому является сравнительно меньшее увеличение венозного возврата: ЦВД увеличивалось менее значительно. Повышение САД более чем в два раза при сохранении венозного возврата, способствовало улучшению притока крови к правому предсердию в диастолу.

Важно отметить, что увеличение УО и МОС происходило на фоне уреженного ритма сердцебиений. Это позволяет считать, что повышение функции кардиогемодинамики происходило без учащения сердцебиений, то есть в режиме сравнительно экономного расходования энергоресурсов миокарда. Укажем, что ни в одном опыте не было зарегистрировано каких-либо нарушений сердечного ритма. Следует также подчеркнуть, что благоприятное действие яда скорпиона на кардиогемодинамику собак не вызывало увеличения ОПС. Такая реакция организма на фоне значительного возрастания МОС и ЦВД способствует улучшению периферического кровообращения, так как при высоком сердечном выбросе и пониженном ОПС органы и ткани в единицу времени перфузируются значительно большими объемами крови.

Анализируя изменения кардиогемодинамики под влиянием яда скорпиона на фоне часовой гипотензии, отметим, что яд оказался эффективнее действия гутимины, известного своими антигипоксическими свойствами. Было установлено, что применение гутимины (40 мг/кг) в идентичных условиях приводило к меньшему подъему САД, также меньшими были и величины УО и МОС. Важно отметить, что гутимин, в отличие от яда скорпиона, не вызывал также и существенного урежения ритма сердцебиений.

Вместе с улучшением кардио- и системной гемодинамики при введении яда скорпиона улучшались и характеристики внешнего дыхания: уменьшалась частота дыхательных движений и увеличивался дыхательный объем, то есть МОД поддерживался теперь за счет восстановления глубины дыхания, а не его частоты.

Одновременно повышалось потребление и использование кислорода крови, что свидетельствовало об улучшении метаболизма в тканях.

Приведенные результаты показывают, что яд скорпиона поддерживает компенсаторно-приспособительные реакции сердечно-сосудистой системы собак на достаточно высоком уровне в течение 1 часа и, вследствие этого, повышает устойчивость животных к гипотензии. Убедительным критерием эффективности действия яда скорпиона в указанных условиях явилось отсутствие гибели животных в течение последующего часа после его введения, то есть в течение 2-часовой кровопотери.

Таким образом, показано, что стимулирующее действие яда скорпиона на кардиогемодинамику в течение 1 часа до восполнения кровопотери не приводит к ослаблению приспособительных реакций, как это было выявлено в контрольных опытах, а, напротив, повышает эффективность трансфузионной терапии и предупреждает развитие необратимых изменений в постреанимационном периоде. По сравнению с контрольными животными это проявляется в уменьшении степени выраженности патологических изменений ультраструктуры, нарушений метаболизма миокарда, стабилизации биоэлектрической активности сердца, кардиогемодинамики, функции внешнего дыхания, газообмена, увеличении выживаемости животных.

### **24.1.3. Яд скорпиона и клиническая смерть**

Другая модель экстремального состояния была воспроизведена на крысах и имитировала клиническую смерть организма. В экспериментах было установлено, что свободное кровопускание вызывало у животных наступление клинической смерти, а именно: падение САД до неопределяемых величин, прекращение сердечной деятельности, остановку дыхания. В контрольных опытах было установлено, что реанимационные мероприятия, проводимые через 10 мин клинической смерти (искусственная вентиляция легких, закрытый массаж сердца и возмещение аутокрови) не приводили к восстановлению артериального давления, сердечной деятельности и дыхания. САД лишь временно поднималось на незначительную величину только во время механического массажа сердца. Прекращение массажа, так же как и попытки перевода животного на естественное дыхание, не приводили к эффективным сокращениям сердца и подъему артериального давления.

В отдельной серии экспериментов на наркотизированных крысах были подобраны минимальные дозы яда скорпиона и мезатона (препарата сравнения), вызывающие у животных повышение САД, но не приводящие к нарушению сердечного ритма, ЭКГ и дыхания. Такими дозами оказались: яд скорпиона – 0,05 мг/кг, мезатон – 1 мг/кг, что соответствовало эффективным дозам для других групп животных. В процессе экспериментов этой серии выявились различия в гипертензивном эффекте яда и мезатона. Мезатон вызывает повышение АД сразу после введения, но и действие его длится всего 1–2 мин, после чего артериальное давление возвращается к исходному. Яд скорпиона, напротив, повышает САД также сразу после введения, но поддерживает его на высоком уровне в течение 10–20 мин.

В последующих опытах на крысах при реанимации после клинической смерти мезатон и яд скорпиона добавлялись в аутокровь перед ее возвратом в кровяное русло. В опытах были обнаружены следующие закономерности. Уже в первые



минуты после возмещения крови, содержащей яд скорпиона в дозе 0.05 мг/кг, наблюдалось восстановление артериального давления до исходного уровня или превышение его. На 2-й – 3-й мин реанимации восстанавливалась эффективная сердечная деятельность (в некоторых опытах сердечная деятельность восстанавливалась и без массажа сердца). Через  $16 \pm 2.3$  мин реанимации при использовании яда скорпиона появлялось самостоятельное дыхание животных. Продолжительность выживания животных после реанимации в указанных условиях составила для мезатона и яда скорпиона, соответственно,  $83 \pm 11$  и  $87 \pm 14$  мин.

В опытах с использованием мезатона было установлено, что возмещение крови с препаратом также вызывало подъем САД, восстановление сердечных сокращений и самостоятельного дыхания. Однако уже через 30 мин артериальное давление начинало падать, на ЭКГ регистрировались нарушения ритма сердца (атриовентрикулярная блокада, экстрасистолия, появление «гигантского» Т, уменьшение амплитуды остальных зубцов ЭКГ). Несмотря на возобновление принудительной вентиляции, наступало угнетение основных жизненных функций организма. Самостоятельное дыхание прекращалось, САД падало до неопределяемых величин, наступала смерть животного.

Таким образом, применение яда скорпиона в качестве стимулятора сердечной деятельности и тонуса кровеносных сосудов при моделировании клинической смерти позволило осуществить эффективную реанимацию по сравнению с мезатоном. При этом на протяжении всего постреанимационного периода САД и сердечная деятельность поддерживались на оптимально высоком уровне.

Полученные экспериментальные материалы свидетельствуют, что использование яда скорпиона для терапии угрожающих состояний, характеризующихся гиподинамией системы кровообращения, является вполне эффективным, а в ряде случаев и более эффективным, чем использование известных реанимационных средств.

Обсуждая возможные механизмы выявленного терапевтического эффекта яда скорпиона, следует обратить внимание на способность яда скорпиона увеличивать выброс не только большого количества эндогенных катехоламинов – норадреналина и адреналина – из симпатических нервных окончаний, но и повышать содержание цАМФ в клетках миокарда, а также стимулировать систему «ренин – ангиотензин – альдостерон» и вызывать гипергликемический эффект (Гелашвили, 1985; 1989; Егоров, 1983). Не исключена также и стимуляция эндопиеидной системы мозга животных при введении яда скорпиона. Важно подчеркнуть, что эффекты яда достаточно продолжительны. Так, на крысах показано, что содержание эндогенных катехоламинов в крови животных через 60 мин после введения яда скорпиона еще существенно превышает их уровни до введения яда, а максимум таких мессенджеров, как циклические нуклеотиды,  $\beta$ -эндорфин и другие, приходится на 30-ю минуту после введения.

## 24.2. ПЧЕЛИНЫЙ ЯД

Как уже указывалось, пчелиный яд повсеместно и давно применяется в официальной и народной медицине для лечения широкого спектра заболеваний. Сегодня в мире интенсивно развивается целое направление лечения продуктами пчеловодства – апитерапия, где лечение пчелиным ядом (пчеложалениями и препа-

ратами) занимает лидирующие позиции. Об этом свидетельствуют проводимые в нашей стране ежегодные конференции по апитерапии, обязательные секции и симпозиумы по апитерапии, проводимые в рамках международных конгрессов (Апимондия) по пчеловодству, ввозимые из-за рубежа препараты (апизартрон, мелливенон, форапин и др.).

Для лучшего понимания механизмов терапевтического действия пчелиного яда вначале необходимо рассмотреть патогенетические механизмы его токсического эффекта. Общие явления интоксикации пчелиным ядом возникают вследствие распространения яда в организме. При большом количестве укусов они проявляются в виде учащенного пульса, стеснения грудной клетки, спазмов горлани, слабости вплоть до потери сознания. Больные часто жалуются на боли в области сердца. Но наиболее тяжелые симптомы интоксикации возникают в результате нейротоксического действия яда. Отмечается саливация, потоотделение, расстройства чувствительности, расширение зрачков, понос, рвота, бред и др. Анализ клинической симптоматики при множественных укусах людей свидетельствует, что яд пчел поражает задний мозг и в меньшей степени – премоторную зону и другие отделы центральной нервной системы. При этом чем короче путь достижения мозга по кровеносной системе, тем опасней действие яда. При патологоанатомическом анализе погибших от пчелиных укусов отмечается гипоксия мозговой ткани и нормальная структура сердечной мышцы.

#### **24.2.1. Системные эффекты пчелиного яда**

В экспериментах на наркотизированных кошках изучались эффекты множественных укусов пчелами путем дробного введения пчелиного яда (внутривенного титрования – капельного введение раствора яда в бедренную вену) таким образом, чтобы смертельная доза накапливалась в организме через 50–55 мин (рис. 24.2). Из рисунка видно, что при «терапевтической» концентрации яда в организме первоначально (период 2) происходит стимуляция активности сердца и тонуса сосудов, проявляющаяся в виде увеличения амплитуды зубцов ЭКГ, артериального и пульсового давления, с одновременным повышением тонуса блуждающих нервов – видно урежение частоты сердцебиений и дыхания.

Далее, по мере нарастания концентрации яда, возникают нарушения сердечного ритма, учащение и ослабление дыхания (период 3) с соответствующим нарастанием гипоксии – видны «гигантские» зубцы Т на ЭКГ, – и угнетением функции дыхательного и сосудодвигательного центров (период 4) вплоть до полной остановки дыхания.

Таким образом, даже при внутривенном введении яда прослеживается четкая зависимость эффектов от дозы – от эффективной терапевтической до токсической.

Как указывалось выше, чувствительность организма человека к пчелиному яду сильно различается. Обычно 1–10 укусов одновременно человек переносит без проявления общих симптомов, отвечая лишь местной реакцией. При 200–400 укусах люди уже серьезно поражаются ядом с развитием симптомов общей интоксикации. Считается, что 500 укусов одновременно приводят к смертельному исходу. Во всяком случае, описаны многочисленные случаи гибели людей, получивших 500–1000 укусов. Кроме самого яда, попавшего в организм, необходимо учитывать и ряд других факторов, определяющих конечную картину

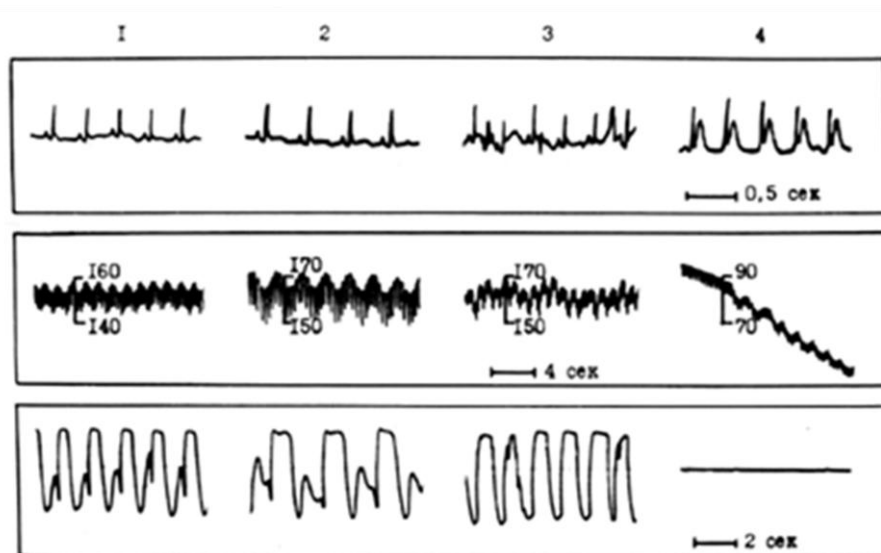


Рис. 24.2. Влияние пчелиного яда на (сверху вниз) ЭКГ, артериальное давление и дыхание кошки при капельном внутривенном введении: 1 – запись до начала введения яда; 2–4 – записи, соответственно, через 15, 30, 45 мин после начала введения (Крылов, 2000)

отравления. Так, можно предположить, что само количество яда и его состав будут зависеть от вида пчелы, ее возраста, времени года и др. С другой стороны, состояние организма человека в момент ужаления также будет играть немаловажную роль. Например, дети очень болезненно реагируют на пчелиный яд. Показано, что женщины значительно более чувствительны, чем мужчины. Организм, ослабленный в результате того или иного заболевания, также может быть более чувствительным к поражающему действию яда. В соответствии с вышеописанными симптомами понятно, почему плохо переносят ужаления лица, страдающие сердечно-сосудистыми расстройствами, расстройствами вегетативной нервной системы, почечными заболеваниями. Тяжелые инфекционные заболевания, приводящие к ослаблению организма, повышают его чувствительность к пчелиному яду.

Многолетний опыт применения пчелиного яда с лечебной целью позволяет выделить основные направления его терапевтического действия. Прежде всего, при использовании яда отчетливо и сильно выражено его анальгетическое, болеутоляющее действие<sup>202</sup>. Также сильно проявляется его противовоспалительная активность, которая развивается медленнее, чем действие гормональных и аспириноподобных препаратов, но более устойчива во времени. Оба эффекта вполне объясняют наиболее широко известное применение пчелиного яда для лечения

<sup>202</sup> А.с. № 1547104 СССР, 1989. Противовоспалительное и обезболивающее средство (мазь «Унгапивен») / Э.Ю. Петерсоне, Р.С. Батова, Б.Н. Орлов, В.Н. Крылов и др.; Пат. № 2057539 РФ, 1992. Средство, обладающее обезболивающим действием для парентерального введения / М.А. Артюх, Р.С. Батова, А.А. Лаздыньш, В.Н. Крылов и др.

ревматоидных процессов. Вместе с тем в последнее время список показаний к применению пчелиного яда существенно расширен, чему способствовало и, мы полагаем, будет способствовать экспериментальное физиологическое обоснование этого расширения. Как видно из вышеприведенного материала, зарубежные исследователи значительно преуспели в изучении химии и биохимии пчелиного яда. Что же касается изучения его физиологической активности, здесь неоспоримы российские приоритеты. Как уже говорилось, первые научные исследования у нас в стране были проведены еще в 1939 году, когда появилась работа Н.М. Артемова «Об атропиноподобном действии пчелиного яда» (Артемов, Соловьева, 1939). В дальнейшем был выявлен широкий спектр фармакологических эффектов пчелиного яда на всех уровнях – от органов и систем до клеточных рецепторов (Сергеева, 1968; Артемов, 1969; Романова, 1983; Крылов, 1995; Асафова, 2001; Крылов и др., 2007 и др.).

Сегодня можно выделить основные физиологические механизмы, в той или иной мере объясняющие и обосновывающие терапевтические эффекты пчелиного яда. Прежде всего укажем на экспериментально установленные свойства пчелиного яда снижать кровяное давление (Артемов, Зевеке, 1967), воздействуя (в том числе и рефлекторно) на интерорецепторы сердца и сосудов (Корнева, 1970), повышая проницаемость их стенок и вызывая гистаминергический эффект. С другой стороны, в условиях недостаточности функции сердечно-сосудистой системы введение пчелиного яда, наоборот, может приводить к подъему артериального давления и увеличению сердечного выброса. Указанные кардио- и вазостимулирующие эффекты яда, опосредующиеся в том числе через адренергические рецепторы сердца и сосудов, во многом обеспечивают проявление его антиангинального и антиаритмического действия.

Оценивая терапевтическую эффективность пчелиного яда при лечении заболеваний, необходимо учитывать, что обширная группа последних так или иначе связана с развитием воспалительных реакций организма. Известно также, что в воспалительном процессе принимают участие множество клеточных, тканевых, органических элементов и эндогенных веществ. Поэтому эффективным противовоспалительным средством будет такое, которое способно угнетать или нейтрализовать действие этих носителей или посредников воспалительной активности. Однако сегодня ни одно лекарственное средство не обладает таким многообразием противовоспалительных свойств. Логично предположить, что эффективные противовоспалительные средства должны представлять своеобразную смесь, состоящую из компонентов, угнетающих отдельные звенья воспалительного процесса. Из сведений о химическом составе пчелиного яда, свойствах его отдельных компонентов следует, что такие соединения яда как мелиттин, МСД-пептид, апамин, адолапин и другие, противовоспалительные свойства которых доказаны экспериментально, вполне подходят для создания такого «коктейля», каким представляется пчелиный яд. На основании указанного положения было разработано и внедрено в практику противовоспалительное и обезболивающее средство – мазь Унгапивен – успешно прошедшее клиническое изучение и сегодня широко применяемое в медицине.

Кроме непосредственного, необходимо учитывать и общее действие пчелиного яда, опосредующееся через модификацию регуляторных систем организма – через активизацию им комплекса эндогенных физиологически активных веществ, регулирующих функции организма на разных уровнях: медиаторов, гормонов, продуктов метаболизма. Так, апитерапевты во многом руководствуются основным положением, развитым Н.М. Артемовым для объяснения

физиологических механизмов действия пчелиного яда: активацией ядом нейрогормональной системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники и соответствующим повышением адаптационных возможностей организма. Сегодня накопилось достаточно много новых экспериментальных данных, с одной стороны подтверждающих и расширяющих это положение, а с другой – развивающих дальнейшее обоснование эффективности применения апитерапии при лечении различных групп заболеваний.

Интересные результаты были получены при изучении особенности развития стресс-реакции организма животных на пчелиный яд по сравнению с другими видами стрессовых воздействий с применением метода измерения электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) (Дерюгина, 1998). Регистрация перемещения клеток крови в электрическом поле позволяет оценить не только их электрокинетический потенциал и, следовательно, морфо-функциональное состояние мембран, но и состояние гомеостаза организма в целом. Анализ литературных данных свидетельствует об однообразной реакции ЭФПЭ – ее снижении при самых разных заболеваниях: у пациентов, страдающих холестатическим гепатитом, при инфекционных и опухолевых процессах, у больных хронической почечной недостаточностью, с заболеваниями органов дыхания. Это позволяет предположить, что однонаправленность изменения ЭФПЭ при различных экстремальных воздействиях и патологиях, характеризующаяся ее снижением, является отражением общей неспецифичной реакции организма на раздражитель. В связи с тем, что в основе многих патологических процессов и чрезвычайных раздражителей лежит развитие разной степени выраженности стресса, можно предположить, что изменение ЭФПЭ является ранним критерием стресс-реакции и будет типичной для всех видов стресса, в том числе и на пчелиный яд. Состояние стресса у животных моделировали физической нагрузкой, гипоксией и воздействием яда пчел. Было показано, что при всех изученных стрессовых воздействиях ЭФПЭ крыс претерпевала однотипные двухфазные изменения (рис. 24.3). Первоначально (1-я фаза) это выражалось в понижении ЭФПЭ с последующим ее повышением (2-я фаза) выше исходного уровня. Различия носили только количественный и временной характер, отражая специфику стресс-воздействия.

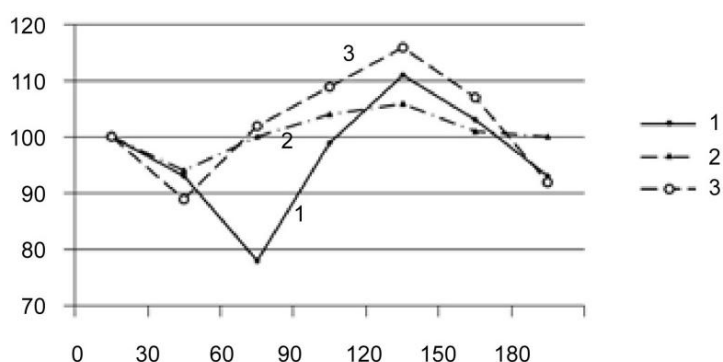


Рис. 24.3. Изменение электрофоретической подвижности эритроцитов (к 100% контроля) при разных стресс-воздействиях: 1– гипоксия; 2 – плавание с грузом; 3 – пчелиный яд. По оси ординат – % ЭФПЭ; по оси абсцисс – время (мин) (Крылов и др., 2005)

Эти результаты свидетельствуют о закономерных изменениях электрокинетических свойств эритроцитов в ответ на протекающие в организме стрессовые реакции. Известно, что ведущими гуморально-гормональными системами при стрессе являются две системы: симпато-адреналовая и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая. Возможный механизм снижения ЭФПЭ (первая фаза), по всей видимости, связан с модифицированием эндогенными катехоламинами мембраны эритроцита, затрагивающим ее интегральные сиалогликопротеины, выполняющие основную роль в создании отрицательного заряда на поверхности клеток. По мере развития стресс-реакции катехоламины, активируя выброс АКТГ, стимулируют нарастание в крови гормонов коры надпочечников. Экскреция кортикостероидов, направленная на ограничение 1-й фазы стресс-реакции, по всей видимости определяют повышение ЭФПЭ (2-я фаза) за счет их взаимодействия с кортизоловыми рецепторами.

Для проверки высказанного предположения мы провели серию опытов на эритроцитах *in vitro*, которые инкубировали с адреналином или кортизолом. Было показано, что использование адреналина в концентрации, соответствующей его концентрации в крови при стрессовых реакциях организма (100 нг%) приводило к уменьшению ЭФПЭ на 15% (с  $1.33 \pm 0.09$  мкм · см · В<sup>-1</sup> · с<sup>-1</sup> до  $1.13 \pm 0.06$  мкм · см · В<sup>-1</sup> · с<sup>-1</sup>,  $p < 0.05$ ). Инкубация эритроцитов с кортизолом (10–50 мкг%), наоборот, определяла достоверное дозозависимое повышение ЭФПЭ на 9–16%. Таким образом, выявленные типичные изменения ЭФПЭ при исследованных видах стрессовых воздействий могут быть опосредованы типичными изменениями уровня в крови стресс-реализующих гормонов.

Полученные результаты позволяют заключить, что выявленное двухфазное изменение ЭФПЭ крови животных является однотипной реакцией на воздействие разных видов стресса, протекающей в соответствии с выраженностью его фаз. Вместе с тем, при действии пчелиного яда имеются определенные особенности выраженности этих фаз. Соответственно метод измерения ЭФПЭ может быть использован в качестве раннего и значимого показателя развития ответной реакции организма большого на введение пчелиного яда и степени вовлеченности в нее стресс-реализующих систем организма.

Еще одной важной особенностью пчелиного яда является то, что организация стресс-реакции начинается с общего болевого синдрома при попадании яда в организм. Кроме эффекта собственных аллогенных компонентов яда (фосфолипаза А<sub>2</sub>, мелиттин и др.), при попадании яда в организм активируются и эндогенные болевые агенты организма – гистамин, арахидоновая кислота, простагландины и др. Возникающая болевая реакция приводит к развитию адаптивных процессов. При этом одним из важных этапов адаптации организма является обезболивание, наступающее после болевой реакции на воздействие яда. Установлено, что в организации обезболивающего (антиноцицептивного) действия пчелиного яда в организме существенную роль играют биогенные амины и опиоидные пептиды, блокирование активности которых уменьшает или снимает этот эффект (Тинякова, 1998).

Кроме внешне проявляемых признаков фазных изменений, в организме при действии яда возникают и многие скрытые сдвиги, отражающие изменение нейрогуморальной регуляции функций. В частности установлено, что иммуномодулирующие свойства согласуются с фазностью стресс-реакции. Так, если в первую фазу действия яда, связанную с активацией симпато-адреналовой системы (обычно это малые дозы яда), наблюдается повышение иммунного статуса, то во вторую – фазу повышения уровня кортикостероидных гормонов (как правило –

значительные дозы яда) – иммунитет может угнетаться. Таким образом, терапевтический иммуномодулирующий эффект будет зависеть как от вводимой дозы яда, так и от фоновой иммунореактивности организма.

Видимо с изменением нейрогуморальной регуляции необходимо связывать и интересный эффект защиты организма животных от острого перегрева путем предварительного введения пчелиного яда (Ягин, 2007). В пользу такого предположения говорят данные о нейрогормональной регуляции уровня белков теплового шока, повышающегося в переживающих тепловое воздействие тканях.

Обсуждая вопрос модификации ядом регуляторных систем организма, нельзя не отметить возможность участия в этих реакциях эндогенных регуляторных пептидов, изучение которых в настоящее время интенсивно развивается (Парин, 1986). Представлено множество убедительных данных, что семейство регуляторных пептидов играет основополагающую роль в регуляции функций высших организмов: путем непосредственного воздействия и опосредованно, путем модуляции всех других регуляторных систем. Пчелиный яд, попадая в организм, может не только активировать эндогенные нейропептиды, но и быть их непосредственным источником. Из вышеприведенных данных о химическом составе яда следует, что на эту роль могут вполне закономерно претендовать такие минорные компоненты как прокаины, кардиопеп, секапин и др. Эти пептиды присутствуют в яде для поражения беспозвоночных животных – обычных врагов пчел. Логично предположить, что они образуются из своих неактивных предшественников – протоксинов. Полагают, что многие из указанных пептидов, включая мелиттин, секретируются ядовитой железой в неактивной форме в виде пептидов из 10-20 аминокислотных остатков и при активации разделяются на небольшие активные пептиды. Укажем, что полипептиды пчелиного яда могут иметь ряды совпадений аминокислотных последовательностей с наиболее важными 3–4-звенными регуляторными пептидами. В связи с этим можно предположить, что так же как и при известном образовании в тканях из полипептидных предшественников регуляторных олигопептидов, так и при попадании в организм полипептидов пчелиного яда из них могут отщепляться более активные олигопептиды с регуляторными свойствами. В этом плане хорошей иллюстрацией являются данные о расщеплении ядом в организме субстанции Р – одного из первых открытых нейропептидов. Полагают, что выявленные полифункциональные свойства этого нейропептида связаны с особенностями его расщепления в организме под влиянием специальных ферментов, поскольку N- и C-концевые фрагменты молекулы субстанции Р обладают противоположно направленным действием и зависят от длины цепочки и набора аминокислот. Например, N-концевые фрагменты субстанции Р оказывают такое же влияние, как и целая молекула, но, в отличие от нее, лишены побочных эффектов. В этом случае становится понятна такая же высокая полифункциональность и многозвенность влияния пчелиного яда на организм человека и животных, его универсальная терапевтическая активность.

#### **24.2.2. Антиаритмические свойства пчелиного яда**

Аритмии сердца являются сегодня одной из наиболее частых патологий человека. Они могут возникать как сами по себе, так и сопутствуют другим заболеваниям сердца – ишемии, стенокардии, инфаркта и т.д. Из сведений о применении

яда в медицине видно, что в ряде случаев при лечении пчелиным ядом стенокардии отмечалось восстановление сердечного ритма. Имеются и экспериментальные данные об антиаритмических свойствах некоторых компонентов яда. Было изучено влияние пчелиного яда и его препарата «Солапивен» на аритмии различного происхождения, вызываемые у животных.

На белых крысах и кошках исследовалось течение аритмий смешанного типа, вызываемых введением аконитина или строфантина, и желудочковых аритмий, вызываемых введением адреналина. На кошках изучали фибрилляцию желудочков, возникающую при прямом электрическом раздражении сердца (рис. 24.4), а также нейрогенные аритмии и гипертензивные реакции, возникающие при локальной стимуляции коры больших полушарий, промежуточного и среднего мозга.

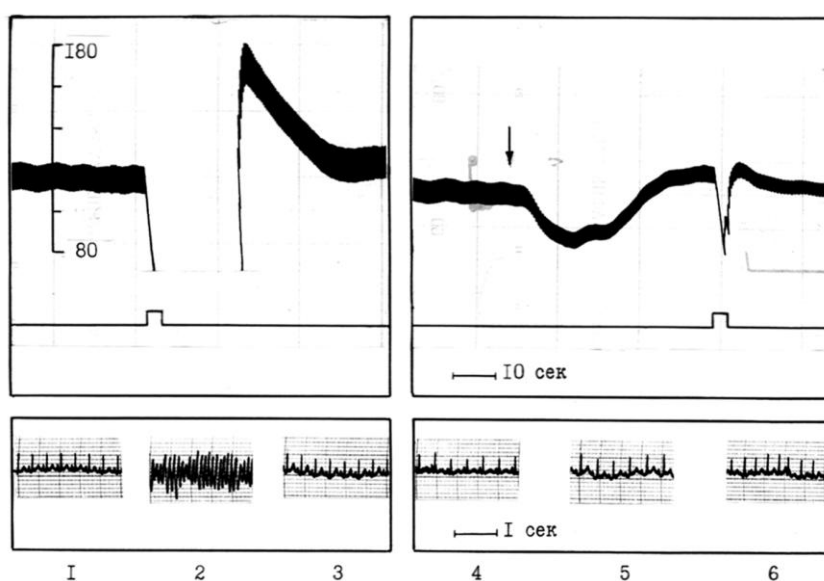


Рис. 24.4. Влияние пчелиного яда на экспериментальные аритмии сердца кошки, вызванные электрическим раздражением. Сверху вниз: артериальное давление (мм рт. ст.), отметки раздражения, электрокардиограмма. Нанесение на сердце электрического раздражения приводит к фибрилляции миокарда и падению артериального давления до 0 длительностью 20 с (2). Предварительное введение пчелиного яда (0.05 мг/кг, внутривенно, указано стрелкой) предотвращает возникновение фибрилляции (6) и уменьшает реакцию падения давления (Крылов и др., 2012)

С целью сравнения эффективности пчелиного яда использовали лекарственные средства, основным фармакологическим свойством которых является антиаритмическая активность – новокаинамид, этмозин, этацизин в дозах, рекомендуемых для экспериментальных животных. Выбор указанных антиаритмиков 1-й группы обусловлен также тем, что лежащие в основе их антиаритмического действия свойства уменьшать быстрый входящий (натриевый) ток мембран кардиомиоцитов установлены и для пчелиного яда (Асафова, 1983). Установлено, что пчелиный яд обладает выраженной антиаритмической активностью, предупреждая или полностью устраняя нарушения ритма деятельности сердца у животных в условиях различных экспериментальных моделей. При этом средняя эффективная доза варьирует в пределах 0.1–0.4 мг/кг. Показано, что антиаритмическое дей-



ствие пчелиного яда не связано с изменением эффективного рефрактерного периода, как это, например, характерно для антиаритмиков 3-й группы. Эти результаты согласуются с данными, свидетельствующими о том, что пчелиный яд уменьшает длительность потенциала действия трабекул предсердия лягушки. В то же время эти результаты свидетельствуют, что в проявлении эффекта у яда есть общие черты с антиаритмиками 1-й группы. Так, торможение быстрого (натриевого) и медленного (кальциевого) входящих токов мембран кардиомиоцитов обеспечивает эффективность пчелиного яда на аконитиновой и строфантиновой моделях аритмий. Известно, что в основе аконитиновой модели лежит рост проницаемости мембран для ионов натрия, а строфантиновой – перегрузка кардиомиоцитов кальцием, приводящая к спонтанной активности. С другой стороны, выявленная активность препарата пчелиного яда на нейрогенной и адреналиновой моделях аритмий характерна и для антиаритмиков 2-й группы, моделирующих экстракардиальную адренергическую регуляцию.

Таким образом, показано, что пчелиный яд обладает выраженным антиаритмическим действием на моделях суправентрикулярных и желудочковых аритмий сердца, развивающихся как по типу *re-entry*, так и по принципу эктопического очага. Антиаритмическая активность яда не превышает таковую у известных антиаритмиков 1-й группы. Однако пчелиный яд имеет ряд преимуществ. Одно из них состоит в том, что он не угнетает биоэлектрическую и функциональную активность сердца, тогда как антиаритмики из группы мембранодепрессантов – хинидин и этмозин – могут нарушать проводимость и вызывать аритмию по типу *re-entry*. По некоторым данным указанные антиаритмические средства в 30% случаев сами усиливают желудочковые аритмии. Другим преимуществом яда является его способность вызывать активацию гипоталамо-надпочечниковой системы на фоне умеренной гипотензии и повышения давления в желудочках сердца, что ведет к стабилизации ритма сердечной деятельности.

#### 24.2.3. Вазоактивные свойства пчелиного яда

Антиангинальное действие пчелиного яда уставлено в экспериментах, где было зарегистрировано увеличение коронарного и мозгового кровотока у кошек. Это объясняет успешное его применение у больных стенокардией и дисциркуляторной энцефалопатией (Крылов и др., 1998). В опытах на кошках было установлено, что на фоне реакции гипотензии после введения яда резко увеличивается кровоток в мозговых и коронарных сосудах. Опыты, проведенные на кошках с применением метода реоэнцефалографии, показали, что при внутривенном введении пчелиного яда интенсивность мозгового кровотока может возрастать до 400% (Орлов и др., 1975). Аналогично увеличивается кровоток и в коронарных сосудах сердца (Крылов, 1974).

Опыты с использованием очищенного препарата пчелиного яда – мелиттина – показали, что полипептид оказывает гораздо менее значительное влияние на коронарный кровоток при внутривенном введении животным, чем целый яд. Это позволяет предположить, что гипотензивное и кардиодепрессорное действие яда обусловлено не мелиттином, а другими компонентами яда – фосфолипазой A<sub>2</sub>, гиалуронидазой и др. На это указывают также и результаты опытов на изолированном сердце, где было выявлено кардиостимулирующее действие мелиттина.

#### 24.2.4. Радиопротекторные свойства пчелиного яда

Из других терапевтических свойств пчелиного яда следует выделить его радиопротекторный эффект. Показанное для яда радиозащитное действие (Конькова, 1968) вполне может быть основано на гемостимулирующих эффектах яда (Ерофеева, 2003; Корягин, 2007; Таламанова, 2010). По современной классификации противолучевых средств пчелиный яд как продукт пчеловодства можно отнести к адаптогенам – стимуляторам радиорезистентности. Было показано, что введение крысам пчелиного яда перед облучением приводит к выраженному радиозащитному эффекту, повышая, по сравнению с контролем, уровень гемоглобина и эритроцитов в крови животных. Следует указать, что при радиопоражении человека и животных одной из наиболее страдающих систем организма является система кроветворения – красный костный мозг (стволовые клетки с их основной функцией – продукцией зрелых высокодифференцированных клеток крови). Поэтому стволовые клетки рассматриваются в качестве своеобразных «детерминантов» выживаемости организма при острой лучевой болезни. Снижение количества клеток костного мозга при радиопоражении является следствием торможения процессов деления (пролиферации) и массовой гибели клеток, одна из главных причин которой – усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Для доказательства радиопротекторных свойств малых доз пчелиного яда (на два порядка меньше токсичных) при экспериментальной костномозговой форме лучевой болезни исследовалось состояние красного костного мозга животных. Опыты проводили на белых нелинейных крысах массой 150–180 г. Животным предварительно в течение 7 дней с периодичностью 1 раз в сутки внутривентриально вводили пчелиный яд в дозе 0.1 мг/кг. Контрольным животным вводили физиологический раствор. Через 1 час после окончания инъекций животные подвергались однократному  $\gamma$ -облучению в дозе 3 Гр (300 Рентген). Костный мозг выделяли из бедренных костей животных через сутки после облучения. Проведенные исследования показали, что действие радиации в дозе 3 Гр приводило к типичному поражению системы кроветворения. У контрольных животных наблюдалось снижение общего числа клеток костного мозга с  $(14.28 \pm 0.24) \times 10^6$  до  $(8.85 \pm 0.07) \times 10^6$ , уменьшение митотического индекса с 23.0 до 3.5 %, увеличивалась интенсивность ПОЛ, о чем свидетельствовало возрастание содержания МДА с  $4.10 \pm 0.18$  до  $5.02 \pm 0.21$  нмоль/мл. У животных, которым вводился пчелиный яд, эти показатели статистически достоверно отличались в лучшую сторону. Количество клеток костного мозга повышалось  $(10.67 \pm 0.07) \times 10^6$ . Скорость деления клеток была в 2 раза выше, чем в контроле, интенсивность ПОЛ сохранялась на уровне интактных (необлученных) животных. Как показал анализ препаратов костного мозга, введение яда оказывало более выраженное защитное действие на клетки лимфоидного и мегакариоцитарного (тромбоцитарного) рядов и было менее эффективно по отношению к эритроидному ряду. Для анализа механизмов радиозащитного действия пчелиного яда было проведено изучение действия малых доз яда на показатели кроветворения у необлученных животных. Исследования показали, что курсовое введение яда приводило к снижению пролиферативной активности стволовых клеток в 4 раза, уменьшению активности ПОЛ и практически не влияло на количество клеток костного мозга. Полученные результаты свидетельствуют, что радиозащитные свойства пчелиного яда, вводимого в малых дозах многократно перед облучением, аналогичны действию известных аминокислотосодержащих радиопротекторов, которые также уменьшают про-

лиферативную активность клеток и интенсивность ПОЛ (например цистамин). Обсуждая механизмы радиопротекторного действия яда более детально, следует указать, что выявленные эффекты могут быть также результатом известных механизмов его действия. Прежде всего это активация адренало-надпочечниковой системы с последовательным выбросом в кровь катехоламинов и кортикостероидов. Показано, что такая активация играет компенсаторную роль при радиопоражении организма: создает тканевую гипоксию, тормозит пролиферацию стволовых клеток, синтез белка и иммунный статус и т.д., обеспечивая защиту от общих потенциально опасных перестроек метаболизма и структур клеток организма в момент и сразу после облучения. Таким образом, пчелиный яд можно отнести к миелопротекторам, то есть радиопротекторам, действие которых направлено на защиту костного мозга. При курсовом введении малых доз яда в организм перед облучением происходит кратковременное ингибирование синтетических процессов, соответственно деления стволовых клеток, что способствует их защите и сохранности. Впоследствии это приводит к увеличению скорости восстановления гемопоэза и нормализации показателей крови.

#### **24.2.5. Гематологические свойства пчелиного яда**

Оценивая эффекты влияния пчелиного яда на систему крови, следует отметить не только стимуляцию им кроветворения, но и улучшение многих морфофункциональных характеристик крови. Учитывая, что многие патологические процессы в организме приводят к нарушению гомеостатических показателей крови и (или) ими опосредуются, коррекция этих показателей может ускорять процессы выздоровления. В этом плане выявлено, что пчелиный яд, влияя на состав плазмы крови (Киреева, 1968), физические (Лашина, 1985) и электрофизиологические характеристики эритроцитов (Крылов, Дерюгина, 1998), препятствует их агрегации и фильтрабельности, повышает текучесть крови (Дерюгина, 1998). Кроме этого, свойство яда увеличивать время свертывания крови, блокируя основные факторы системы гемостаза (Омаров, 1980), позволяет говорить о целесообразности его применения при многих видах патологий, сопровождающихся повышением гемокоагуляции.

Все указанные свойства, проявляющиеся как на целостном организме, так и на изолированных органах и тканях, могут быть следствием непосредственного влияния компонентов яда на те или иные функции и структуры органов и тканей. Например, успешная терапия коллагенозов, посттравматической рубцовой ткани вполне объяснима действием гиалуронидазы яда; тромбозов, тромбофлебитов и т.п. – активацией ферментами и пептидами яда антитромбиновой системы крови, в том числе и гепарина (Хомутов, 1996); гипертонии – активацией мелиттином эндотелиального фактора расслабления гладкомышечных клеток сосудов; нейротропное действие апамина яда – пептида, проникающего в мозг через гематоэнцефалический барьер и воздействующего на рецепторы нейронов к «апаминподобному» фактору, может восстанавливать нарушенные функции ЦНС. Во всяком случае, апамин, введенный непосредственно в желудочки мозга мышей, модифицирует эти функции уже в дозе 0.5 мкг/20 г (Гелашвили и др., 1981). Мы полагаем, что такая модификация может быть одним из механизмов антигипоксического и корригирующего действия на функции ЦНС, установленные в условиях ее гипоксии (Николаев, 1999).

#### 24.2.6. Пчелиный яд и геронтология

Одной из причин, актуализирующей исследования свойств пчелиного яда, является известная тенденция к старению населения как в России, так и во всем мире. Это ставит перед гериатрией острую проблему поиска эффективных ноотропных средств, позволяющих минимизировать развивающуюся деменцию. Показано, что апитерапия пожилых больных пчеложалениями позволяет существенно ослабить предметные нарушения когнитивных функций. Однако, несмотря на выраженные адаптогенные и биостимулирующие свойства пчелиного яда, экспериментальное обоснование применения апитерапии для повышения функциональной активности ЦНС отсутствует. Учитывая, что одним из важнейших факторов ухудшения функции ЦНС являются изменения, связанные с гипоксией мозга, было изучено влияние пчелиного яда на устойчивость и поведение крыс при гипобарической гипоксии, осуществляемой в барокамере. Животных помещали в барокамеру и «поднимали» на высоту 11000 м. При заданном разрежении (145 мм рт. ст.) животных выдерживали 2 мин, после чего их «спускали» с высоты со скоростью 200 м/с. Животным опытных групп внутрибрюшинно вводили раствор пчелиного яда (инъекционный, стерильный раствор яда «солапивен»). В первой группе яд вводился однократно в дозе 0.1 мг/кг (0.5 мл), во второй – ежедневно в той же дозе в течение 14 дней. Регистрировали время потери позы (ВПП, с) и время реституции (ВР, с) – время от прекращения гипоксии до момента восстановления активной позы, а также оценивали уровень тревожности животных через 1 час после гипоксического воздействия по многопараметровому методу комплексной оценки тревожно-фобических состояний крыс.

В этих опытах было установлено, что однократное и, в меньшей мере, хроническое внутрибрюшинное введение 0.1 мг/кг раствора яда увеличивало время потери позы, уменьшало время ее восстановления, снижало уровень тревожно-фобических состояний животных при моделировании гипобарической гипоксии. Полученные результаты позволили заключить, что внутрибрюшинное введение пчелиного яда крысам перед моделированием гипобарической гипоксии повышает их устойчивость к гипоксии и снижает уровень тревожно-фобических состояний после нее. Антигипоксический эффект может быть связан с непосредственным действием компонентов пчелиного яда на функции ЦНС, учитывая, что некоторые из них, например апамин, проходят через гематоэнцефалический барьер и имеют там соответствующие рецепторы к «апаминподобному фактору». С другой стороны, при введении пчелиного яда в организм животных возникает стресс-реакция с активацией системы гипофиз – надпочечники и возрастает (в первые минуты) уровень катехоламинов и затем (в течение 1–4 ч) глюкокортикоидов в крови. Учитывая, что гипобарическая гипоксия сама вызывает стресс-реакцию, то можно считать предварительное введение пчелиного яда адаптивным воздействием, причем имеющим больший эффект при однократном введении, чем при хроническом воздействии. Таким образом, апитерапия гипоксических состояний ЦНС человека и животных обусловлена как составляющими компонентами пчелиного яда – природного комплекса биологически активных веществ, так и изменением под их влиянием нейроэндокринной регуляции ее функций.

#### 24.2.7. Пчелиный яд и онкология

Еще одна важная проблема современной медицины, при решении которой также возможно применение апитерапии – это злокачественные новообразования. Несмотря на то, что пока нет существенных данных об их терапии у людей препаратами яда, имеются обнадеживающие экспериментальные данные. Так, выявлен угнетающий эффект яда на пролиферацию мышинной меланомы. Показано, что пчелиный яд в эксперименте приводит к снижению экспрессии определенных онкопротеинов и последующему возвращению трансформированных клеток к нормальной морфологии. Имеются данные о конкретной противоопухолевой активности мелиттина яда на моделях опухолей (клеток L1210, С6-астроцитомы, человеческих и мышинных клеток лейкемии). Установлена противоопухолевая активность пчелиного яда в опытах *in vitro* и *in vivo* при воспроизведении у мышей карциомы молочной железы (МСа) и карциомы шейки матки (HeLa). Показано, что рост опухоли МСа подавлялся при внесении клеток в питательную среду с пчелиным ядом, а при внутривенном введении культуры клеток после внутривенного введения пчелиного яда количество метастазов в легких существенно уменьшалось с соответственным увеличением выживаемости мышей. Меньший эффект был показан для HeLa. Полагают, что в основе механизмов такого эффекта может быть цитотоксический эффект мелиттина, развивающийся по пути апоптоз – некроз – лизис клеток опухоли.

Обсуждая механизмы противоопухолевой активности пчелиного яда, большинство исследователей, приписывая ее основному компоненту – мелиттину, исходят из того, что последний является мощным ингибитором кальмодулина. Укажем, что кальмодулин является вторичным клеточным посредником с широким спектром действия внутри клетки. В частности, широко известна его регуляторная роль в формировании и функционировании нитей веретена деления при митозе клеток. Поэтому в настоящее время полагают, что угнетение активности кальмодулина является одним из важнейших механизмов противоопухолевой активности многих известных фармакологических агентов.

#### 24.2.8. Апитерапия и ее проблемы

При обосновании апитерапии пчелиным ядом важно отметить, что вводимая доза яда во многом может определять терапевтический эффект. Так, нейротропные эффекты яда могут проявляться не только поражением миелиновой оболочки от токсических доз (Орлов, 1972), но и, наоборот, в малых дозах стимулировать миелинизацию нервных волокон мозга крыс в модельных опытах с их демиелинизацией (Кочеткова, 1998; Кривопалов, 1998), что проливает свет на эффективность применения яда для лечения рассеянного склероза. Установлено, что в патогенезе заболевания большую роль играют нарушения в системе красной и белой крови, всего гемопоэза, а курсовое введение пчелиного яда, повышая гемопоэз, улучшает процесс ремиелинизации нервных клеток спинного и головного мозга.

Из вышеизложенного следует, что дальнейшее изучение и применение пчелиного яда имеет большую перспективу. К сожалению, приходится констатировать, что еще мало разработок, объясняющих многие, порой парадоксальные эф-

фекты яда, интимные механизмы его воздействия на организм человека. Это может объяснить и имеющийся короткий список официальных препаратов и лекарственных средств на основе пчелиного яда. В нашей стране имеется мощная сырьевая база, разработана и внедрена развитая биотехнология получения пчелиного яда в промышленных масштабах без вреда для пчеловодства, что открывает хорошие возможности развития апитерапии пчелиным ядом и его препаратами.

Апитерапия имеет давнюю историю. В настоящее время в нашей стране и за рубежом выпускаются лекарственные препараты на основе пчелиного яда: апифор, апикозан, апизартрон, форапин, вирапин и др. Сегодня этот список пополнился новыми препаратами и их лекарственными формами. Отметим отечественную мазь (Унгапивен), разработанную в Нижегородском госуниверситете. Она отличается от известных тем, что является водорастворимой. Укажем также на стремление исследователей и апитерапевтов заменить болезненное пчелоужаление более щадящими и удобными формами. Так, в Нижегородском госуниверситете разработано и проходит изучение лекарственное средство «Солапивен» (Петерсоне и др., 1989; Артюх и др., 1996; Сабурцев, 1998), представляющее собой водно-спиртовой раствор яда для инъекций, а также препарат яда в виде наноконструкции с хитозаном и золотом (Таламанова, 2010). Учитывая относительно высокую аллергенность части пациентов на яд и ее отсутствие на мелиттин, рядом исследователей делается акцент на апитерапию мелиттином. Недавно американскими учеными из Массачусетского университета и Технологического института штата Джорджия разработан спрей с мелиттином для сублингвального применения. Технология заключается в инкапсулировании частиц мелиттина в микросферы из полимерных наночастиц, которые растворяются в ротовой полости и всасываются в кровь.

Препараты с пчелиным ядом или мелиттином обладают положительным терапевтическим эффектом при ревматических заболеваниях, неспецифических инфекционных полиартритах, заболеваниях периферической нервной системы (радикулиты, ишиалгии), дыхательной системы (бронхиальная астма, ХОБЛ), заболеваниях сосудов, некоторых видов тромбофлебитов, эндартериитах, начальных стадиях гипертонической болезни и других заболеваниях.

Необходимо помнить, что самолечение препаратами пчелиного яда недопустимо, поскольку существуют и медицинские противопоказания к их применению. В каждом отдельном случае выбор препарата, его дозировка и курс лечения должны определяться врачом с учетом индивидуальных реакций организма больного.

### 24.3. ЯД ЖАБ

В восточной медицине жабий яд издавна применялся с лечебными целями при геморрагиях, язвах, как мочегонное при водянке. Высушенный яд китайской жабы в виде круглых, гладких, темно-коричневых чешуек до сих пор применяется в Китае и Японии под названием «Чан'су» (Сен'со) как лекарственное средство. Как известно, в нашей стране еще в 1904 году фармаколог Н.П. Кравков показал, что при введении собакам яда серой или зеленой жаб происходит урежение ритма и усиление сокращений сердца, что позволило автору отнести яд жаб к веществам с «дигиталисоподобным» действием. Ука-

жем, что кардиология того времени имела только один такой препарат для лечения хронической недостаточности сердца, а именно препарат дигиталиса, выделенный из растения наперстянки, и расширение арсенала кардиостимулирующих лекарственных средств было насущной потребностью. Позднее (1967 г.) выдающийся американский кардиолог К.К. Чен, исследуя кардиотоническую активность яда разных видов жаб, также выявил их стимулирующие свойства, но не нашел перспектив для практического применения, поскольку действие на сердце было кратковременным, хотя и выраженным.

Современные исследования яда возобновились в связи с интенсивным развитием кардиохирургии и реаниматологии, когда потребовались средства срочного действия, кардиостимулирующий эффект которых наступал сразу после введения в организм. Однако большинство исследователей в Японии, Англии, США пошло по пути выделения и изоляции из яда жаб отдельных буфадиенолидов и их апробации как кардиостимуляторов. И здесь их постигло разочарование: изолированные буфадиенолиды мало отличались по эффективности от применяющихся растительных или синтетических сердечных гликозидов. Кроме того, они были более токсичны, а их получение было более трудоемким.

Специалисты Нижегородского государственного университета, в отличие от своих коллег, избрали другую тактику: не выделения, а сохранения в лекарственном препарате всего химического спектра яда. В основе этой тактики лежало теоретическое предположение, согласно которому спектр свойств был эволюционно сохранен в яде для наиболее эффективного воздействия на основные интегрирующие системы (сердечно-сосудистую, нервную, респираторную) организма врага. Это было, в том числе, отражено в диссертациях аспирантов кафедры (Ошевенского, 1997; Миронова, 2002; Тихобразовой, 2007). Соответственно в таком цельном препарате могли проявиться эмерджентные свойства, обуславливающие более высокую и разнообразную эффективность при действии на организм, главным образом на функции сердечно-сосудистой системы.

Действительно, регистрация изменений внутрижелудочкового давления в сердце крыс показала, что жабий яд вызывает существенный прирост как развиваемого давления (Pp), так и скоростных характеристик сократимости миокарда. Из анализа фазовой структуры сердечного цикла следует, что яд зеленой жабы повышает не только скорость сокращения миокарда в изоволюметрическую фазу (+dp/dt max), что доказывает его непосредственное «систолическое» действие, но и скорость его расслабления (-dp/dt max), а также конечное диастолическое давление в желудочке (КДД). Таким образом, вместе с систолическим эффектом реализуется и «диастолический» эффект яда, приводящий к более полному наполнению желудочков сердца для последующего сокращения. Указанные эффекты свидетельствуют о выраженном кардиотоническом действии яда зеленой жабы.

Как видно из представленных результатов, как при действии яда, так и буфадиенолидов на изолированное сердце, в относительно большей мере проявлялся инотропный эффект, чем хронотропный. Эта особенность характеризует высокую селективность инотропного действия яда, то есть отношение  $SE_{50-инотр.}$  к  $SE_{50-хрон.}$ , где  $SE_{50-инотр.}$  – концентрация вещества, увеличивающая на 50% максимально развиваемую силу изометрического сокращения, а  $SE_{50-хрон.}$  – соответственно увеличивающая на 50% частоту сокращений изолированного сердца. Из представленных опытов следует, что коэффициент селективности яда жабы значительно

меньше 1, и поэтому его следует отнести к группе кардиотоников, согласно классификации современных кардиотонических средств.

Анализ вклада в реализацию кардиотонического эффекта основных фракций яда – буфадиенолидов и буфотенинов – был проведен в условиях добавления их в перфузат сердца лягушек. Установлено, что и буфадиенолиды, и буфотенины оказывают стимулирующий эффект на сердце. Вместе с тем, как видно из рис. 24.5, наиболее важный вклад в развитие инотропного эффекта, как по силе, так и продолжительности, вносят буфадиенолиды яда.

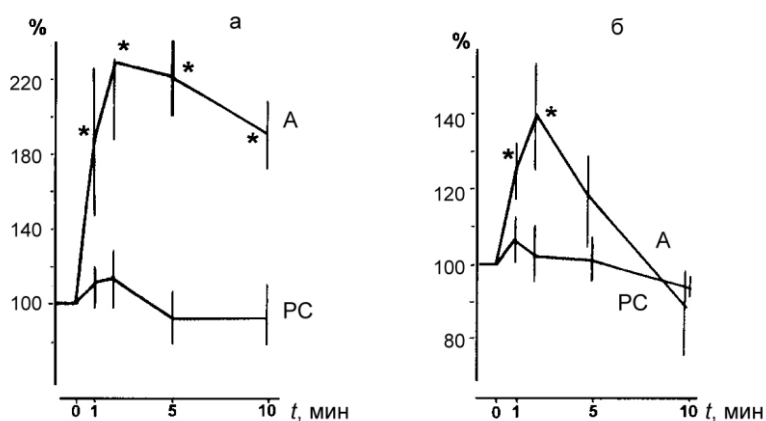


Рис. 24.5. Действие (по оси ординат – % к исходному уровню) фракции буфадиенолидов (а) и буфотенинов (б) в концентрации  $10^{-5}$  г/мл на амплитуду (А) и ритм сокращений (РС) изолированного сердца лягушек (Крылов, 2002)

Как было описано выше, кардиостимулирующий эффект нетоксических доз яда жабы проявляется не только на сердце лягушек, но и на изолированном сердце теплокровных животных – кошек, крыс. При этом повышение силы сокращений (инотропный эффект) и учащения ритма (хронотропный эффект) сердца наблюдались сразу после добавления яда в раствор, омывающий сердце, и продолжались, в зависимости от дозы, на протяжении 15–60 мин.

При изучении механизмов кардиотропного действия яда жаб, описанных в главе 16, было выявлено, что по характеру кардиостимулирующего действия, его механизму при непосредственном действии на миокард, яд жабы можно отнести к группе специфических сердечно-активных лекарственных средств – кардиотоников. Действительно, как видно из опытов, основными механизмами положительного инотропного эффекта может быть их следующая цепь: умеренная блокада  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы клеточной мембраны – модуляция  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмена – повышение уровня активированного внутриклеточного кальция – увеличение сократительной функции миофибрилл кардиомиоцитов – систолический инотропный эффект. Вместе с тем, у яда жабы был выявлен ряд свойств, позволяющих расположить его рядом с кардиотоническими средствами из других групп. К ним можно отнести выявленные нами эффекты увеличения препаратом яда энергообеспечения миокарда, торможение перекисного окисления липидов, обеспечение лучшей сохранности ультраструктуры тканей сердца.

После установления непосредственного воздействия яда на изолированное сердце, было изучено его действие при введении в организм животных. В



опытах на кроликах, кошках и собаках было установлено, что при внутривенном введении яда в интервале нетоксических доз у животных происходило усиление функциональной активности сердечно-сосудистой системы, выражающееся в повышении электрической активности сердца, сердечного выброса, артериального давления. В опытах на кошках было выявлено, что введение яда приводит к повышению объемной скорости коронарного кровотока, развивающемуся параллельно с повышением артериального давления, увеличению содержания кислорода в тканях. Введение яда в кровяной ток наркотизированным собакам приводило к резкому повышению максимального давления в левом желудочке сердца, увеличению скорости сокращения и расслабления его стенки, укорочению всей систолы желудочка. При этом по силе эффекта фракция буфаденолидов превосходила цельный яд. Однако цельный яд в отношении проявления кардиостимулирующего действия был более эффективен, чем известные сердечные гликозиды (строфантин, коргликон и др.) и катехоламины (адреналин и др.). В частности, при усилении сердцебиений не происходило учащения сердечного ритма и возникновения аритмий, как это часто бывает при использовании названных средств.

Установленное кардиостимулирующее действие яда зеленой жабы, проявляющееся как при непосредственном действии на изолированное сердце, так и при воздействии на целостный организм, позволило перейти к следующему этапу исследований, касающемуся изучения выявленных свойств яда в условиях моделирования заболеваний сердца. Было показано, что кардиостимулирующее действие яда проявлялось при ослаблении функциональной активности сердца, вызванной перевязкой левой коронарной артерии собак, и приводило к нормализации сердечной деятельности. Еще более эффективным оказался яд при реанимации собак после 50-минутной остановки сердца (моделирование операции на «сухом сердце») и 10-минутной клинической смерти крыс. Выявленное при восстановлении сердечной деятельности и других функций животных преимущество яда перед изученным для сравнения адреналином позволило предложить новый способ реанимации организма<sup>203</sup>.

Кроме кардиостимулирующего эффекта, у яда жаб было обнаружено защитное антиаритмическое действие, позволяющее при внутривенном введении препарата восстанавливать сердечный ритм животных при моделировании у них аритмий сердца различного происхождения (нарушение сердечного ритма вызывали введением токсических доз аконитина, или электрическим воздействием на определенные структуры мозга или непосредственно сердца).

Полученные результаты послужили обоснованием к разработке нового кардиостимулирующего лекарственного средства «Буфотин». Для этого были разработаны технологические условия очистки, стабилизации и стерилизации инъекционного раствора яда с сохранением его основных действующих компонентов, проведены исследования по доказательству безвредности предлагаемого препарата. Кроме того, была разработана методика получения жабьего яда как фармацевтического сырья в производственных количествах без нанесения ущерба

---

<sup>203</sup> А. с. № 1061819 СССР, 1983. Способ реанимации экспериментальных животных / Б.Н. Орлов, В.Н. Крылов, Г.А. Бояринов.

жабам<sup>204</sup>. На основании проведенных исследований было предложено новое кардиостимулирующее лекарственное средство, на которое был выдан патент<sup>205</sup> и получено разрешение Фармакологического комитета МЗ РФ на проведение клинического изучения.

К настоящему времени часть клинического изучения успешно завершена (Саушев, 1998). В частности, в больнице скорой медицинской помощи при лечении сердечной недостаточности у 46 больных было установлено, что «Буфотин» эффективно повышал и нормализовал показатели сократимости сердечной мышцы (сердечный индекс, ударный объем и др.). Увеличение показателей сократимости сердца и стабилизация АД происходили без учащения сердечного ритма, что характеризует преимущество препарата перед катехоламинами. Было установлено, что «Буфотин» обладает большей шириной терапевтического действия и длительностью сохранения эффекта, чем применяющиеся в этих случаях известные сердечные гликозиды. Вышеизложенное позволяет надеяться, что препарат жабьего яда «Буфотин» может занять достойное место в ряду кардиотоников срочного действия и быть востребованным в кардиохирургии и реаниматологии.

#### 24.5. ЯДЫ ЗМЕЙ

Как известно, яды змей применяются с лечебными целями так же широко, как и пчелиный яд. Вместе с тем, если ранее использовались нативные змеиные яды или препараты на их основе, то сегодня более значимы результаты, основанные на понимании механизмов действия змеиных ядов. Приведем один из таких примеров, который касается самой распространенной болезни человека – гипертонии.

В настоящее время для лечения гипертонии, наряду с блокаторами адренорецепторов, блокаторов кальциевых каналов и др., все интенсивнее применяются блокаторы ангиотензин-превращающего фермента (АПФ). Этот фермент превращает один из глобулинов плазмы крови ангиотензиноген (ангиотензин I) в ангиотензин (ангиотензин II) – на сегодня это самый активный сосудосуживающий фактор, приводящий к повышению артериального давления. Из сказанного вытекал естественный поиск для лечения гипертонии лекарственных средств, блокирующих превращение ангиотензиногена в ангиотензин. В 1965 г. бразильский ученый Ferreira, изучая яд гремучей змеи *Bothrops jaraguasa*, обнаружил его способность снижать артериальное давление путем блокирования АПФ. В скором времени, уже в лаборатории американской фирмы «Squibb», из яда был выделен первый блокатор АПФ – нанопептид тепротид. Этот препарат недолго применяли в клинической практике, несмотря на устойчивое гипотензивное действие. Причиной была его токсичность, кратковременность действия и необходимость внутривенного пути введения. Однако работа по созданию новых ингибиторов АПФ продолжалась, и в 1975 г. в той же лаборатории фирмы «Squibb» Д. Кушман и М. Ондетти (Cushman,

---

<sup>204</sup> А. с. № 1468537 СССР, 1989. Способ получения яда амфибий и устройство для его получения / В.Н. Крылов, Л.В. Ошевенский, Л.М. Кустов.

<sup>205</sup> Пат. № 2068697 РФ, 1996. Средство, обладающее кардиостимулирующим действием / В.Н. Крылов, И.А. Вальцева, В.Ф. Давыдов, Л.В. Ошевенский и др.

Ondetti) синтезировали первый пероральный блокатор АПФ, получивший название «Каптоприл». Это было революционное открытие, положившее начало эры ингибиторов АПФ в кардиологии. В 1999 году Д. Кушман и М. Ондетти стали лауреатами Ласкеровской премии в области прикладной медицинской науки со следующей формулировкой: «За изобретение нового подхода к разработке лекарств, основанного на изучении структуры белков, и использование его для создания ингибиторов АПФ – мощных средств лечения гипертонии, сердечной недостаточности и почечной недостаточности при диабете».

При изучении возможности применения токсинов из ядов змей в медицине большое внимание уделяется поиску эффективных протекторных средств при нейродегенерации. На основе дендротоксинов (DTX) яда мамб (сем. Elapidae) созданы соединения, адаптивно контролирующее возбудимость поврежденных нейронов при нейродегенеративных заболеваниях, чем обеспечивается, как повышение их активности (избирательная блокада подтипов потенциал-зависимых  $K^+$ -каналов при болезни Альцгеймера), так и подавление (активаторами  $K^+$ -каналов в качестве противосудорожных препаратов при эпилепсии).

Следует отметить новое необычное свойство ядов змей (как, впрочем и других зоотоксинов – пчел, жаб) – оказывать термопротекторное действие на организм экспериментальных животных (мышей, крыс, кроликов) в условиях их острого перегревания (Ягин, 2007). Было показано, что яды кобры, щитомордника, эфы, гюрзы, гадюки в определенных дозах увеличивают продолжительность жизни животных в условиях высокой внешней температуры ( $50^{\circ}\text{C}$ ) в 1.5–5.0 раз. При этом выявлено увеличение количества в периферической крови эритроцитов, ретикулоцитов, уровня гемоглобина и гематокрита, сегментоядерных лейкоцитов и уменьшение количества нейтрофилов. Показано, что при указанных условиях эксперимента общее время свертывания крови и время образования сгустка увеличиваются. Установлено, что сочетанное применение зоотоксинов и гипертермии сопровождается стабилизацией сердечного ритма, систолического, диастолического и пульсового давления. Частота дыхательных движений при этих условиях опыта увеличивается, что способствует более интенсивному испарению влаги со слизистой оболочки.

Описанные результаты могут не только быть использованы для понимания механизмов адаптогенного действия ядов на гипертермированных животных, но и иметь практический выход, например для защиты организма человека от побочных эффектов перегревания при терапии опухолевых заболеваний (Шабалин, Крылов, 2014). Авторы полагают, что термопротекторный эффект связан с неспецифической реакцией змеиных ядов, которые выступают в качестве стрессора. Известно, что 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.

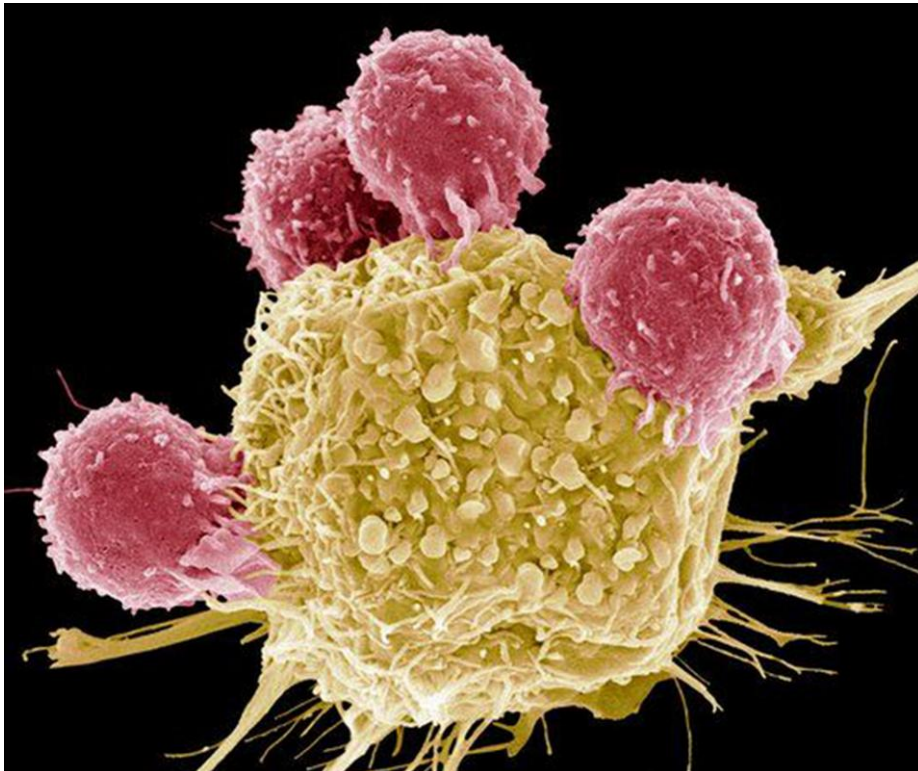
На основании вышеприведенных данных можно заключить, что выявленный терапевтический эффект змеиных ядов, как при моделировании патологических состояний, так и при терапии заболеваний, реализуется через комплекс механизмов как на уровне органов и систем, так и на уровне клеточного метаболизма. В отличие от действия многих известных лекарственных средств, этот эффект

развивается вследствие умеренной, диктуемой возможностями самого организма модуляцией функций важнейших систем организма без перенапряжения энергетических ресурсов органов и тканей и, следовательно, без их необратимой деструкции. Таким образом, яды, выступая как экстремальные факторы внешней среды, вызывающие в обычных условиях существования организма комплекс приспособительных изменений как сомато-вегетативных функций, так и процессов метаболизма, в условиях патологии могут становиться факторами, запускающими или усиливающими уже идущую в организме цепь иерархических процессов, направленных на устранение патологического процесса.

## ИММУНОТОКСИКОТЕРАПИЯ ОТРАВЛЕНИЙ ЗООТОКСИНАМИ

Противоположное излечивается  
противоположным.

*Гиппократ*



**В** основе успешной защиты людей и животных от поражения ядовитыми животными лежит способность иммунной системы формировать память от первичного контакта с чужеродными антигенами. Некоторые животные-офиофаги (питающиеся преимущественно змеями) обладают иммунитетом к ядам змей, имея антигеморрагические и антинейротоксические факторы в своей крови. Такими животными являются королевские змеи (*Ophiophagus hannah*), опоссумы, мангусты и ежи.

Врождённого иммунитета к животным токсинам у человека не существует но, в отличие от животных, человеку можно привить иммунитет, вводя малые и умеренные дозы яда. Согласно греческой мифологии, понтийский царь Митридат VI Евпатор, правивший с 120 по 63 годы до н.э., поступил именно так, чтобы защитить себя от отравления; поэтому процедура введения яда в небольших дозах часто называется *митридизацией*. Известны примеры успешного применения митридизации в Австралии и Бразилии с выработкой иммунитета против нескольких чрезвычайно ядовитых видов кобр и гремучих змей. Директор серпентария в Майами (США, Флорида) Билл Хааст (1910–2011) в 1950 году успешно привил себе иммунитет против ядов капской (*Naja nivea*), индийской (*Naja naja*) и королевской (*Ophiophagus hannah*) кобр. Известно, что человеческий организм не способен продуцировать и поддерживать достаточное количество антител, необходимое для нейтрализации отравления ядом некоторых крупных змей. Кроме того, в отличие от вакцинации, цель которой – развитие иммунитета, для предотвращения или ослабления последствий заражения нейтрализация поступившей в организм большой дозы яда требует поддержания в крови высокого уровня циркулирующих антител. Такое состояние организма (состояние гипериммунизации) достигается с помощью периодического введения инъекций токсина (обычно, каждый 21-й день). При этом поддержание устойчивости к нескольким токсинам требует многомесячных инъекций яда, хотя долговременные эффекты введения яда на организм человека и не изучены, а цитотоксические компоненты яда могут причинять боль и оставлять шрамы в зоне иммунизации. С учетом вышеперечисленных причин можно полагать, что у метода митридизации нет большой практической ценности, за исключением возможности использования такого подхода к работникам зоопарков, исследователям и цирковым артистам, имеющим близкий контакт с ядовитыми животными.

Наиболее эффективным средством при лечении последствий укуса ядовитой змеей, является введение специфического противоядия – антисыворотки. Антисыворотки (antivenom – животное противоядие) – это биологический препарат, использующийся в лечении ядовитых укусов. Впервые термин *антивенин* (Antivenene, Antivenin) появился в специальной литературе в 1895 году<sup>206</sup>. Принципы действия противоядия основываются на принципах действия вакцин, впервые описанных Э. Дженнером в 1796 г.; однако, вместо развития иммунного ответа непосредственно у пациента, иммунный ответ сначала вызывается у животного-хозяина, а его гипериммунизированная сыворотка крови затем переливается пациенту.

Первая змеиная антисыворотка (против яда кобры *Naja naja*) была разработана французским учёным из Института Пастера (Индокитайское отделение) А. Кальметом в 1895 году. Позднее В. Бразиль (Институт Бутантан, Бразилия, Сан-Паулу) в 1901 году разработал первые моновалентные и поливалентные противоядия

---

<sup>206</sup> Merriam-Webster Dictionary.

против центральноамериканских и южноафриканских змей родов *Crotalus*, *Bothrops*, *Elapidae*, а также против некоторых видов ядовитых пауков, скорпионов и лягушек. Понятно, что эти противоядия были получены эмпирическим путем, что значительно удлиняло достижение желаемого результата. Более того, использование нативных ядов для иммунотоксикотерапии, а также лечебное их применение без глубокого знания механизма их действия чревато в ряде случаев опасностями. Так, при длительном применении с лечебной целью ядов змей в организме могут развиваться аутоиммунные процессы с последующим подавлением механизмов иммуногенеза. Это диктует необходимость изучения иммуотропных свойств зоотоксинов и получение антисывороток нового поколения.

В настоящей главе обобщены по филогенетическому принципу данные о влиянии различных зоотоксинов на иммунологические реакции организма и рассмотрены современные подходы к получению антисывороток.

## 25.1. ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЯДОВ КИШЕЧНОПОЛОСТНЫХ

Белковые компоненты яда кишечнорастных обладают антигенными свойствами. У морских свинок, иммунизированных ядом медузы *Chironex fleckeri*, наблюдается накопление антител и образование комплемент-фиксирующих антител. Внутривенное введение токсина медузы *Chrysaora* sp. кроликам приводит к образованию антилетальных, антигемолитических и антинекротических факторов, обладающих неодинаковой устойчивостью к нагреванию. Разработана антисыворотка, обладающая защитными свойствами в отношении нефракционированного экстракта из щупалец медуз *Chironex fleckeri*, *Chrysaora quinquecirrha*, *Chiropsalmus quadrigatus*. Следует отметить, что яд медузы *Gonionemus vertens* не только не вырабатывает иммунитета, а, напротив, делает организм повышено чувствительным даже к небольшим дозам того же яда и может вызвать анафилактический шок.

С помощью токсоида, приготовленного обработкой токсина морского ежа *Tripneustes gratilla* формалином, была проведена иммунизация кроликов. Полученная в результате иммунизации антисыворотка эффективно нейтрализовала токсин *Tripneustes gratilla* и давала перекрестные реакции с токсическими белками другого вида – морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus*.

## 25.2. ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЯДОВ ПАУКООБРАЗНЫХ

### 25.2.1. Яд скорпионов

Изучение иммуотропных свойств яда скорпионов продиктовано, в первую очередь, потребностями медицинской практики и предполагает наличие, как минимум, двух стратегий: получения антисывороток и вакцин. Экспериментально установлено, что цельный яд скорпиона (*Androctonus australis*) содержит большое число видоспецифических токсинов, что обуславливает различные антигенные и иммуногенные свойства его структурных компонентов. Марготоксин, выделенный из яда скорпиона *Centruroides margaritatus*, обладает иммуносупрессивным свойством и может быть использован для лечения аутоиммунных заболеваний и

предотвращения реакции отторжения трансплантатов при пересадке органов. Полипептид из яда скорпиона *Buthus martensii*, напротив, обладает стимулирующим действием на активность «нулевых клеток», пролиферацию лимфоцитов и гиперчувствительность замедленного типа у мышей, носителей гематомы. Полагают, что этот полипептид может восстанавливать нарушения иммунитета, вызванные химическими препаратами или опухолью. Яд кавказского скорпиона *Buthus caucasicus* обладает модулирующим действием на формирование первичного иммунного ответа к Т-зависимому антигену. Для яда кавказского скорпиона характерна дозовая зависимость. Яд в дозе 0.04 DL<sub>50</sub> не вызывает изменений интенсивности гуморального иммунитета. Более высокие дозы яда (0.1–0.4 DL<sub>50</sub>) стимулируют процесс накопления АОК в селезенке мышей; доза 0.6 DL<sub>50</sub> угнетает гуморальные иммунные реакции.

Исследование действия яда кавказского скорпиона *Buthus caucasicus* в экспериментах по схеме «время – эффект» показало, что однократное применение яда в дозе 0.2 DL<sub>50</sub> в различные периоды антителогенеза заметно изменяло характер ответной реакции на антиген. Установлено, что яд скорпиона не влиял на иммунокомпетентные клетки, находящиеся в фазе G<sub>0</sub> клеточного цикла, а активно действовал на продуктивную фазу антителогенеза, развивающуюся вслед за антигенным стимулом. Введение зоотоксина одновременно с иммунизацией вызывало угнетение антителообразования и снижение титров антител. Значительная стимуляция иммуногенеза отмечена при инъекции яда в продуктивный период антителообразования.

**Антисыворотки.** Изучение выработки протективных антител у мышей и кроликов к яду мексиканского скорпиона *Centruroides noxius* также выявило видовые особенности. В этих экспериментах использовались три различных иммуногена: Сп5-токсин, специфичный в отношении ракообразных; рекомбинантный белок, содержащий пептид Сп5, связанный с переносчиком мальтозы, и, наконец, субфракция (F.П.5), содержащая 25 отдельных пептидов, в том числе Сп5. Мыши, иммунизированные этими препаратами, при непосредственном введении цельного яда скорпиона не вырабатывали защиты, в то время как антисыворотка, полученная от кроликов, при введении мышам была способна частично нейтрализовать действие яда. При этом кроличья антисыворотка против Сп5 обеспечивала лучший протективный эффект у мышей, чем кроличья антисыворотка против двух других, использованных в эксперименте антигенов.

При лечении ужалений иранских скорпионов успешно применялась антисыворотка, полученная путем иммунизации лошадей смесью различных ядов скорпионов. Мыши приобретали иммунитет к яду скорпиона после трехкратного введения нетоксичной фракции яда, состоящей из 12 белков с молекулярной массой от 9800 до 16300. Полагают, что эта фракция яда индуцировала выработку антител к токсичным компонентам яда.

Известно, что при ужалении скорпионами могут развиваться аллергические реакции. Методами иммунодиффузии и иммунофореза из яда разных видов скорпионов выделены несколько антигенных детерминант. Так, в яде скорпиона *Androctonus amoreuxi* обнаружены девять, а в яде скорпионов, обитающих в Грузии и Средней Азии – два аллергена. Антигенные компоненты обнаружены и в яде других видов скорпионов: *Buthus tamulus*, *B. quinquestriatus*, *Palamneus gravimanus*, причем линии преципитации этих ядов различны. Гипериммунизация кроликов позволила получить сыворотку, нейтрализующую лишь шесть летальных доз этих ядов.



Иммунотропные свойства токсинов яда скорпионов зависят от химического строения. Нейротоксины скорпионов с дисульфидными связями, действующие на ионные каналы, имеют общие структурные свойства, но различаются по своим антигенным и иммуногенным свойствам. Пептиды без дисульфидных связей обуславливают спектр различных функций, в том числе инициирование молекулярного клеточного сигнала и модуляцию иммунного ответа. Анализ иммунной реакции, вызываемой нейротоксином яда скорпиона *Centruroides noxius Hoffmann*, выделенным токсином, специфичным для ракообразных, или рекомбинантным белком, содержащим нейротоксин яда, выявил наибольшую эффективность рекомбинантного белка. Полученные результаты следует учитывать при выборе иммуногенов, нацеленных на создание более совершенных антисывороток к яду скорпиона.

**Вакцины.** При разработке антискорпионной вакцины возникают, как минимум, три проблемы: значительная остаточная токсичность, нерастворимость инактивированного яда и слабая иммуногенность различных фракций. Для устранения остаточной токсичности в Институте Пастера в Тунисе приготовили инактивированный яд скорпионов (*Androctonus australis*, *Buthus occitanus*) и анатоксины двух прототипов на основе полимеризованных глутаральдегидом фракций яда с добавлением минеральных стимуляторов. Получены моноклональные антитела для нейротоксина из яда скорпиона *Androctonus australis hector* и его нетоксичного синтетического аналога с целью выработки стратегии иммунного ответа на яд скорпиона в эксперименте и поликлональные антитела к пептидам, а также изучены иммунологические свойства токсинов яда иранского скорпиона с целью приготовления вакцины.

С целью сохранения высокой иммуногенности выделенных антигенов широко используют адьюванты. Один из них – липосомы, позволяющие доставлять антигенные пептиды непосредственно в антигенпрезентирующие клетки и тем самым запускать иммунные реакции. Например, включение токсичной фракции яда скорпиона (*Tityus serrulatus*) в сфингомиелин-холестериновые липосомы. После введения приготовленного препарата у всех мышей была выявлена выработка антител IgG, специфичных в отношении яда скорпиона. Антитела способны нейтрализовать *in vitro* яд скорпиона и защищать мышей от смертельной дозы яда. Выжившие мыши вырабатывали *in vitro* нейтрализующие антитела к яду скорпиона. Другой подход к созданию вакцин нового поколения строится на применении технологии рекомбинантной ДНК.

### 25.2.2. Яд пауков

Как известно, укусы пауков (арахноидизм) являются большой медицинской проблемой, интенсивно разрабатываемой в настоящее время. Так, иммунологические исследования яда паука *Loxoscelus reslus* показали, что он блокирует 3b-компонент C<sub>1</sub> у морской свинки и эквивалентный компонент C<sub>5</sub> у человека и стимулирует образование преципитирующих антител при иммунизации кроликов. Позднее была установлена способность яда паука инактивировать человеческий комплемент C<sub>1</sub>–C<sub>7</sub> *in vitro*. Интересно отметить, что инактивация комплемента, индуцируемая ядом, не нуждалась в кофакторах сыворотки. Изучена иммунобиологическая активность яда трех видов пауков *Loxosceles* (*L. gaucho*, *L. laeta*,

*L. intermedia*). Выявлен низкий уровень протеолитической, миотоксической и фосфолипазной активности яда.

Разрабатываются и новые подходы к созданию антисывороток, основанные на технологии рекомбинантной ДНК. Осуществлено клонирование к ДНК сфингомиелаза D из ядов пауков *Loxosceles reclusae*, *L. boneti*, *L. laeta*. Рекомбинантные сфингомиелазы сравнивались по токсичности, ферментативной активности и использовались в качестве иммуногенов для получения моновалентных антисывороток. Рекомбинантный белок, полученный из яда паука *Loxosceles intermedia*, использован в качестве антигена при иммунизации кроликов и мышей с целью создания модельной протективной антисыворотки к яду.

В Ташкентском НИИ вакцин и сывороток (Узбекистан) выпускается моновалентная сыворотка против яда каракурта *Latrodectus* sp. Но, в отличие от большинства противоядных сывороток, антисыворотка к яду *Latrodectus hasselti* должна вводиться внутримышечно.

### 25.3. ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЯДОВ НАСЕКОМЫХ

#### 25.3.1. Яд перепончатокрылых

Среди ядов жалоносных насекомых наиболее полно изучена иммунотропная активность яда пчелы медоносной (*Apis mellifera* L.). Показано, что обработка В-лимфоцитов фосфолипазой А яда пчел придает клеткам способность взаимодействовать с «ненагруженными» (антителами и комплементом) эритроцитами барана, свиньи, мыши, но не человека или кролика. Яд пчел является иммунологическим агентом, стимулирующим метаболические и защитные функции организма за счет увеличения содержания в крови интерферона. Пчелиный яд в малых концентрациях (0.02–0.2 мкг/мл) обладает иммуномодулирующим действием в реакциях неспецифической резистентности организма и, с одной стороны, стимулирует фагоцитоз и комплементарную активность сыворотки крови, а с другой – тормозит реакцию розеткообразования и скорость миграции лейкоцитов. Известно, что введение высокомолекулярной фракции яда приводит к увеличению в два раза числа гемолизинсинтезирующих клеток, а мелиттин в дозе 20 мкг/мл эффективен при лечении воспалений, инфицированных палочкой Коха. Введение крысам пчелиного яда в дозе 2.25 мг/кг после первоначального снижения, к 7-м суткам увеличивало содержание в крови таких факторов естественной резистентности, как комплемент, лизоцим, БАС крови. Кроме того, показано, что при лечении пчелиным ядом больных туберкулезом в крови повышался титр пропердина.

Сопоставление экспериментальных данных, полученных на двух формах иммунного реагирования, показало, что механизм иммунотропной активности пчелиного яда реализуется посредством макрофагального и эффекторного звеньев иммуногенеза, связанных с изменениями количественного соотношения функционально полноценных популяций Т- и В-лимфоцитов, участвующих в реализации потенциала клеток иммунной системы. Нативный яд пчел в зависимости от дозы вызывает разнонаправленные изменения в реакциях гуморального иммунитета. На модельной реакции гуморальной формы иммунного реагирования установлено дозозависимое действие яда пчел медоносных (*Apis mellifera* L.). В малых дозах

(0.02 DL<sub>50</sub>) пчелиный яд обладает стимулирующим действием на антителогенез. В широком диапазоне более высоких доз (0.08–1.0 DL<sub>50</sub>) яд пчел медоносных угнетает первичный иммунный ответ к Т-зависимому антигену. Действие яда более выражено в индуктивный период по сравнению с продуктивной фазой антителогенеза.

Исследование системы иммунитета крыс при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите (ЭАЭ) в условиях его курсовой терапии пчелиным ядом (апитоксином) показало, что развитие ЭАЭ крыс приводит к однонаправленному изменению показателей иммунитета – возрастанию массы селезенки с соответствующим увеличением числа антителобразующих клеток (АОК), клеточности тимуса и повышением реакции гиперчувствительности замедленного типа. Курсовое введение пчелиного яда здоровым крысам также вызывает усиление активности в системе селезенки – повышение массы и клеточности, АОК, хотя и не влияет на систему тимуса и перитонеальные макрофаги. Совмещение во времени и месте действия двух иммуностимулирующих факторов в виде введения пчелиного яда животным с развившимся ЭАЭ не вносит существенных изменений всех исследуемых показателей системы иммунитета крыс, повышенных в результате ЭАЭ. Вместе с тем, это приводит к облегчению клинического течения ЭАЭ крыс и способствует более быстрому регрессу неврологических проявлений, подтвержденному прямыми гистологическими данными о состоянии нервной ткани. Наиболее важными из приведенных выше работ представляются выводы об уменьшении при курсовом введении апитоксина демиелинизации нервных волокон и об отсутствии реакции гиперчувствительности замедленного типа при действии малых доз яда. Это служит хорошим экспериментальным обоснованием для внедрения пчелиного яда в лечение таких заболеваний, как рассеянный склероз, которого до сих пор нет в перечне показаний для апитерапии.

Много работ посвящено выявлению специфических антител в сыворотках крови животных и людей, обладающих аллергией к яду перепончатокрылых. Цельный пчелиный яд и мелиттин образуют преципитирующие связи и осаждают цельные сыворотки крови животных и человека или их липопротеиновые компоненты, в то же время другие фракции пчелиного яда и компоненты сыворотки не образуют преципитирующие связи. На примере реакции гиперчувствительности к цельному пчелиному яду и мелиттину показано, что последний, в отличие от фосфолипазы А<sub>2</sub>, воспроизводит все иммунные реакции.

Основное направление современных исследований заключается в диагностике аллергии к перепончатокрылым; разработке препаратов для аллерген-специфической иммунотерапии и предотвращения развития анафилактических реакций у людей с повышенной чувствительностью к перепончатокрылым.

Развитие аллергических реакций при ужалении перепончатокрылыми наблюдается достаточно часто. Анафилактические реакции приводят к смерти 50 больных ежегодно. Антигенные свойства яда пчел обусловлены высокомолекулярными компонентами пчелиного яда, включая энзимы и пептиды. Полагают, что в яде пчел содержится несколько аллергенов: фосфолипаза А<sub>2</sub>, гиалуронидаза, мелиттин, аллерген В и С. Известно, что пептид яда пчел апамин (аллерген С), содержит эпитопы, стимулирующие ответ Т-лимфоцитов больных, чувствительных к яду пчел. Получены рекомбинантные формы этого пептида. Один из таких пептидов слабо связывает специфические IgE к яду пчел, но успешно распознается Т-лимфоцитами мышей и человека. Аллергенные свойства отдельных компонен-

тов пчелиного яда определяются величиной заряда, содержанием углеводов, белка, гликопротеинов, основной или кислотной реакцией, молекулярной массой и конформацией.

Пчелиный яд оказывал незначительное токсическое действие на селезенку и костный мозг. При этом количество гемолизинсинтезирующих клеток селезенки под действием цельного пчелиного яда и его фракций изменялось по-разному. Цельный яд и его низкомолекулярная фракция в той же дозе снижали титр геммагглютининов и число клеток, синтезирующих гемолизины. Введение высокомолекулярной фракции яда, напротив, приводило к увеличению вдвое числа гемолизинсинтезирующих клеток по сравнению с контролем. С помощью реакции розеткообразования показано, что обработка В-лимфоцитов препаратом фосфолипазы А яда пчел придает указанным лимфоцитам способность связываться с «ненагруженными» (антителами и комплементом) эритроцитами барана, свиньи, мыши, но не человека или кролика. Следует отметить, что фосфолипаза А пчелиного яда оказалась менее активной по сравнению с фосфолипазой А, выделенной из яда кобры.

Выявлена специфичность действия пчелиного яда в отношении специализированных популяций Th-1 – клеток, участвующих в формировании клеточных иммунных реакций, зависящих от вводимой дозы. Кроме цельного яда пчел медоносных (*Apis mellifera* L.), в реакциях гуморального иммунитета были изучены иммуностропные свойства очищенного лиофилизированного аллергена, изготовленного из нативного яда пчел, стабилизированного сывороточным человеческим альбумином (0.03 мкг/мл)<sup>207</sup>. Комплект аллергена состоит из 4 ампул лиофилизированного препарата, содержащих 100, 10, 1.0 и 0.1 мкг белка яда, и 2 флаконов разводящей альбуминовой жидкости, содержащей 0.3% раствора альбумина человека в жидкости Эванса – Кока.

Изучение анафилактических и иммуногенных свойств аллергена из яда пчел выявило четко выраженную специфическую активность препарата. Предварительными экспериментами показано, что разрешающая доза белка яда пчел (1000–800 мкг) вызывала у sensibilizированных животных анафилактический шок со смертельным исходом (индекс анафилактического шока  $4.0 \pm 0.0$  балла). При вскрытии отмечали симптомы токсического действия аллергена, проявляющегося очагами многочисленных кровоизлияний в легких. Методом общей анафилаксии авторы показали, что аллерген из яда пчел обладал sensibilizирующими, а, следовательно, и анафилактическими специфическими свойствами. У всех sensibilizированных свинок при внутривенном введении разрешающей дозы аллергена из яда пчел развивается анафилактический шок различной степени выраженности (индекс анафилактического шока от 1.5 до 3.0 баллов). Проявление анафилактической реакции строго специфично. У контрольных животных признаки анафилактического шока отсутствуют. При введении животным, sensibilizированным аллергеном из яда пчел нативного яда пчел медоносных (*Apis mellifera* L.) в качестве разрешающей дозы, также развивается анафилактическая реакция. Показано, что анафилактическая активность очищенного аллергена из пчелиного яда (индекс анафилактического шока  $2.38 \pm 0.41$ ) не уступает аналогичным свойствам нативного яда пчел медоносных (*Apis mellifera* L.) (индекс анафилактического шока  $2.33 \pm 0.42$ ).

---

<sup>207</sup> Пат. № 1524226 РФ, 1987. Способ получения аллергена из пчелиного яда / С.М. Титова, Б.Н. Орлов, Н.В. Корнева, Е.Б. Романова.

Среди иммунологических исследований по изучению ядов других жалоносных перепончатокрылых отдельные работы посвящены ядам ос. При иммунологическом исследовании яда шершня (*Vespa orientalis*) было показано, что образование антител вызывали четыре белковые фракции яда. Три из этих иммукопротеидов имелись в электрофоретических фракциях, содержащих гемолитический компонент яда, четвертый был идентичен лизоциму. Выявлены антигенные свойства яда шершня при подкожном введении кроликам и получена эффективная кроличья антисыворотка против этого яда.

Яд осы *Paravespula germanica* взаимодействует с антисывороткой, что характеризуется двумя полосами преципитации, которые свидетельствуют о частичном межвидовом перекрестном иммунитете.

Показано, что некоторые низкомолекулярные белковые компоненты ядов жалоносных насекомых *Polister exlomans*, *P. annularis*, *P. metricus*, *Vespula maculata* обладают способностью образовывать комплексы с сывороткой крови кролика. Эти комплексы отличаются от JgG и являются липопротеинами. Выделены иммуногенные пептиды из антигена яда ос. Предлагается использовать эти пептиды для иммунотерапии больных аллергией к яду ос. У больных с аллергией к яду ос, после проведения специфической иммунотерапии ядом лимфоциты крови активно синтезировали цитокины (интерферон-гамма и интерлейкин-4). Яд наездника *Pimpla hypochondriaca* (Hymenoptera, Ichneumonidae) подавляет иммунитет и вызывает паралич у ряда видов насекомых.

Из яда тропического муравья выделены два антикомплементарных фактора. Первый фактор – Ф-1 – устойчив к кипячению, не оказывает влияния на очищенный компонент комплемента  $C_4$  или  $C_2$ , но вызывает активацию  $C_1$ , что приводит к расходованию  $C_4$  и  $C_2$  в нормальной человеческой сыворотке. Второй фактор – Ф-2 – вызывает инактивацию очищенных компонентов комплемента, но не инактивирует эти компоненты в сыворотке крови. Факторы Ф-1 и Ф-2 в нативном яде тесно связаны и отдельно пока не выделены. Возможно развитие анафилактической реакции при ужалении огненным муравьем (*Solenopsis geminate*).

### 25.3.2. Яд жуков

Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata* Say.), относительно недавно испытанный как биоиндикатор загрязнения почвы гербицидами, имеет ядовитую для беспозвоночных и позвоночных животных гемолимфу. Выявлена иммуногенная активность гемолимфы, о чем свидетельствовало накопление специфических антител в сыворотке крови иммунизированных мышей. Действие гемолимфы было дозозависимым, и динамика синтеза антител после однократного введения отличалась от динамики антителообразования после трехкратного инъектирования токсина.

Установлено модулирующее действие гемолимфы личинок колорадского жука в реакциях гуморального иммунитета. Стимуляция гуморальных иммунных реакций носит выраженную зависимость «доза – эффект». Подавление первичного иммунного ответа имело пороговый характер действия. Малые дозы, стимулируя антителообразование, оказывали преимущественно влияние на клетки, активированные антигеном. Супрессорные эффекты токсических доз опосредовались через макрофагальное звено иммуногенеза. Оценка адьювантного и супрессорного дей-

ствия гемолимфы в реакциях ГЗТ выявила стимулирующие эффекты гемолимфы, которые проявлялись как при использовании белкового антигена (яичного альбумина) с красителем (синькой Эванса), так и в отсутствие адьюванта. В реакциях клеточного иммунитета гемолимфа колорадского жука не проявляла дозозависимого эффекта.

Иммунотропные свойства определяются не только совместным действием активных компонентов гемолимфы на эффекторные и регуляторные клетки, обеспечивающие реализацию иммунных реакций, но и воздействием активных начал токсина на нейрогуморальное звено иммуногенеза.

#### 25.4. ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЯДОВ РЫБ И КРУГЛОРОТЫХ

Сведения о иммунотропной активности рыб и круглоротых в литературе встречаются нечасто. Известно, что радиоиммунный метод и твердофазный иммуноферментный анализ позволяют отличать токсичных для человека рыб от нетоксичных, а иммунологический анализ токсинов ядовитых рыб выявляет наличие общих антигенных свойств у токсичных и нетоксичных белковых экстрактов. В Австралии производится специфическая эффективная антисыворотка «CSL antistone fishes» для защиты от морских рыб семейства бородавчатковых, обитающих возле коралловых рифов. Интересно, что большинство противоядий (включая все змеиные антисыворотки) вводятся внутривенно; однако антитоксины против ядовитой рыбы бородавчатки (*Stonefish victim*) должны вводиться внутримышечно, хотя имеются сведения о неэффективности такого способа введения.

#### 25.5. ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЯДОВ АМФИБИЙ

Изучение иммунотропных свойств ядов амфибий связано с использованием их, как сырья для приготовления лекарственных средств. В 1965 г. из секрета околушных ядовитых желез бразильской жабы был выделен иммунополисахарид, содержащий четыре различных антигена. Исследованы действия секрета надпочечных желез жаб на некоторые клеточные реакции иммунитета. Показано, что яд серой или обыкновенной жабы (*Bufo bufo*) в стимулирующей дозе (1/300 DL<sub>50</sub>) увеличивает количество Т-лимфоцитов в лимфатических узлах и повышает их функциональную активность. Однократное введение наименьшей токсической дозы секрета кожных желез снижает количество Т-клеток, а трехкратное введение дополнительно снижает и их функциональную активность.

На модели первичного иммунного ответа установлено дозозависимое действие яда жабы зеленой в отношении реакций гуморального иммунитета. опыты показали, что однократное внутрибрюшинное введение мышам яда в дозе 0.01 DL<sub>50</sub> в различные сроки по отношению к началу иммунизации вызывает ярко выраженный стимулирующий эффект, независимо от срока введения. Наибольшая выработка АОК в селезенке мышей наблюдалась при введении яда до тест-антигена. Яд жабы зеленой в дозах 5.0–15.0 мг/кг (0.08–0.25 DL<sub>50</sub>) оказывал подавляющее действие на число антителообразующих клеток. При этом уровень снижения выработки АОК определялся не только дозой, но и сроком его введения в организм по отношению к тест-антигену.

В опытах по изучению влияния яда жабы на величину титров антител в сыворотке крови мышей, при первичном иммунном ответе, были также выявлены зависимости «доза–эффект» и «время–эффект». Результаты экспериментов показали, что внутрибрюшинное введение яда ( $0.01 DL_{50}$ ) до иммунизации вызывало стимулирующий эффект. Степень выраженности снижения определялась не столько концентрацией введенного яда, сколько зависела от срока его введения. При исследовании яда в дозе  $0.08 DL_{50}$  более сильное снижение выработки антител наблюдалось при его введении до иммунизации ( $t_{до-после} = 4.90$ ;  $p = 0.000115$ ). А доза  $0.25 DL_{50}$  проявляла максимальный супрессорный эффект при инъекции после антигенного стимула ( $t_{до-после} = 3.43$ ;  $p < 0,001$ ). Действию малых концентраций яда ( $0.01–0.08 DL_{50}$ ) более подвергались клетки макрофагальной популяции. В клоне активно пролиферирующих плазматических клеток более выраженные изменения наступали при инъекции высоких доз зоотоксина ( $0.25–1 DL_{50}$ ).

На основе секрета кожных желез яда зеленой жабы *Bufo viridis* был разработан новый кардиотонический препарат «Буфотин», действие которого было также изучено в реакциях гуморального иммунитета. Очищенный препарат в инъекционной лекарственной форме (0.2%-ный раствор), полученный из секрета кожных желез зеленых жаб, введенный однократно, внутрибрюшинно, одновременно с иммунизацией в интервале доз ( $1.23–30.80$  мг/кг), кратном  $0.02–0.54 DL_{50}$  цельного яда, не изменял интенсивности гуморального иммунного ответа на корпускулярный антиген. При введении наименьшей из исследуемых доз секрета кожных желез жаб ( $1.23$  мг/кг– $0.02 DL_{50}$ ), соответствующей нижнему порогу предполагаемой терапевтической дозы, количество АОК составляло 84.47% ( $p = 0.0587$ ); 84.67% ( $p = 0.455$ ) и 114.44% ( $p = 0.806$ ) к контролю, соответственно в трех сериях эксперимента. Следующая доза ( $3.08$  мг/кг –  $0.05 DL_{50}$ ), соответствующая верхнему порогу предполагаемой терапевтической дозы, также не извращала процесса антителообразования. Количество АОК (в % к контролю) составляло: 82.40% ( $p = 0.150$ ); 82.75% ( $p = 0.389$ ); 81.00% ( $p = 0.074$ ) и 97.58% ( $p = 0.916$ ) – соответственно в четырех сериях.

Очищенный препарат яда жаб «Буфотин» в дозах  $0.27$  и  $0.54 DL_{50}$ , отличающихся от первоначальных на  $1.0$  или  $0.5$  порядка, также не вызывал статистически значимых различий в числе АОК в селезенке мышей опытных и контрольных групп. Исследуемые дозы препарата не меняли динамику выработки антиэритроцитарных антител в сыворотке крови мышей при первичном иммунном ответе. Установлено, что очищенный препарат яда жаб обладал способностью вызывать снижение формирования реакции ГЗТ. Степень подавления реакции зависела от срока введения препарата по отношению к антигенному воздействию. Известно, что очищенный препарат яда жаб является кардиотоническим средством, и его фармакологическое действие опосредуется, по всей видимости, без участия иммунной системы.

## 25.6. ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЯДОВ РЕПТИЛИЙ

Среди животных токсинов иммунотропные свойства змеиных ядов наиболее изучены. Антигены змеиных ядов (например токсины гадюковых) содержатся в основном в эпителии главных ядовитых желез, и их количественное содержание изменяется в зависимости от развития секреторных стадий ядовитых желез.

Мономеры и димеры, входящие в состав токсического полипептида яда кобры, приобретают антигенные свойства, когда они связываются с полным адьювантом. Обзор имеющихся литературных сведений, посвященных антигенной и иммунотропной активности ядов, в частности змеиных, показывает, что биосинтез ядовитых секретов осуществляется у разных видов различными путями, при этом ядовитые продукты несут антигенные детерминанты и вызывают синтез антител. Отметим некоторую противоречивость литературных сведений, связанную с диагностикой видовых различий продуцентов животных ядов. По мнению одних авторов, яды змей, относящихся к разным видам и семействам, тождественны в иммунологическом отношении. В то же время другие исследователи указывают, что существуют резкие отличия иммунологических свойств яда змей, даже в пределах одного семейства. В яде гадюки Рассела (*Daboia/Vipera russelli*) из восточных и западных областей Индии доминировали кислые белки, а в ядах из северных и южных районов главный вклад давали основные белки – фосфолипаза  $A_2$ , что объясняет их разную иммунобиологическую активность. Поликлональные антитела против яда змей южных областей обладают кросс-реактивностью разной степени к ядам змей из других регионов. В то же время поликлональные антитела против яда змей из северных областей не защищают от летального действия ядов змей из других регионов. Существует определенная корреляция между толерантностью к яду и титром антител. Токсин яда змеи хабу, содержащий токсиды  $HR_1$  и  $HR_2$ , вызывает образование  $HR_1$ -антител. Введение трем испытуемым очищенного токсина яда змеи хабу показало более выраженное снижение титра  $HR_1$ -антител, чем  $HR_2$ -антител после второй инъекции. Установлено, что наряду с угнетением продукции агглютининов в начале иммунизации яды некоторых змей стимулировали продукцию преципитинов.

На введение змеиных ядов организм способен отвечать специфической аутоиммунной реакцией, которая обнаруживается по наличию аутоантител в сыворотке крови. Предполагают, что образование антител связано с радикальными изменениями вторичной и, возможно, третичной структуры белковых компонентов ядов змей, зависит от дозы введенного токсина и подчиняется линейной зависимости. Введение мышам сублетальной дозы яда гюрзы выявило значительное увеличение количества плазматических клеток в ткани селезенки.

Установлено, что изменение уровня показателей иммунологической реактивности при введении животным токсических доз зависит от видовой принадлежности и дозы вводимого яда. Так, яд кобры (доза 0.3 мг/кг) оказывает выраженное депрессивное действие на уровень комплемента, лизоцима, лимфоидный аппарат, поглотительную способность ретикулоэндотелиальной системы, фагоцитарную активность лимфоцитов. В то же время яды гадюк, эфы, щитомордника в той же дозе не проявляют выраженного однонаправленного действия. Введение змеиных ядов в основном вызывает уменьшение числа иммунокомпетентных клеток в селезенке неиммунизированных животных. Особенно заметное уменьшение числа клеток вызывали яды гадюковых змей. Угнетающее действие ядов гадюковых змей сохраняется и при исследовании через 6–10 суток после инъекции. Обнаруженный депрессивный эффект не связан с токсичностью яда, и снижение уровня антителообразующих клеток обусловлено цитотоксическим и цитолитическим действием змеиных ядов. Полагают, что нативные яды, особенно в больших дозах, тормозят продукцию иммуноглобулинов разных классов.



В отличие от ядов гадюковых, нативный яд обыкновенного щитомордника в малых дозах не оказывает депрессивного эффекта. Показано, что яд щитомордника (0.002 мг/мл), введенный внутривожно 10-дневным цыплятам, повышает клеточный и гуморальный иммунитет. Яд кобры вызывает увеличение (в 2 раза по сравнению с контрольной группой) количества иммунокомпетентных клеток. Лечебные препараты випраксин и випералгин, содержащие токсины гадюковых, а также нативный яд палласова щитомордника в терапевтической дозе не оказывают существенного влияния на содержание иммунокомпетентных клеток.

Не одинаково влияют токсины различных видов змей и на уровень комплемента. Изучение действия ядов змей различных семейств (Viperidae, Elapidae) на систему комплемента показало, что они обладают ярко выраженной антикомплемментарной активностью и различаются по избирательности инактивирования фракций системы комплемента. Следует указать, что даже яды одного семейства обладают разной способностью связываться с компонентами комплемента. Показано, что мембранный кофакторный белок CD46 подавляет индуцируемый фактором яда кобры метаморфоз тромбоцитов и предотвращает комплемент-зависимое повреждение функционирующего сердца морской свинки. На модели реакции Артюса у крыс CD46 предохраняет животных от кожных повреждений, индуцированных иммунными комплексами.

Из яда кобры выделены две фракции (ФР-1 и ФР-2), обладающие антикомплемментарной активностью. ФР-1 оказывала действие на разные компоненты комплемента (но не на  $C_3$  и  $C_5$ ). Вторая фракция, в отличие от первой, вызывала лизис эритроцитов морской свинки и подавляла компоненты  $C_3$  и  $C_9$  комплемента сыворотки крови или вызывала снижение пролонгированной активности компонентов  $C_3$  и  $C_5$  с транзиторным освобождением анафилотоксина.

При введении животным антикомплемментарных факторов яда кобры происходит торможение процесса накопления нейтрофилов в месте реакции антиген – антитело. Иммунологические реакции, требующие участия нейтрофилов, такие как пассивная кожная анафилаксия или реакция задержки кожной чувствительности у морских свинок, не изменяются под действием антикомплемментарного фактора. Антикомплемментарная активность яда кобры не связана с присутствием в нем фосфолипазы  $A_2$ . Антикомплемментарные факторы яда змеи *Crotalus atrax* (Q1, Q2, Q3, Q4) отличаются от таковых яда кобры молекулярной массой, отсутствием реакции с антисывороткой к фактору яда кобры и отсутствием потребности в факторе В. Имеются данные о применении препарата антикомплемментарного фактора кобры, необходимого для активации защитных сил организма в случае заболевания обезьян грамотрицательной бактериемией.

Исследования по оценке состояния иммунологической реактивности организма при укусах змей и введениях лечебных препаратов, содержащих змеиный яд, начаты сравнительно давно. Установлено, что яды змей обладают высокой иммунотропной активностью. Змеиные яды резко снижают процесс антителообразования, что является следствием угнетения пролиферативных процессов в лимфоидной ткани, плазматических реакций в селезенке и, в целом, иммуногенеза; наиболее угнетающее действие оказывают яды гадюковых змей.

Изучение интенсивности гуморального иммунного ответа на корпускулярный антиген (эритроциты барана – ЭБ) при экспериментальном введении яда гюрзы показало, что наименьшая из исследованных доз яда (0.01 DL<sub>50</sub>) не вызывает изменений в реакциях гуморального иммунитета. Иммуносупрессорное дей-

ствие яда гюрзы (0.1 DL<sub>50</sub>), установленное на модели гуморального иммунитета, проявляется лишь в начальных стадиях формирования первичного иммунного ответа и не сопровождается изменением его динамики. Одновременное введение яда с тест-антигенным стимулом (ЭБ) выявило преимущественное влияние белковых компонентов яда на индуктивный период антителогенеза по сравнению с продуктивной фазой.

Исследуемые дозы яда гюрзы не вызывают изменения в выработке антиэритроцитарных антител в сыворотке крови мышей в динамике первичного иммунного ответа. Сравнение титров агглютининов в опытных и контрольных группах не выявило достоверных различий между ними. Однократное введение яда гюрзы (0.01 DL<sub>50</sub> и 0.1 DL<sub>50</sub>) одновременно с антигеном не сопровождается изменением интенсивности выработки антиэритроцитарных антител в сыворотке крови экспериментальных животных, что свидетельствует о затруднении реализации иммунной функции организма в случае атаки агрессивным токсическим агентом нейротропного действия.

В опытах на мышах BALB/c исследование влияния яда южноамериканской гремучей змеи *Crotalus durissus terrificus* на гуморальный и клеточный иммунный ответ показало, что введение цельного яда и его основного нейротоксического компонента (кротоксина) подавляет иммунный ответ. Нетоксичные компоненты яда не влияют на иммунный ответ. Реакция гиперчувствительности замедленного типа, вызванная экспериментально путем введения эритроцитов барана и смеси ангидрида лауриновой кислоты с бычьим сывороточным альбумином, не тормозится ядом малайской ямкоголовой гадюки при его внутривенном введении, а ее опосредованное торможение посредством снижения уровня комплемента C<sub>3</sub> и повышения уровня комплемента C<sub>9</sub> осуществлялось белковым фактором яда кобры. Яд гюрзы среднеазиатской – *Macrovipera lebetina* L., (0.1 DL<sub>50</sub>) – угнетает экспериментальную воспалительную реакцию к обоим антигенам (эритроцитам барана – ЭБ и метилированному бычьему альбумину – МБСА).

Яд гадюки обыкновенной – *Vipera berus* L. (0.25 DL<sub>50</sub>) – полностью блокирует развитие клеточных реакций, а яд гадюки Никольского – *Vipera nikolskii* (0.1 DL<sub>50</sub>) – оказывает супрессорное действие на воспроизведение реакции ГЗТ. Яд эфы песчаной – *Echis carinatus* Schneid (0.04 DL<sub>50</sub>) – оказывал адьювантное действие в отношении реакции, вызванной МБСА с красителем синий Эванса (ЭС). Эффекты суммации адьювантных свойств яда и ЭС отсутствовали. Таким образом, змеиные яды в реакциях клеточного иммунитета давали дозозависимый иммуноотропный эффект. Большие дозы подавляли, а малые оказывали адьювантное действие и не препятствовали формированию полноценной реакции ГЗТ.

## 25.7. ПОЛУЧЕНИЕ АНТИСЫВОРОТОК

Ежегодно около миллиона человек страдает от укусов ядовитых змей, поэтому разработка высокоэффективных антисывороток является актуальной задачей во всем мире. Противоядие (антисыворотка) состоит из нейтрализующих яд антител, полученных от иммунизированных одним или несколькими видами ядами змей животных (обычно лошадей, овец или кроликов). Животное проходит курс гипериммунизации под воздействием нелетальных доз ядов, в результате чего его организм вырабатывает нейтрализующие антитела. Кровь животного забирается через определённые интервалы времени, и из неё выделяются антитела. Полученные

антитела применяются для создания антисывороток, которые должны отвечать нормам фармакопеи и стандартам, установленным Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ). В России основную опасность представляет обыкновенная гадюка *Vipera berus*, против яда которой создана сыворотка<sup>208</sup>.

Сыворотку получают путем многоступенчатой иммунизации лошадей нативным ядом змеи в присутствии неспецифического раздражителя. Процедура включает подготовительный этап с постепенным увеличением дозы инъекции, последующую гипериммунизацию в присутствии фосфатного сорбента, кровопускание, отдых, забор крови и приготовление сыворотки. Перед подготовительным этапом проводят двукратное грундирувание<sup>209</sup> лошадей в присутствии алюмокалиевых квасцов, подготовительный этап проводят также в присутствии алюмокалиевых квасцов до достижения иммунного ответа 5–10 АЕ. Гипериммунизацию проводят двукратно при соотношениях яда и сорбента, равных 2:1–3:1, кровопускание осуществляют по достижении иммунного ответа 15–20 АЕ. Способ позволяет получить высокоэффективную сыворотку против яда гадюки обыкновенной, при этом значительно снизить гибель лошадей-продуцентов, увеличить сроки их эксплуатации.

Если яд, с помощью которого проводили гипериммунизацию, был добыт из одного вида змей, то противоядие называется моновалентным (эффективно только против яда одного вида); если из двух или более видов – поливалентным (эффективно против яда нескольких видов). Структуры из антител в противоядии могут подразделяться на цельные и фрагментарные. Цельные структуры состоят из целых молекул антител, чаще всего иммуноглобулинов G (IgG), в то время как фрагментарные получают в результате разрезания целых молекул IgG на Fab (мономерный участок связывания антигена) или на F(ab')<sub>2</sub> (димерный участок связывания антигена) (рис. 25.1). Участок связывания антигена (Fab) – это участок молекулы иммуноглобулина, связывающий антигены, в том числе и яды. Антитело, например IgG, может быть разрезано ферментом папаином на три фрагмента: на 2 Fab-фрагмента и один Fc-фрагмент (кристаллизующийся фрагмент иммуноглобулина, fragment crystallizable region). Также антитело может быть разрезано ферментом пепсином на 2 фрагмента по-другому: на один F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент и один rFc'-фрагмент. Размер Fab (50 кДа) меньше, чем размер F(ab')<sub>2</sub> (110 кДа). Эти различия в размерах значительно влияют на степень их воздействия и распространения.

Иммунологические исследования, связанные с разработкой антисыворотки к яду кобры, показали, что основной токсический полипептид яда кобры (кобротоксин) реагирует с JgG-антителами. После разделения комплекса антиген – антитело очищенное антитело полностью осаждалось кобротоксином, и его нейтрализующая активность по сравнению с активностью исходной противоядной сыворотки была в 17.5 раза выше. Установлена необходимость сохранения бивалентности молекулы JgG для нейтрализации токсических компонентов яда. Проведены исследования иммунологических свойств ядов морских змей и получены

---

<sup>208</sup> Пат. № 2134591 РФ, 1997. Способ получения сыворотки против яда змеи гадюки «Антигадюка» / В.В. Ермолов, В.М. Роменский; Т.М. Кузнецова и др.

<sup>209</sup> Грундирувание – метод отбора животных-продуцентов, обладающих высокой реактивностью организма и способных выработать антитела против введенного антигена в высоких титрах.

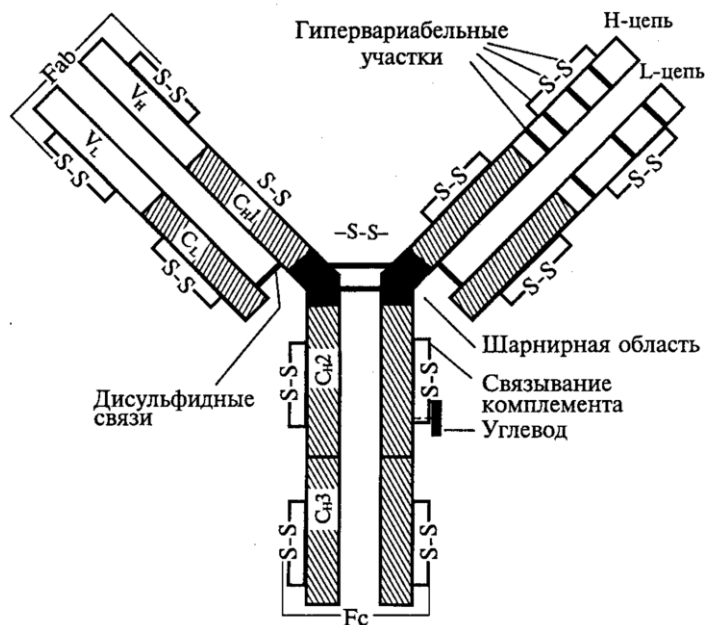


Рис. 25.1. Структура IgG (Галактионов, 2004)

антитоксические сыворотки против этих ядов. Обсуждается практическая ценность антитоксинов в лечении укусов змей различных видов. Установлены различия в реакциях противоядных сывороток с высушенными и свежими ядами змей. Рассмотрены последние достижения с применением новых технологий в иммунотерапии интоксикации, вызванной укусами ядовитых змей. Обсуждаются преимущества и сложности использования в этих целях высокоспецифичных и поливалентных антител. В этой связи заметим, что перекрестная преципитация не обязательно означает, что обеспечена кросс-защита, однако между близкородственными видами обычно она имеет место. Информация о кросс-реактивности антисывороток является очень важным методом выявления филогенетических связей между видами змей и вариабельностью ядов, что может способствовать разработке эффективного лечения при укусах.

Эффективность иммунотоксикотерапии убедительно доказана при лечении острых отравлений змеиным ядом. Кросс-реактивность антисывороток изучали разными иммунологическими методами: иммунодиффузией, иммуноэлектрофорезом, иммуноблотингом и твердофазным иммуноферментным методом (ELISA). Методом ELISA выявлено различие между ядами бразильских видов *Botrops* sp. и *Crotalus durissus*, что свидетельствовало о наличии специфических антигенов в исследованных ядах.

В качестве носителей с адьювантным эффектом используют липосомы, которые обеспечивают более высокий иммунный ответ на включенный или распределенный на их поверхности антиген. Показана эффективность использования липосомных препаратов для защитной иммунизации против яда *Echis carinatus*. Для

повышения иммуногенности и снижения токсичности авторами предлагается введение в липосомы иммуномодулирующих (липополисахарид) и стабилизирующих (тетраоксид кремния) веществ. Липосомная форма яда гюрзы среднеазиатской (*Vipera lebetina* L.) вызвала четко выраженный иммунный ответ в виде продукции антител и увеличения титров антител в сыворотках крови животных. Кроме того, яд гюрзы среднеазиатской – *Vipera lebetina* L. (0.04 DL<sub>50</sub>) в форме липосомного препарата – стимулировал формирование клеточной формы иммунного ответа в модельной реакции ГЗТ. Наряду со стимулирующей активностью Т-лимфоцитов, липосомная форма яда гюрзы выгодно отличалась от нативного яда отсутствием супрессорного и токсического действий, что свидетельствует о перспективах применения липосомной формы для производства антисывороток и защитной иммунизации против яда гюрзы среднеазиатской.

Одно и то же противоядие может защищать от ядов змей одного рода или семейства. Например, «Антивипмин» (Antivipmin), производящийся из ядов *Crotalus durissus* и *Bothrops asper* (семейство Гадюковые), нейтрализует яды всех видов подсемейства гремучих змей (ямоголовых). Перекрёстная нейтрализация позволяет производителям проводить гипериммунизацию с использованием меньшего числа ядов для производства противоядий, использующихся на определённой территории. Антисыворотки нейтрализуют яд, предотвращая дальнейшие повреждения, но не устраняют уже нанесённые. Поэтому антисыворотки должны быть введены как можно скорее после интоксикации. С появлением противоядий, некоторые укусы, которые раньше считались фатальными, теперь редко становятся таковыми, если антитоксин вводится вовремя. Несмотря на то, что антисыворотки проходят через несколько стадий очистки, они содержат некоторые белки плазмы крови, которые могут оказать антигенное воздействие на организм. У некоторых людей возможно возникновение гиперчувствительности (анафилактического шока) или сывороточной болезни в результате введения противоядия; поэтому при введении антитоксинов должны быть соблюдены все меры предосторожности. Некоторые виды антисывороток, выпускаемых сегодня в мире, представлены в табл. 25.1.

Ташкентский НИИ вакцин и сывороток (Узбекистан) выпускает моновалентные сыворотки «Антикобра», «Антигюрза», поливалентную сыворотку против ядов кобры, гюрзы и эфы.

Таблица 25.1

**Некоторые виды антисывороток**

№	Название антисыворотки	Вид животного	Страна-производитель
1	2	3	4
<i>Пауки</i>			
1	Funnel web spider antivenom	Воронковый паук ( <i>Atrax robustus</i> )	Австралия
2	Soro antiaracnidico	Бразильский странствующий паук ( <i>Phoneutria fera</i> )	Бразилия
3	Soro antiloxoscelico	Коричневый затворник ( <i>Loxosceles reclusa</i> )	Бразилия

Продолжение табл. 25.1

1	2	3	4
4	Aracmyn	Бурые пауки-отшельники ( <i>Loxosceles</i> sp.) каракурты ( <i>Latrodectus</i> sp.)	Мексика
5	Redback spider antivenom	Красный паук ( <i>Latrodectus hasseltii</i> )	Австралия
6	Black widow antivenom	Каракурт ( <i>Latrodectus mactans</i> )	США
7	SAIMR Spider antivenom	Семейство пауки-тенетники Theridiidae	Южная Африка
8	Anti Latrodectus antivenom	Каракурт ( <i>Latrodectus mactans</i> )	Аргентина
<b>Клещи</b>			
9	Tick antivenom	Иксодовые клещи ( <i>Ixodes holocyclus</i> )	Австралия
<b>Насекомые</b>			
10	Zoro antilonomico	Гусеница ( <i>Lonomia obliqua</i> )	Бразилия
<b>Скорпионы</b>			
11	Alacramyn	Группа скорпионов сем. Buthidae ( <i>Centruroides limpidus</i> , <i>C. noxius</i> , <i>C. suffusus</i> )	Мексика
12	Suero Antialacran	Группа скорпионов сем. Buthidae ( <i>Centruroides limpidus</i> , <i>C. noxius</i> , <i>C. suffusus</i> )	Мексика
13	Tunisian polyvalent antivenom	Гемискорпиус лептурус ( <i>Hemiscorpines lepturus</i> ), пестрый скорпион ( <i>Mesobuthus eupeus</i> ), иранский скорпион ( <i>Odontobuthus doriae</i> ), африканский маурус, или израильский золотой скорпион ( <i>Scorpio maurus</i> )	Тунис
14	Anti-Scorpion Venom Serum I.P.(AScVS)	Индийский красный скорпион	Индия
15	Anti-scorpionique	Род скорпионов Андроктонус ( <i>Androctonus</i> spp.), скорпионы сем. Бутиды ( <i>Buthus</i> spp.)	Алжир
16	Scorpion antivenom	Черный скорпион ( <i>Orthochirus scrobiculosus</i> ), средиземноморский обыкновенный скорпион ( <i>Buthus occitanus</i> )	Марокко
17	Soro antiscorpionico	Скорпион семейства Buthidae ( <i>Tityus</i> spp.)	Бразилия
18	SAIMR scorpion antivenin	Скорпионы рода Парабутусы ( <i>Parabuthus</i> spp.)	Южная Африка
19	Purified prevalent Anti-Scorpion Serum(equine)	Скорпионы рода Леурус ( <i>Leiurus</i> spp.), скорпионы рода Андроктонус ( <i>Androctonus</i> spp.)	Египет
<b>Морские животные</b>			
20	CSL box jellyfish antivenom	Морские медузы, класс Кубомедузы (Cubozoa)	Австралия

Продолжение табл. 25.1

1	2	3	4
21	CSL stonefish antivenom	Рыба-камень (Stonefish)	Австралия
<b>Змеи</b>			
22	Polyvalent snake antivenom	Южно-американские гремучие змеи ( <i>Crotalus durissus</i> ) и фер-деланс ( <i>Bothrops asper</i> )	Мексика
23	Polyvalent snake antivenom	Южно-американские гремучие змеи ( <i>Crotalus durissus</i> ) и фер-деланс ( <i>Bothrops asper</i> )	Южная Америка
24	Polyvalent snake antivenom	Эфа песчаная ( <i>Echis carinatus</i> ), гадюка Рассела ( <i>Daboia russelli</i> ), индийская кобра ( <i>Naja naja</i> ), индийский или голубой крайт ( <i>Bungarus caeruleus</i> )	Индия
25	Death adder antivenom	Шипохвост австралийский	Австралия
26	Taipan antivenom	Тайпаны	Австралия
27	Black snake antivenom	Род змей сем. Аспиды ( <i>Pseudechis</i> spp.)	Австралия
28	Tiger snake antivenom	Австралийские змеи рода <i>Austrelaps</i> , тигровая змея ( <i>Notechis scutatus</i> ), змеи сем. Аспиды ( <i>Pseudechis</i> spp.), грубо-чешуйчатая змея ( <i>Tropidechis carinatus</i> )	Австралия
29	Brown snake antivenom	Восточная коричневая змея ( <i>Pseudonaja textilis</i> )	Австралия
30	Polyvalent snake antivenom	Многие австралийские змеи	Австралия
31	Sea snake antivenom	Ядовитые виды морских аспидовых змей	Австралия
32	Vipera tab	Змеи сем. гадюковые, род <i>Vipera</i>	Великобритания Россия
	EchiTabG	Змеи сем. гадюковые, род <i>Echis</i>	Великобритания
33	Polyvalent crotalid antivenin (CroFab–Crotalidae Polyvalent Immune Fab (Ovine))	Ямкоголовые, или гремучие змеи	Северная Америка
34	Soro antitropicocrotalico	Ямкоголовые, или гремучие змеи	Бразилия
35	Anti-elapidico	Коралловые аспиды (Elapidae)	Бразилия
36	SAIMR polyvalent antivenom	Мамбы, кобры, плюющиеся кобры, кроме следующих видов: <i>B. worthingtoni</i> , <i>B. atropos</i> , <i>B. caudalis</i> , <i>B. cornuta</i> , <i>B. heraldica</i> , <i>B. inornata</i> , <i>B. peringueyi</i> , <i>B. schneideri</i> , <i>B. xeropaga</i>	Южная Африка
37	SAIMR echis antivenom	Ядовитые змеи рода <i>Echis</i>	Южная Африка

Окончание табл. 25.1

1	2	3	4
38	SAIMR Boomslang antivenom	Ужеобразные змеи сем. Colubridae	Южная Африка
39	Panamerican serum	Коралловые аспиды (Elapidae)	Коста-Рика
40	Anticoral	Коралловые аспиды (Elapidae)	Коста-Рика
41	Anti-mipartitus antivenom	Коралловые аспиды (Elapidae)	Коста-Рика
42	Anticoral monovalent	Коралловые аспиды (Elapidae)	Коста-Рика
	West Africa polyvalent (EchiTAB-plus-ICP)	Палестинская эфа, или пестрая ковровая гадюка, другие гадюковые, черношейная плюющая кобра	Коста-Рика
43	Antimicrurus	Коралловые аспиды (Elapidae)	Аргентина
44	Coralmyn	Коралловые аспиды (Elapidae)	Мексика
45	Anti-micruricoscorales	Коралловые аспиды (Elapidae)	Колумбия

\* \* \*

При анализе действия ядов животного происхождения на иммунологические свойства организма обращают на себя внимание по крайней мере два обстоятельства. Во-первых, яды животных могут нести антигенную детерминанту и вызывать синтез антител. Во-вторых, вследствие разнообразного химического состава животные яды могут быть или супрессорами, или стимуляторами иммунной системы, что весьма важно для экспериментальной и клинической фармакологии. Отличительными особенностями влияния животных токсинов на систему иммуногенеза являются действие в очень малых дозах, а также широта иммунофармакологической активности. По всей вероятности, в течение длительной эволюции в ядах животного происхождения сформировались иммуноактивные соединения, обладающие способностью взаимодействовать с иммунорецепторами других организмов, вызывая синтез антител, нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов, миграцию стволовых клеток и др. Вышеизложенное делает дальнейшее изучение иммуотропной активности зоотоксинов весьма перспективным и необходимым для совершенствования методов и способов иммуноксикотерапии.



## МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ С ПОМОЩЬЮ ЗООТОКСИНОВ

Лекарство – это вещество, которое, будучи введено в крысу, дает научный отчет или статью.



При описании механизмов действия зоотоксинов на организм в этом учебном пособии не раз приводились примеры их использования как инструментов для исследований в физиологии, фармакологии, молекулярной биологии и т.д. Это касалось тетродотоксина, сакситоксина, конотоксинов, токсинов скорпионов, пауков, змей и т.д., которые сыграли выдающуюся роль при изучении биоэлектрических свойств клеточных мембран, ионных каналов, синаптической передачи, механизмов обезболивания, свертывания крови и других физиологических процессов. Так, например, в клеточной физиологии порообразующие свойства мелиттина пчелиного яда успешно используют для «мягкого» коллоидно-осмотического лизиса при формировании теней эритроцитов в изотонических условиях. Следует отметить, что применение зоотоксинов как инструментов позволило открыть ряд новых эндогенных регуляторов, таких как медленно реагирующий фактор анафилаксии, фактор роста нервов и др. Однако приходится констатировать, что об успешном моделировании с помощью зоотоксинов патологических процессов и состояний на органном и системном уровнях имеется гораздо меньше сведений. Из ранних работ в этой области укажем на применение яда гюрзы для моделирования тромбо-геморрагического синдрома (Баркаган, Миттельман, 1967) или яда гремушей змеи для моделирования инфаркта миокарда (Bonilla, 1982). Между тем разработка патогенетически адекватных моделей распространенных заболеваний является одной из важнейших задач современной патофизиологии. Это связано не только с возможностью изучения с их помощью патогенеза заболеваний. Сегодня ни одно новое лекарственное средство не имеет перспектив внедрения в медицинскую практику без доказательства его эффективности на моделях соответствующих заболеваний. Учитывая вышеприведенные свойства и механизмы действия на организм зоотоксинов, можно полагать, что у этого направления есть хорошая перспектива развития и для моделирования патологических состояний. Ниже приводятся модели патологических состояний с использованием зоотоксинов, разработанные в Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского.

### 26.1. СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ АРИТМИЙ СЕРДЦА <sup>210</sup>

Внутривенное введение экспериментальным животным яда жаб в дозах 0.3–0.5 мг/кг вызывает возникновение характерной желудочковой сцепленной экстрасистолии – аллоритмии бигеминии, характеризующейся чередованием желудочковой экстрасистолы после каждого нормального сокращения сердца синусного происхождения. Аллоритмия устойчива во времени и длится, в зависимости от дозы, 17–40 мин. Установленный феномен был использован для моделирования наиболее частого вида связанных аритмий сердца (аллоритмий типа бигеминии), которые возникают у больных при передозировке сердечных гликозидов. Другие модели, воспроизводящие подобную аритмию, отсутствуют. Модель может быть перспективной не только для поиска новых антиаритмических средств, но и при изучении патогенетических механизмов аллоритмий. В частности показано, что одним из механизмов возникновения бигеминии, вызванной действием яда жаб, является повышение тонуса парасимпатической регуляции сердца (рис. 26.1). Видно, что купирование парасимпатического тонуса введением атропина или ваготомией приводит к исчезновению аллоритмии и восстановлению правильного синусового ритма сердца.

<sup>210</sup> А. с. № 1278924 СССР, 1986. Способ моделирования аритмий сердца / Б.Н. Орлов, В.Н. Крылов, Л.В. Ошевский.

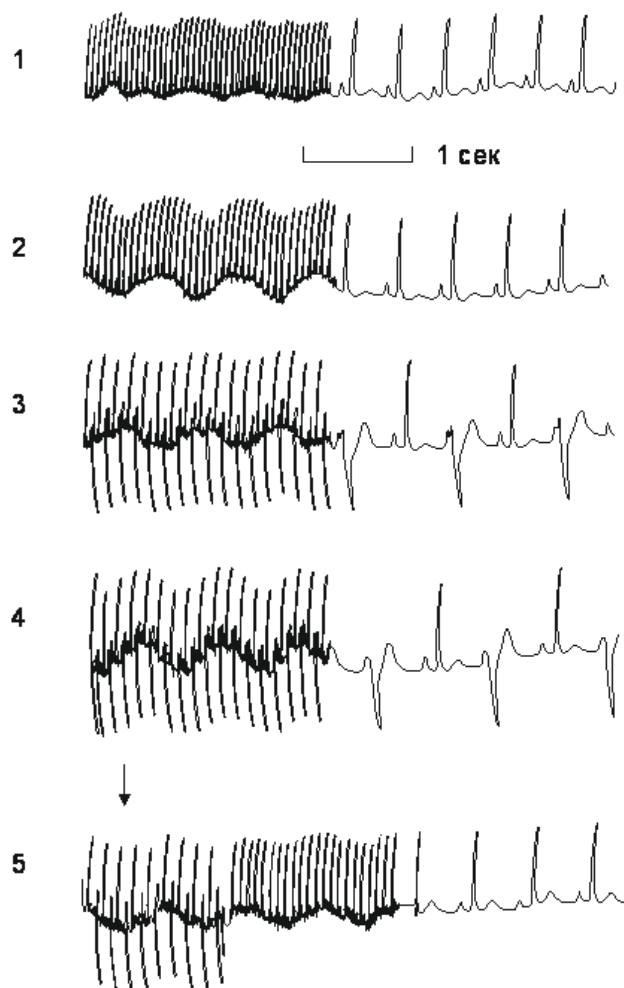


Рис. 26.1. ЭКГ кошки (наркоз – нембутал, 1 мг/кг); записи: 1 – до введения веществ; 2, 3, 4 – соответственно через 7, 12, 15 мин после введения яда жабы (0.4 мг/кг, в/в); 5 – запись в момент введения (отмечено стрелкой) атропина (0.25 мг/кг, в/в)

## 26.2. СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ АТРИОВЕНТРИКУЛЯРНОГО БЛОКА СЕРДЦА<sup>211</sup>

С помощью яда саламандры разработана модель атриовентрикулярного блока проведения возбуждения в миокарде. Модель воспроизводит один из наиболее частых в медицинской практике видов атриовентрикулярного блока – неполную блокаду с соотношением 2:1, устойчива во времени и приближает воспроизводимую патологию к условиям органических нарушений в деятельности сердца.

<sup>211</sup> А.с. № 1120394 СССР, 1984. Способ моделирования атриовентрикулярного блока сердца / Б.Н. Орлов, В.Н. Крылов, Н.Б. Козлова.

Моделируемый атриовентрикулярный блок не снимается введением животным блокаторов адрено- и холинорецепторов, адреномиметиков, но эффективно купируется введением ингибитора фосфодиэстеразы – теofilлина, что указывает на роль в патогенезе блока нарушений в обмене и функционировании цАМФ и связанных с ним ферментов.

### **26.3. СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ СПАЗМА СОСУДОВ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА<sup>212</sup>**

Ишемическая болезнь сердца (ИБС), стала в настоящее время «бичом цивилизации». При поиске эффективных антиангинальных (коронарорасширяющих) средств необходимым условием является их испытание на моделях коронарораспазма. Установлено, что пчелиный яд в дозах 0.02–0.2 мг уменьшает отток перфузата из коронарных сосудов (из коронарного синуса) изолированного сердца теплокровных животных более чем на 50% от исходной величины, который возникает на первой минуте после инъекции и продолжается, в зависимости от дозы, 15–35 мин. Предложенная модель коронарораспазма отличается быстротой наступления эффекта и надежностью его регулирования. К преимуществам способа также относится и его способность проявляться в условиях перфузии остановленного строфантинном сердца. Кроме того, альфа-блокатор дигидроэрготоксин не влияет, а папаверин снижает коронарораспaum, вызванный пчелиным ядом, что свидетельствует о непосредственном миотропном действии пчелиного яда на гладкую мускулатуру коронарных сосудов. Таким образом, известный механизм коронарораспазма при его моделировании пчелиным ядом, наряду с быстротой и воспроизводимостью, делает указанную модель полезной при изучении коронарной патологии и изыскании коронарорасширяющих средств миотропного действия.

### **26.4. СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПОТЕНЗИИ<sup>213</sup>**

С помощью яда щитомордника получена модель длительной гипотензии негеморрагической природы. Показано, что при введении яда щитомордника в систему кровообращения животных (кошки, собаки) в дозе 0.05–0.2 мг/кг у них развиваются стойкие кардиодепрессивный и гипотензивный эффекты. Важно отметить, что вазоактивный эффект яда характеризовался выраженностью (снижение АД на 50–60% от исходного уровня) и продолжительностью (до 3 часов) на фоне отсутствия существенных изменений сердечного ритма, биоэлектрической активности сердца и внешнего дыхания у животных. Разработанная модель глубокой гипотензии негеморрагической природы с помощью яда щитомордника превосходит резерпиновую по степени выраженности, а нитритную и ацетилхолиновую – по длительности, и имеет в патогенезе падение тонуса сосудов с ослаблением сократительной функции сердца.

---

<sup>212</sup> А.с. № 762888 СССР, 1980. Способ моделирования спазма сосудов изолированного сердца / Б.Н. Орлов, В.Н. Крылов.

<sup>213</sup> А.с. № 13104412 СССР, 1987. Способ моделирования гипотензии / Б.Н. Орлов, Г.А. Бояринов, В.Н. Крылов.

## 26.5. СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ БРОНХОСПАЗМА<sup>214</sup>

С помощью яда сколопендры кольчатой создана модель патологии органов дыхания. Установлено, что при внутривенном введении кошкам яда сколопендры в дозах 0.01–0.1 мг/кг у животных развивается ярко выраженный бронхоспазм, который не снимается адреномиметиками, частично предотвращается дроперидолом, но полностью снимается и предотвращается спазмолитиком прямого действия зуфиллином. Отличительной особенностью патогенеза модели является то, что бронхоспазм возникает без активации холинорецепторов, т.к. проявляется и на фоне блокады атропинном. Кроме того, в отличие от холинергических моделей, он возникает на фоне гипертензии. Это приближает модель к клиническому течению заболевания у человека, т.к. обычно бронхиальная астма сопряжена с гипертонией.

## 26.6. СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ШОКА<sup>215</sup>

Одной из сложнейших патологий, сопутствующих тяжелым травмам, кровотечениям, ожогам, интоксикации и т.д., является шок, что делает разработку методов борьбы с шоком чрезвычайно актуальной. Установлено, что введение больших доз (2–4 DL<sub>50</sub>) ядов среднеазиатской кобры, гюрзы, обыкновенной гадюки, пчел вызывает, наряду со специфическими для каждого из ядов эффектами (асфиксия для яда кобры, пчелы, геморрагия – для ядов гадюковых и т.д.), развитие типичного симптомокомплекса шока: постадийное угнетение функций ЦНС, сердечно-сосудистой и респираторной систем. Показано, что использование специфического опиатного блокатора – налоксона на ранних стадиях шока, вызванного зоотоксинами, существенно (на 40–60%) увеличивает выживаемость экспериментальных животных, в 2–3 раза продлевает срок их жизни при воздействии сверхвысоких доз ядов и заметно улучшает параметры функционирования основных физиологических систем организма.

## 26.7. СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ НЕРВОВ<sup>216</sup>

В травматологии и нейрохирургии существует проблема локальной стимуляции анатомически труднодоступных нервных структур для диагностирования их функционального состояния. Примером могут служить повреждения плечевого сплетения, которые являются одними из самых тяжелых и прогностически неблагоприятных заболеваний периферических нервов. Тяжесть этой патологии для пациента обусловлена потерей трудоспособности, болевым синдромом, косметическим дефектом, снижением социальной адаптации. Решением проблемы диагностики является предложенный способ стимуляции нервов химическим путем с помощью субэпинеуральной микроинъекции в нервную структуру токсина скорпиона в дозах 0.1–1.0 мкг в объеме 5–10 мкл физиологического раствора с

---

<sup>214</sup> А.с. № 1273370 СССР, 1986. Способ моделирования бронхоспазма / Б.Н. Орлов, В.Н. Крылов, Л.В. Ошевский.

<sup>215</sup> Пат. № 20338804 РФ, 1995. Способ лечения геморрагического шока / И.П. Ашмарин, Н.А. Соколова, М.А. Зозуля, В.Н. Крылов, С.Б. Парин, Е.Г. Кузьмин.

<sup>216</sup> Пат. № 2107507 РФ, 1998. Способ стимуляции нервов / Д.Б. Гелашвили, А.А. Силкин, С.А. Павлов.

последующим визуальным наблюдением фибрилляции, стимулируемой этой нервной структурой мышцы или регистрацией ее электромиограммы (рис. 26.2). Стимулирующее действие токсина на нерв зависит от дозы и характеризуется линейной зависимостью в диапазоне 0.1–1.0 мкг (рис. 26.3). Дозы, меньшие 0.1 мкг, малоэффективны, действие доз, больших 1.0 мкг, характеризуется насыщением и, следовательно, их применение нецелесообразно. Локальность воздействия токсина полностью определяется его первичным депо в месте инъекции и обусловлена высокой селективностью связывания с мембраной нервных волокон. Это доказывает параметрами фармакокинетики меченого  $^{125}\text{I}$  токсина: период полувыведения  $t_{\beta 1/2} = 2.7 \times 10^3$  мин, период полураспределения  $t_{\alpha 1/2} = 2.5$  мин. Таким образом, токсин полностью локализуется в месте введения. Безвредность токсина доказывает обратимость его эффекта, оцениваемого по сохранению проводимости нерва после субэпинеурального введения максимальной из используемых доз. Среднесмертельная доза ( $\text{DL}_{50}$ ) токсина для крыс составила 1 мг/кг или 0.2 мг (200 мкг) на животное массой 200 г. Таким образом, высшая доза 1 мкг, вводимая в нерв, составляет 1/200 от  $\text{DL}_{50}$  и не является токсичной.

Предложенный способ стимуляции нервов с помощью токсина скорпиона характеризуется простотой выполнения, возможностью локального воздействия в анатомически труднодоступных тканях и органах, безвредностью, легкой дозируемостью, наличием специфического антидота при передозировке и необходимости прекращения действия – новокаина. При осуществлении способа не требуется предварительного выделения стимулируемой структуры из организма, и он может найти применение для создания локальных очагов возбуждения в работающем органе, например в сердце или мышце.

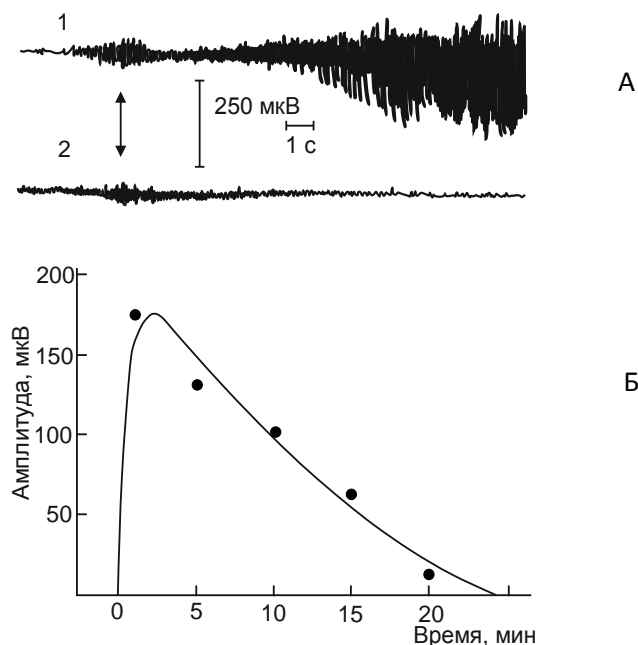


Рис. 26.2. Электромиограмма икроножной мышцы крысы в ответ на введение (отмечено стрелкой) в большеберцовый нерв токсина скорпиона (А, 1) и физиологического раствора (А, 2) и динамика (Б) амплитуды ЭМГ после однократного введения токсина

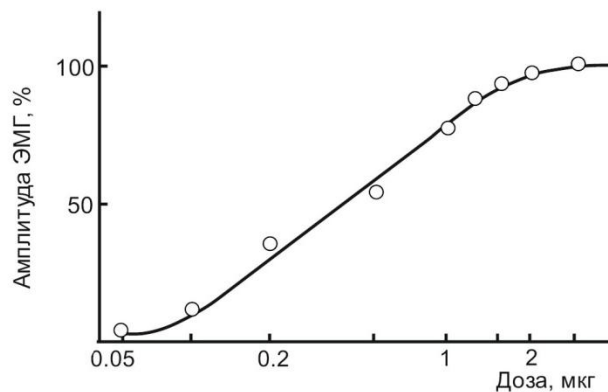


Рис. 26.3. Дозозависимый характер стимулирующего действия токсина скорпиона

## 26.8. СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭПИЛЕПТИФОРМНОГО СОСТОЯНИЯ<sup>217</sup>

Эпилепсия – одно из самых распространённых хронических неврологических заболеваний человека, проявляющееся в предрасположенности организма к внезапному возникновению судорожных приступов. Обычно выделяют тонико-клонические приступы (*grand mal*) и абсансы (*petit mal*) – короткие периоды потери сознания. Для диагностики эпилепсии и её проявлений получил широкое распространение метод электроэнцефалографии (ЭЭГ). О наличии высокой судорожной готовности всего мозга (и, соответственно, абсансов) говорят генерализованные комплексы пик–волна. Воспроизвести экспериментально (то есть смоделировать) припадок типа *petit mal* – нетривиальная задача, которую удалось решить, используя введение яда скорпиона в дозах 0.5–5 мкг в боковой желудочек мозга крыс. Для этого крысу (с предварительно вживленными электродами для регистрации ЭЭГ и канюлей для введения яда) помещают в экспериментальную камеру, обеспечивающую свободное перемещение животного и снабженную датчиком для регистрации актограммы. Через 5–40 мин, в зависимости от введенной дозы яда, в ЭЭГ наблюдаются типичные эпилептиформные разряды типа пик–волна, развивающиеся на фоне резкого снижения двигательной активности животного, а также появления спонтанных подергиваний мышц головы. Эти симптомы характерны для клинического проявления припадков типа *petit mal*. После прекращения судорожного эпизода в ЭЭГ, на актограмме регистрируется восстановление двигательной активности. Периодически повторяющиеся эпизоды пароксизмальных разрядов в ЭЭГ регистрируются в течение нескольких часов. Таким образом, предлагаемый способ позволил путем подбора соответствующих доз получить, труднодостижимую другими способами, экспериментальную модель эпилептиформного припадков, близкую по течению к клинической картине припадков типа *petit mal*. При увеличении дозы яда развивается генерализованный су-

<sup>217</sup> А. с. № 1326272 СССР, 1987. Способ моделирования эпилептиформного состояния / Б.Н. Орлов, Д.Б. Гелашвили, В.В. Егоров, А.В. Бубунин, Г.М. Савинов.

дорожный припадок, близкий по течению к клинической картине припадка типа grand mal. Адекватность модели доказывается также ее чувствительностью к противоэпилептическим препаратам, применяемым в клинике (триметину, дифенину, седуксену). Предлагаемый способ обеспечивает возможность проведения на его основе поиска и отбора новых противосудорожных препаратов.

\* \* \*

Приведенные в настоящей главе способы моделирования патологических состояний с помощью зоотоксинов не исчерпывают, безусловно, всех возможностей, представляемых для биомедицины этими уникальными природными соединениями, а лишь отражают скромный вклад в это направление школы зоотоксикологии, основанной в Нижегородском (Горьковском) университете нашими учителями – профессорами Н.М. Артемовым и Б.Н. Орловым.



---

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Один из способов быть не съеденным –  
это стать несъедобным.

*К. Шмидт-Ниельсен*



Wikipedia Commons

**А**фористичность высказывания известного американского физиолога не отражает того длительного пути, который прошли животные, прежде чем обрели эффективные средства химической защиты. Стратегия ядовитости в животном мире имеет два основных направления: это использование чужих ядов (вторично-ядовитые животные) и выработка собственных ядовитых веществ *de novo* (первично-ядовитые животные). Первый путь биологически менее выгоден, поскольку, во-первых, он требует зависимости от определенного источника питания; во-вторых, он более опасен, так как биологические механизмы резистентности к ядовитым ксенобиотикам, поступающим с пищей, могут не сработать в экстремальных ситуациях (передозировка, непредсказуемые изменения в химизме пищи и т.д.); в-третьих, такой путь менее выгоден и с энергетической точки зрения, потому что эффективность использования химического соединения уменьшается с удлинением цепи питания. Наконец, вторичная ядовитость не обеспечивает индивидуальной защиты от хищника, а лишь ценой гибели отдельной особи повышает шансы выживания популяции в целом.

Среди первично-ядовитых животных наиболее совершенными являются, несомненно, вооруженные активно-ядовитые животные, практически лишенные вышеперечисленных недостатков. Менее совершенными, с этой точки зрения, выглядят пассивно-ядовитые животные, которые хотя и обладают собственным ядом, но лишены возможности активно его применять в случае опасности. В целом можно признать, что использование собственной ядовитости (особенно в сочетании с вооруженным ядовитым аппаратом) является прогрессивным признаком, обеспечивающим более пластичное приспособление организма к среде. Подобные примеры можно найти среди животных многих систематических групп.

Аллелохимические связи в природе сбалансированы удивительным образом, и кажущиеся отклонения от естественной гармонии являются, скорее всего, результатом нашего незнания конкретных механизмов химических взаимодействий у разных видов. Чем больше мы узнаем о химических веществах, с помощью которых животные общаются друг с другом (феромонах, репеллентах, аттрактантах, ядах и др.), тем шире возможности нашего активного вмешательства в эти взаимосвязи и тем большая ответственность ложится на нас за его результаты.

Яды как химические факторы межвидовых взаимодействий занимают особое место среди других алломонов, поскольку в конечном счете служат для убийства хищника или жертвы. Различия заключаются только в характере использования яда – орудия защиты или нападения. Но даже в случае агрессии яды применяются только для добычи пищи, бесцельное убийство несвойственно животным. Многие ядовитые животные, несомненно, являются источником повышенной опасности для человека, в то же время целый ряд из них обладает ядами с удивительными свойствами, применение которых в научных лабораториях и клиниках уже принесло ощутимые результаты. Дилемма: ядовитые животные – зло или добро? – уже решена в пользу последнего, и наша задача – сберечь живущие на Земле виды ядовитых животных с целью их использования на благо человека.

Каковы основные пути возникновения и развития ядовитости в живой природе? Ответить на этот вопрос можно, лишь подробно изучив химическую природу токсинов и их биологическую роль. К сожалению, для многих групп животных такие сведения еще страдают фрагментарностью, ибо современный этап зоотоксикологии – это, по существу, этап активного накопления фактических данных о химической природе зоотоксинов и механизмах их действия.

Если обратиться к таблице, то нетрудно заметить, что в качестве средств нападения и защиты животные используют широкий круг химических соединений.

Таблица

Химическая природа зоотоксинов

Таксон	Небелковые		Белковые	
	изо- и гетероциклические	алифатические	олиго- и полипептиды	ферменты
1	2	3	4	5
Тип Динофлагеллаты (Dinoflagellata)	+			
Тип Губки (Porifera)	+	+	+	
Тип Стрекающие (Cnidaria)				
Класс Гидрозои (Hydrozoa)		+	+	+
Класс Сцифоидные медузы (Scyphozoa)		+	+	+
Класс Коралловые полипы (Anthozoa)	+	+	+	+
Тип Немертины (Nemertini)				
Подкласс Невооруженные (Anopla)			+	
Подкласс Вооруженные (Eopla)	+			
Тип Кольчатые черви (Annelida)				
Класс Многощетинковые (Polychaeta)	+	+	+	+
Тип Членистоногие (Arthropoda)				
Класс Ракообразные (Crustacea)		+	+	+
Класс Паукообразные (Arachnida)		+	+	+
Класс Многоножки (Myriapoda)	+	+	+	+
Класс Насекомые (Insecta)	+	+	+	+
Тип Моллюски (Mollusca)				
Класс Брюхоногие (Gastropoda)	+	+	+	+
Класс Двустворчатые (Bivalvia)	+			
Класс Головоногие (Cephalopoda)	+		+	+
Тип Иглокожие (Echinodermata)				
Класс Морские звезды (Asteroidea)	+			
Класс Морские ежи (Echinoidea)	+		+	
Класс Голотурии (Holothuroidea)	+			
Тип Хордовые (Chordata)				
Группа Круглоротые (Cyclostomata)			+	
Класс Хрящевые рыбы (Chondrichthyes)			+	
Класс Костные рыбы (Osteichthyes)	+	+	+	+
Класс Амфибии (Amphibia)	+	+	+	+
Класс Рептилии (Reptilia)		+	+	+
Класс Птицы (Aves)	+			
Класс Млекопитающие (Mammalia)			+	

Среди них имеются сравнительно простые органические соединения: спирты, кислоты, альдегиды, эфиры, более сложные изо- и гетероциклические соединения с изолированными и конденсированными ядрами и, наконец, токсины белковой природы: олиго- и полипептиды, ферменты. В их число входят и чрезвычайно токсичные соединения, относящиеся к категории ультраядов ( $DL_{50}$  менее 1 мг/кг). К ним относятся нейротоксические полипептиды змей, паукообразных, гетероциклические токсины динофлагеллат и рыб, токсические алкалоиды амфибий и др. Высокая биологическая активность этих соединений объясняется их избирательным действием на определенные биосистемы (холинорецепторы, ионные каналы и др.), нарушающим нормальное функционирование этих систем. Для организма-реципиента эти вещества являются ксенобиотиками, так как не встречаются в нем в естественных условиях. Другая группа химических соединений, присущих ядам, находится и в организме реципиента (ацетилхолин, биогенные амины, различные ферменты). Токсическое действие этих соединений связано с их передозировкой. Очень часто биогенные амины вызывают аллогенный (болевогой) эффект, имеющий значение биологического сигнала о вредности данного ядовитого животного. Важную роль в патогенезе отравления зоотоксинами играют аутофармакологические реакции, обусловленные массивным высвобождением в пораженном организме физиологически активных веществ (кининов, медиаторов, циклических нуклеотидов, эндогенных опиатов, гормонов) под влиянием компонентов ядов.

В настоящее время представляется возможным лишь в самых общих чертах наметить основные пути эволюции ядовитости у животных. Можно представить, что на ранних этапах эволюции в качестве ядов выступали только метаболиты, либо выделявшиеся в окружающую среду, либо накапливающиеся в организме. Эта примитивная форма ядовитости неизбежно должна была смениться возникновением и развитием специализированных структур или органов, продуцирующих яд. Вначале – в основном за счет усиления защитной функции эктодермы (немертины, полихеты, иглокожие, кишечноротовые), затем возникновение таких ядовитых органов происходит на базе экзокринных или эндокринных желез. Так, у перепончатокрылых ядовитый аппарат филогенетически тесно связан с половой системой, у головоногих моллюсков и змей – с пищеварительной. Вместе с тем у очень большого числа видов сохраняются черты примитивной ядовитости, то есть аккумуляция ядовитых метаболитов в различных тканях и органах (рыбы, амфибии, насекомые).

Ядовитые аппараты различных животных отличаются большим морфологическим разнообразием. Достаточно сравнить нематоциты кишечноротовых, педицеллярии иглокожих, хелицеры паукообразных, жало перепончатокрылых, ядовитые зубы рептилий, кожные железы амфибий. Вместе с тем имеется и определенное соответствие между химическим составом яда, морфологическими особенностями ядовитого аппарата и биологической спецификой действия того или иного яда. Так, ядовитые секреты подавляющего большинства изученных к настоящему времени вооруженных активно-ядовитых животных представляют собой сложные смеси токсических полипептидов и ферментативных белков (яды змей, перепончатокрылых, пауков, скорпионов, кишечноротовых и некоторых других). Характерно, что эти яды активны в основном при парентеральном введении, а при введении внутрь расщепляются пищеварительными ферментами. Отсюда становится понятной и морфологическая специализация ядовитого аппарата, снабженного ранящим устройством. С другой стороны, животные, обладающие невооруженным ядовитым аппаратом, во многих случаях имеют яды небелковой

природы (амфибии, муравьи, жуки, многоножки и др.). Некоторые из них эффективно используют принцип ферментативного катализа для выработки защитных соединений из неактивных предшественников. Яд пассивно-ядовитых животных в естественных условиях эффективен при попадании с пищей. Примером тому могут служить тетродотоксин, суругатоксин, токсины динофлагеллат и некоторых других, которые также являются небелковыми ядами.

Интересно проследить взаимосвязь между биологией того или иного вида ядовитых животных и особенностями продуцируемых ими ядов. Как правило, хищнический образ жизни сопровождается развитием вооруженной формы ядовитого аппарата (змеи, скорпионы, пауки, актинии, осы), причем во многих случаях яды имеют выраженную нейротропную активность, поскольку предназначены для обездвиживания жертвы. Нередко нейротропное действие характеризуется высокой избирательностью, обуславливающей пищевую специализацию. Например, яд наездников-браконид активен в основном по отношению к аминергическим синапсам чешуекрылых, в яде скорпионов имеются видоспецифические нейротоксины, избирательно действующие на насекомых и ракообразных.

У животных с невооруженным ядовитым аппаратом продуцируемые ими яды выполняют в подавляющем большинстве случаев защитные функции, то есть являются отпугивающими веществами – репеллентами (стероиды, органические кислоты, эфиры и др.). Такие яды можно наблюдать у амфибий, многоножек, жуков, муравьев и др.

И, наконец, пассивно-ядовитые животные, по существу представляющие собой «биохимическую загадку». Действительно, в настоящее время мы мало что знаем о конкретных метаболических путях, которые приводят к появлению в организме ядовитых соединений, в целом ряде случаев чрезвычайно токсичных для других животных, но безвредных для организма-продуцента.

Проблема устойчивости ядообразующих животных к собственным ядам весьма интересна. Можно выделить несколько основных механизмов, обеспечивающих резистентность организмов-продуцентов к ядам. Наиболее эффективный из них – это локализация яда в специальных органах (железах), стенки которых препятствуют распространению яда по организму. Железистые клетки, как правило, не являются мишенью для нейротоксических компонентов ядов и, следовательно, устойчивы к ним. Цитолитические компоненты ядов (в основном ферменты) находятся в железе обычно в неактивном состоянии за счет повышенной концентрации ингибирующих неорганических ионов либо присутствия специфических ингибиторов. При попадании яда в организм жертвы он разбавляется жидкими средами, концентрация ингибиторов падает и ферменты активируются. Как правило, в железах, вырабатывающих белковые токсины, содержатся ингибиторы протеиназ, одна из функций которых может заключаться в защите белковых токсинов от эндогенного протеолиза. Такие ингибиторы обнаружены в ядах змей, скорпионов, перепончатокрылых, кишечнополостных.

Следующая линия защиты организма от собственного яда – гуморальная. В крови некоторых ядообразующих животных обнаружены белковые факторы, инактивирующие токсические компоненты яда. Например, в сыворотке крови палестинской гадюки *Vipera palaestinae* имеются антинейротоксический и антигеморрагический факторы. Здесь же отметим, что биологическая резистентность некоторых неядовитых животных к зоотоксинам, например змеиным ядам, также обусловлена циркулирующими в крови неиммунными белками, инактивирующими

ми токсические компоненты ядов (например у грызунов, некоторых неядовитых змей).

Третья линия защиты – клеточная, обусловлена специфической архитектурой плазматических мембран, в которых либо отсутствуют рецепторы к собственным токсинам, либо они труднодоступны. Подобный тип устойчивости известен для нервных волокон фугу и тритона *Taricha torosa* к тетродотоксину или нервов лягушки листолаза *Phyllobates* sp. к батрахотоксину.

Другой аспект изучения ядовитых животных и их ядов, на котором следует заострить внимание, касается проблемы параллелизма и конвергенции в их эволюции. С общебиологической точки зрения было бы чрезвычайно интересным понять, каким образом близкие по химической природе и механизмам действия токсины (а в некоторых случаях и идентичные) могут вырабатываться у животных различных таксонов. Наиболее известным примером подобной конвергенции является тетродотоксин, выделенный из половых продуктов и печени рыбы фугу и обнаруженный в яйцах калифорнийского тритона *Taricha torosa*. Весьма близкие по химической структуре и механизму действия соединения найдены в слюнных железах осьминога *Hapalochlaena maculosa*, кожных железах лягушек (род *Atelopus*), а также в моллюсках *Babylonia*. Другой пример касается токсинов полипептидной природы, которые встречаются у рептилий, некоторых амфибий, немертин, паукообразных, кишечнополостных, перепончатокрылых. Следует обратить внимание на то, что однотипные по химической природе токсины (например полипептиды) у животных различных таксонов продуцируются железами различного происхождения: гомологами пищеварительных (змеи, головоногие), половых (перепончатокрылые), эктодермальных (амфибии, немертины, кишечнополостные).

Таблица свидетельствует, что белковые токсины широко представлены у животных различных систематических групп. Белки – благодатный материал для реализации действия механизмов естественного отбора. В свою очередь, изучение аминокислотных последовательностей белков дает богатые фактические данные для установления их филогенетического родства. Так, установление первичной структуры полипептидных нейротоксинов яда элапид позволило поставить вопрос о филогенетическом родстве между различными токсинами: кардиотоксинами, «короткими» и «длинными» постсинаптическими нейротоксинами, из которых наиболее древними считаются кардиотоксины. Кроме того, намечены две филогенетические линии пресинаптических токсинов: от панкреатических фосфолипаз ( $\beta$ -бунгаротоксина, нотексина и др.) и полипептидных панкреатических ингибиторов протеиназ (дендротоксина).

Рассмотренные выше примеры отнюдь не исчерпывают всего разнообразия форм ядовитых аппаратов у различных животных и химической природы вырабатываемых ими ядов. Напротив, природа дает нам множество доказательств наличия переходных и смешанных типов как самих ядовитых желез, так и их ядовитых секретов.

Подводя итог рассмотрению современных проблем зоотоксинологии и стоящих перед ней задач, нельзя не упомянуть о практическом использовании зоотоксинов в биологии, химии и медицине. Наиболее впечатляющим достижением современной зоотоксинологии явилось выяснение химической структуры и молекулярных механизмов действия природных нейротоксинов, избирательно воздействующих на различные структуры ионных каналов нервной мембраны. Природа – этот искуснейший экспериментатор – дала в руки исследователей уникаль-

ные инструменты для изучения фундаментальных вопросов строения и функционирования живой клетки. Зоотоксины – прекрасные модели для молекулярной биологии, позволяющие решать вопросы взаимосвязи структуры и функции в биомолекулах. С помощью зоотоксинов ведется наступление на целый ряд нервных, иммунных, гематологических заболеваний. Зоотоксинология внесла существенный вклад в разгадку такой экологической катастрофы, как «красные приливы», и установление причин отравления типа сигуатеры, имеющей в тропических районах эпидемиологическое значение. Большие перспективы сулит использование зоотоксинов как таксономических маркеров для решения спорных вопросов систематики.

Попытка систематизировать и классифицировать фактические сведения из какой-либо области знания – задача всегда неблагодарная и вместе с тем периодически необходимая. Накопленный в настоящее время фактический материал в области зоотоксинологии давно перерос рамки опубликованных обобщающих работ. Это касается как описания новых видов ядообразующих животных и их ядов, так и главным образом значительного углубления существующих представлений о химическом строении и механизмах действия давно известных ядов, например змей, скорпионов, пауков, ос, пчел, актиний и др. Последнее представляется даже более важным, так как именно здесь удалось ярко продемонстрировать, чего можно добиться в биологии, применив наиболее мощные и современные методы исследований. С другой стороны, именно целенаправленное и массированное наступление на изучение клеточных и молекулярных механизмов действия зоотоксинов позволило в полной мере использовать феномен «отдачи» и успешно внедрить животные яды как в научные исследования, так и в медицинскую практику.

---

## ЛИТЕРАТУРА

- Адрианов, А.В. Экологическая безопасность дальневосточных морей России / А.В. Адрианов. – Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН: презентация, 2009. – 43 с.
- Алескер, Э.М. Пчелиный яд в клинике внутренних болезней / Э.М. Алескер. – Л.: Медицина, 1964. – 130 с.
- Анцулевич, А.Е. Hydrozoa (гидроиды и гидромедузы) морей России: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.02.04 / А.Е. Анцулевич. – Санкт-Петербург, 2012. – 36 с.
- Арзамасов, А.А. Хлоротоксин и родственные пептиды – короткие инсектотоксины из яда скорпионов / А.А. Арзамасов, А.А. Василевский, Е.В. Гришин // Биоорг. хим. – 2014. – Т. 40, № 4. – С. 387–398.
- Артемов, Н.М. Об атропиноподобном действии пчелиного яда / Н.М. Артемов, О.Ф. Соловьева // Бюл. экспер. биол. и мед. – 1939. – № 5. – С. 446–449.
- Артемов, Н.М. Пчелиный яд. / Н.М. Артемов. – М.: Изд-во АН СССР, 1941. – 189 с.
- Артемов, Н.М. Физиологический анализ гипотензивного действия пчелиного яда / Н.М. Артемов, А.В. Зевеке // Уч. зап. Горьк. ун-та. Сер. биол. Горький, 1967. – Вып. 82. – С. 25–47.
- Артемов, Н.М. Физиологические основы действия на организм пчелиного яда: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Н.М. Артемов. – Москва, 1969. – 56 с.
- Асафова, Н.Н. Физиологический анализ механизмов действия на организм природных биологически активных веществ: продуктов пчеловодства и зоотоксинов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Н.Н. Асафова. – Н. Новгород, 2001. – 49 с.
- Асафова, Н.Н. Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы в условиях воздействия природными физиологически активными веществами (токсинами перепончатокрылых): Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Н.Н. Асафова. – Ташкент, 1983. – 21 с.
- Бакиев, А.Г. Змеи Самарской области / А.Г. Бакиев, А.Л. Маленев, О.В. Зайцева, И.В. Шуршина. – Тольятти: ООО «Кассандра», 2009. – 170 с.
- Барбье, М. Введение в химическую экологию / М. Барбье. – М.: Мир, 1978. – 230 с.
- Баркаган, З.С. Ядовитые змеи и их яды. / З.С. Баркаган, П.П. Перфильев. – Барнаул: Алтайское книж. изд-во, 1967. – 76 с.
- Вальцева, И.А. Патофизиологические особенности действия яда змей, обитающих на территории СССР, и некоторые вопросы экспериментальной терапии / И.А. Вальцева. – М.: Медицина, 1963. – 176 с.
- Василевский, А.А. Молекулярное разнообразие яда пауков / А.А. Василевский, С.А. Козлов, Е.В. Гришин // Усп. биол. химии. – 2009. – Т. 49. – С. 710–724.
- Василевский, А.А. Синтетические аналоги антимикробных пептидов из яда среднеазиатского паука *Lachesana tarabaevi* / А.А. Василевский, С.А. Козлов, М.Н. Жмак и др. // Биоорг. хим. – 2007. – Т. 33, № 4. – С. 405–412.
- Власов, Г.П. Пептидные гормоны: успехи, проблемы, перспективы / Г.П. Власов // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2005. – Т. XLIX, № 1. – С. 11–33.



Гелашвили, Д.Б. Сравнительный анализ действия апамина и токсинов скорпиона на ЦНС / Д.Б. Гелашвили, В.В. Егоров, Г.М. Савинов // В сб.: Механизмы действия зоотоксинов. – Горький: Изд-во ГГУ, 1981. – С. 17–24.

Гелашвили, Д.Б. Нейрогуморальные механизмы стрессорного действия зоотоксинов и физиологические основы коррекции их повреждающих эффектов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13 / Д.Б. Гелашвили. – Тбилиси, 1989. – 47 с.

Гелашвили, Д.Б. Природные токсины в меж- и внутривидовых взаимодействиях человека (элементы этнотоксикологии) / Д.Б. Гелашвили // Журн. общ. биол. – 2002. Т. 63. – С. 258–269.

Горюнова, С.В. Водоросли – продуценты токсических веществ / С.В. Горюнова, И.С. Демина. – М.: Наука, 1974. – 255 с.

Григорьев, А.М. Идентификация и определение производных и продуктов метаболизма банккола методом ГЖХ-МС и ВЭЖХ для целей судебно-химического и токсикологического анализа / А.М. Григорьев, А.А. Мельник // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т. 8. – С. 766–778.

Гришин, Е.В. Выделение, свойства и аминокислотная последовательность двух цитотоксинов из яда среднеазиатской кобры *Naja naja oxiana* / Е.В. Гришин, А.П. Сухих, Т.Б. Адамович, Ю.А. Овчинников // Биоорг. хим. – 1976. – Т. 2. – С. 1018–1043.

Гришин, Е.В. Выделение, свойства и аминокислотный состав токсинов яда среднеазиатского скорпиона *Buthus eupeus* / Е.В. Гришин, Н.М. Солдатов, Б.А. Ташмухамедов, Б.У. Атакузиев // Биоорг. хим. – 1978. – Т. 4. – С. 450–460.

Гришин, Е.В. Выделение и характеристика токсического компонента южно-русского тарантула *Lucosa singoriensis* / Е.В. Гришин, Т.М. Волкова, А.А. Галкин и др. // Биоорг. хим. – 1979. – Т. 5. – С. 1455–1461.

Гришин, Е.В. Природа мембранных рецепторов нейротоксинов из яда скорпиона / Е.В. Гришин, Н.М. Солдатов, Ю.А. Овчинников // Биоорг. хим. – 1980. – Т. 6. – С. 914–922.

Гришин, Е.В. Структурно-функциональная характеристика аргиопина – блокатора ионных каналов из яда паука *Argiope lobata* / Е.В. Гришин, Т.М. Волкова, А.С. Арсеньев и др. // Биоорг. хим. – 1986. – Т. 12. – С. 1121–1124.

Гришин, Е.В. Действие нелетальных доз латротоксина на поведение белых крыс / Е.В. Гришин, Р.А. Данилова, Н.Е. Бочарова и др. // Докл. РАН. – 2001. – Т. 376. – С. 411–413.

Гурин, И.С. Биологически активные вещества гидробионтов – источник новых лекарственных средств и препаратов / И.С. Гурин, И.С. Ажгихин. – М.: Наука, 1981. – 136 с.

Данилевич, В.Н. Хромосомные гены нейротоксинов паука каракурта не содержат интронов / В.Н. Данилевич, Е.В. Гришин // Биоорг. хим. – 2000. – Т. 26. – С. 933–939.

Дембицкий, В.М. Природные хлорсодержащие алкалоиды / В.М. Дембицкий, Г.А. Толстикова // Химия в интересах устойчивого развития. – 2001. – № 9. – С. 169–181.

Дерюгина, А.В. Исследование электрофоретической подвижности и агрегационных свойств эритроцитов при действии пчелиного яда и его препаратов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / А.В. Дерюгина. – Н. Новгород, 1998. – 20 с.

Дубинный, М.А. Пространственная структура цитотоксинов *Naja oxiana* и их взаимодействие с мицеллами и биомембранами: Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук: 03.00.02 / М.А. Дубинный. – Москва, 2006. – 22 с.

Егоров, В.В. Патофизиологические основы действия на организм яда скорпиона *Vutus eurus*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / В.В. Егоров. – Москва, 1983. – 24 с.

Ерофеева, Е.А. Сравнительный анализ действия некоторых зоотоксинов на систему крови крыс в норме и при радиопоражении: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Е.А. Ерофеева. – Н. Новгород, 2003. – 22 с.

Жмак, М.Н. Эффективная схема синтеза природных  $\alpha$ -конотоксинов и их аналогов / М.Н. Жмак, И.Е. Кашеверов, Ю.Н. Уткин и др. // Биоорг. хим. – 2001. – Т. 27. – С. 83–88.

Захаров, В.И. Антибиотические свойства секрета надлопаточных желез жаб / В.И. Захаров, В.О. Кузнецов, Е.Ф. Бешляга, В.Ф. Симонова. Под ред. В.М. Никитина. – Кишинев: Изд-во Штиинца, 1973. – 142 с.

Зелепуга, Е.А. Взаимодействие полипептидов Кунитц-типа актинии *Heteractis crispa* с болевым ваниллоидным рецептором TRPV1: in silico исследование / Е.А. Зелепуга, В.М. Табакмахер, В.Е. Чаусова и др. // Биоорг. хим. – 2012. – Т. 38, № 2. – С. 185–198.

Золотарев, В.А. Капсаицин-чувствительные афференты блуждающего нерва / В.А. Золотарев, А.Д. Ноздрачев // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87. – С. 182–204.

Зыкова, Т.А. Низкомолекулярные цитолизины и ингибиторы трипсина из морской актинии *Radianthus macrodactylu*. Выделение и частичная характеристика / Т.А. Зыкова, М.М. Монастырская, О.В. Апаликова, Т.В. Швец, Э.П. Козловская // Биоорг. хим. – 1998. – Т. 24. – С. 509–516.

Иванов, А.В. Пауки, их строение, образ жизни и значение для человека / А.В. Иванов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1965. – 304 с.

Ильина, А.П. Актинопорины из актинии Японского моря *Oulactis orientalis*: выделение и частичная характеристика / А.П. Ильина, М.М. Монастырская, И.Н. Сокогутун и др. // Биоорг. хим. – 2005. – Т. 31. – С. 39–48.

Ильина, А.П. Первичная структура актинопоринов актинии / А.П. Ильина, М.М. Монастырская, М.П. Исаева и др. // Биоорг. хим. – 2005. – Т. 31. – С. 357–362.

Исследования природных соединений в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова: Сб. ст. / Отв. ред. д.х.н. И.Н. Красикова. – Владивосток: Изд-во Дальнаука, 2013. – 186 с.

Исхаки, Ю.Б. Яд змеи гюрзы / Ю.Б. Исхаки, А.А. Жаворонков. – Душанбе: Изд-во Ирфон, 1968. – 144 с.

Калиновский, А.И. Стероидные полиолы из дальневосточных морских звезд / А.И. Калиновский, Э.В. Левина, В.А. Стоник и др. // Биоорг. хим. – 2004. – Т. 30. – С. 215–220.

Кашеверов, И.Е. Фотоактивируемые производные  $\alpha$ -конотоксинов GI и MI и их взаимодействие с никотиновым ацетилхолиновым рецептором / И.Е. Кашеверов, А.М. Рожкова, М.Н. Жмак и др. // Биоорг. хим. – 2002. – Т. 28. – С. 101–108.

Кашеверов, И.Е.  $\alpha$ -Конотоксины в исследовании структуры и функций никотиновых рецепторов / И.Е. Кашеверов, В.И. Цетлин // Усп. биол. хим. – 2009. – Т. 49. – С. 275–318.

Киреева, В.Ф. Влияние пчелиного яда на белковый состав сыворотки крови и проницаемость кровеносных сосудов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / В.Ф. Киреева. – Горький, 1968. – 20 с.

Кодиров, С.А. Суперсемейство потенциалзависимых  $K^+$ -каналов: структура, функции и патология / С.А. Кодиров, В.Л. Журавлев, Т.А. Сафонова и др. // Цитология. – 2010. – Т. 52. – С. 696–715.

Козлов, С.А. Новые полипептидные компоненты с анальгетической активностью из морской анемоны *Heteractis crispa* / С.А. Козлов, Я.А. Андреев, А.Н. Мурашев и др. // Биоорг. хим. – 2009. – Т. 35. – С. 789–798.

Конькова, Л.Г. Реакция организма на лучевое воздействие в условиях гипотермии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Л.Г. Конькова. – Горький, 1968. – 20 с.

Корнева, Н.В. Физиологический анализ рефлекторного действия некоторых животных ядов: Автореф. дис. .... канд. биол. наук: 03.00.13 / Н.В. Корнева. – Горький, 1970. – 20 с.

Корягин, А.С. Эколого-физиологическая характеристика адаптогенных свойств зоотоксинов при повреждающем действии гамма-облучения на организм экспериментальных животных. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13, 03.00.16 / А.С. Корягин. – Н. Новгород, 2007. – 40 с.

Кочеткова, Н.Г. Воздействие апитоксина на некоторые показатели системы иммунитета в норме и при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.46 / Н.Г. Кочеткова. – Челябинск, 1998. – 21 с.

Кривопапов, И.В. Система крови при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите и лечении его апитоксином: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.36 / И.В. Кривопапов. – Челябинск, 1998. – 20 с.

Крылов, В.Н. Действие пчелиного яда на коронарное кровообращение / В.Н. Крылов // В сб.: Механизмы действия зоотоксинов. – Горький: Изд-во ГГУ, 1974. – Т. 3. – С. 125–129.

Крылов, В.Н. Механизмы изменения некоторых функций нормального и альтерированного сердца под влиянием зоотоксинов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13 / В.Н. Крылов. – Москва, 1990. – 32 с.

Крылов, В.Н. Пчелиный яд. Свойства, получение, применение / В.Н. Крылов. – Н. Новгород, 1995. – 223 с.

Крылов, В.Н. Влияние пчелиного яда и его компонентов на электрофоретическую подвижность эритроцитов / В.Н. Крылов, А.В. Дерюгина // Украинский биохим. журн. – 1998. – Т. 70. – С. 32–37.

Крылов, В.Н. Исследование кардиотонического действия яда зеленой жабы *Bufo viridis* / В.Н. Крылов // Журн. эволюционной биохимии и физиол. – 2002. – Т. 38. – С. 173–176.

Крылов, В.Н. Теория и средства апитерапии / В.Н. Крылов, А.В. Агафонов, Н.И. Кривцов и др. М.: Изд-во Комильфо, 2007. – 296 с.

Крылов, В.Н. Пропедевтика апитерапии. Уч. пособие / В.Н. Крылов, В.Д. Трошин, Г.В. Кокурин и др. – М.: Изд-во МПГУ, 2012. – 208 с.

Кудряшова, К.С. Разработка флуоресцентной системы поиска блокаторов потенциал-чувствительных калиевых каналов семейства  $Kv1$ : Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / К.С. Кудряшова. – Москва, 2015. – 22 с.

Куранова, И.Л. Бомбезин амфибий и его аналог алитезин / И.Л. Куранова, С.И. Чуркина, В.Л. Людмирова и др. // Биоорг. хим. – 1989. – Т. 15. – С. 748–762.

Кухтина, В.В. MALDI масс-спектрометрия для идентификации новых белков в яде змей / В.В. Кухтина, К. Вайзе, А.В. Осипов и др. // Биоорг. хим. – 2000. – Т. 26. – С. 803–807.

Лазарева, В.Д. Участки узнавания моноклональных антител A4 и A24 в молекуле  $\alpha$ -латротоксина / В.Д. Лазарева, Н.Е. Бочарова, К.Е. Волынский и др. // Биоорг. хим. – 2000. – Т. 26. – С. 299–305.

Лашина, В.Л. Функциональное состояние эритроцитов в условиях действия на организм природных биологически активных веществ (зоотоксинов): Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / В.Л. Лашина. – Ашхабад, 1985. – 20 с.

Левина, Э.В. Стероидные соединения из дальневосточных морских звезд *Henricia aspera* и *H. tumida* / Э.В. Левина, А.И. Калиновский, В.А. Стоник и др. // Биоорг. хим. – 2005. – Т. 31. – С. 519–527.

Липкин, А.В. Вариабельность структуры нейротоксинов скорпиона *Orthochirus scrobiculosus* разных ареалов обитания / А.В. Липкин, Е.В. Гришин // Биоорг. хим. – 1999. – Т. 25. – С. 341–347.

Мариковский, П.И. Тарангул и каракурт / П.И. Мариковский. – Фрунзе: Изд-во АН КиргизССР, 1956. – 283 с.

Мариковский, П.И. Насекомые защищаются / П.И. Мариковский. – М.: Наука, 1977. – 200 с.

Миронов, А.А. Влияние буфотина на устойчивость ЦНС крыс к острой гипобарической гипоксии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / А.А. Миронов. – Н. Новгород, 2002. – 20 с.

Михайлов, К.Г. Общая арахнология. Краткий курс. Ч. 2. Пауки: морфология, анатомия, биология / К.Г. Михайлов. – М.: Изд-во Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 56 с.

Николаев, И.Н. Влияние пчелиного яда на некоторые функции ЦНС человека и животных: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / И.Н. Николаев. – Н. Новгород, 1999. – 21 с.

Николаева, А.А. Физиологический анализ действия продуктов пчеловодства на систему крови крыс при экспериментальном лучевом поражении: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / А.А. Николаева. – Н. Новгород, 2000. – 21 с.

Никольский, А.С. Полипептидные компоненты яда пауков, модулирующие активность потенциал-зависимых натриевых каналов: Автореф. дис. ... канд. хим. наук: 02.00.10. / А.С. Никольский. – Москва, 2012. – 22 с.

Овчинников, Ю.А. Природные токсины в изучении молекулярных основ нервной проводимости / Ю.А. Овчинников / В кн.: Фундаментальные науки – медицине. – М.: Наука, 1980. – С. 60–69.

Омаров, Ш.М. Патологические аспекты антикоагулирующего действия некоторых зоотоксинов и их ингредиентов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 03.00.13 / Ш.М. Омаров. – Москва, 1980. – 32 с.

Орлов, Б.Н. Физиологический анализ нейротропных свойств животных ядов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13 / Б.Н. Орлов. – Саратов, 1972. – 42 с.

Орлов, Б.Н. Действие пчелиного яда на коронарное и мозговое кровообращение / Б.Н. Орлов, Н.В. Корнева, В.Н. Крылов, Д.Б. Гелашвили // Тез. докл. 25 Меж. кон. по пчеловодству. – Бухарест, 1975. – С. 237–238.

Орлов, Б.Н. Яды змей (токсикологические, биохимические и патологические аспекты) / Б.Н. Орлов, И.А. Вальцева. – Ташкент: Медицина, 1977. – 252 с.

Орлов, Б.Н. Зоотоксикология. Ядовитые животные и их яды / Б.Н. Орлов, Д.Б. Гелашвили. – М.: Высш. шк. 1985. – 280 с.

Орлов, Б.Н. Ядовитые животные и растения СССР / Б.Н. Орлов, Д.Б. Гелашвили. – М.: Высш. шк., 1990. – 272 с.

Осмаков, Д.И. Получение рекомбинантных биологически активных полипептидов морских анемонов / Д.И. Осмаков, Я.А. Андреев, С.А. Козлов // Вестник МГОУ. – 2010. – № 3. – С. 7–11.

Осмаков, Д.И. Поиск природных лигандов протонактивируемых рецепторов: Автореф. дис. ... канд. хим. наук: 02.00.10 / Д.И. Осмаков. – Москва, 2013. – 26 с.

Отчет о выполнении научно-исследовательских работ за 2013 г. / Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; Директор ИБХ РАН академик В.Т. Иванов. – М., 2013. – 113 с.

Ошевенский, Л.В. Физиологический анализ кардиотропной активности препарата жабьего яда «Буфотин»: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Л.В. Ошевенский. – Н. Новгород, 1997. – 20 с.

Павловский, Е.Н. Ядовитые животные Средней Азии / Е.Н. Павловский. – Сталинабад: Изд-во ТФ АН СССР, 1950. – 109 с.

Павловский, Е.Н. Работы по экспериментальной зоологии и ядовитым животным / Е.Н. Павловский. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1963. – 207 с.

Парин, С.Б. Роль эндогенной опиоидной системы в физиологических и повреждающих эффектах некоторых зоотоксинов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / С.Б. Парин. – Киев, 1986. – 20 с.

Пигулевский, С.В. Ядовитые животные (Токсикология позвоночных) – Л.: Медицина, 1966. – 388 с.

Пигулевский, С.В. Ядовитые животные. (Токсикология беспозвоночных) / С.В. Пигулевский. – Л.: Медицина, 1975. – 375 с.

Пикалова, В.М. Эндотелин и его влияние на процессы свободнорадикального окисления / В.М. Пикалова // Дальневосточный мед. журн. – 2004. – № 3. – С. 87–91.

Просви́ров, Е.С. Ядовитые и опасные рыбы тропических вод Атлантики / Е.С. Просви́ров. – М.: Изд-во ВНИРО, 2007. – 38 с.

Протисты: Руководство по зоологии. Ч. 3. / Ред. О.Н. Пугачев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. – 474 с.

Рамазанова, А.С. Структурно-функциональные исследования новых токсичных белков яда гадюки *Vipera nikolski*: Автореф. дис. ... канд. хим. наук: 02.00.10 / А.С. Рамазанова. – Москва, 2011. – 23 с.

Романова, Е.Б. Иммунофармакологическая активность зоотоксинов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.00.25 / Е.Б. Романова. – Москва, 1983. – 20 с.

Романова, Е.Б. Иммунофизиологические механизмы поддержания гомеостаза организма в условиях воздействия стрессорных факторов среды обитания: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13 / Е.Б. Романова. – Н. Новгород, 2008. – 48 с.

Романова, Е.Б. Иммуотропная активность зоотоксинов / Е.Б. Романова, Д.Б. Гелашвили. – Н. Новгород, Изд-во ННГУ, 2001. – 224 с.

Сабурцев, С.А. Физиологический анализ кардио- и вазостимулирующего эффектов пчелиного яда: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / С.А. Сабурцев. – Н. Новгород, 1998. – 20 с.

Саушев, С.В. Экспериментальное и клиническое обоснование инотропно-метаболической поддержки ишемизированного сердца буфотином и актовегином: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.16 / С.В. Саушев. – Саранск, 1998. – 25 с.

Сахибов, Д.Н. Химия и биохимия змеиных ядов / Д.Н. Сахибов, В.М. Сорокин, Л.Я. Юкельсон. – Ташкент: Изд-во Фан, 1972. – 185 с.

Сачкова, М.Ю. Двудоменные токсины ядов пауков: Дис. ... канд. хим. наук: 02.00.10 / М.Ю. Сачкова. – Москва, 2014. – 116 с.

Сергеева, Л.И. Физиологический анализ ганглиолитического действия некоторых животных ядов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Л.И. Сергеева. – Горький, 1968. – 20 с.

Серова, О.В. Особенности протеолитического процессинга и субъединичной структуры адгезионного G-белоксвязанного рецептора C1RL: Автореф. дис. ... канд. хим. наук: 02.01.04 / О.В. Серова. – Москва, 2012. – 24 с.

Стоник, В.А. Морские природные соединения. Путь к новым лекарственным препаратам / В.А. Стоник // Acta Naturae (русскоязычная версия). – 2009. – № 2. – С. 16–27.

Султанов, М.Н. Укусы ядовитых животных / М.Н. Султанов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1977. – 192 с.

Сурин, А.М. Влияние  $\alpha$ -конотоксина МП и его N-концевых производных на  $Ca^{2+}$  и  $Na^{+}$ -сигналы, индуцированные никотином в клетках нейробластомы SH-SY5Y / А.М. Сурин, Е.В. Крюкова, А.С. Струков, М.Н. Жмак, Р. Талка и др. // Биоорг. хим. – 2012. – Т. 38. – С. 214–222.

Таламанова, М.Н. Адаптогенные эффекты наноструктурированного препарата пчелиного яда при гамма-облучении экспериментальных животных: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01 / М.Н. Таламанова. – Н. Новгород, 2010. – 20 с.

Талызин, Ф.Ф. Змеи / Ф.Ф. Талызин. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 108 с.

Тарнани, И.К. Наши ядовитые животные (биология, вред и меры борьбы) / И.К. Тарнани. – СПб: Типография И.Н. Скороходова, 1907. – 127 с.

Терентьев, П.В. Герпетология / П.В. Терентьев. – М.: Высш. школа, 1961. – 335 с.

Тинякова, О.П. Анализ антиноцицептивного действия некоторых зоотоксинов и их препаратов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / О.П. Тинякова. – Н. Новгород, 1998. – 20 с.

Тихобразова, О.П. Влияние Буфотина и убихинона-10 на функции ЦНС крыс в норме и при гипобарической гипоксии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / О.П. Тихобразова. – Н. Новгород, 2007. – 20 с.

Ткачева, Е.С. Новые актинопорины актинии *Heteractis crispata*: клонирование и функциональная экспрессия / Е.С. Ткачева, Е.В. Лейченко, М.М. Монастырская и др. // Биохимия. – 2011. – Т. 76. – С. 1387–1397.

Туйчибаев, М.У. Ориентотоксин – новый пресинаптический нейротоксин из яда большого шершня *Vesta orientalis* / М.У. Туйчибаев, Б. А. Ташмухамедов, И. Г. Готгильф, Л. Г. Магазаник // Биоорг. хим. – 1984. – Т. 10. – С. 317–322.

Фролова, Г.М. Иммуноферментный метод обнаружения микробного продукта палитоксина / Г.М. Фролова, Т.А. Кузнецова, В.В. Михайлов и др. // Биоорг. хим. – 2000. – Т. 26. – С. 315–320.

Холстед, Б. Опасные морские животные / Б. Холстед. – М.: Гидрометеиздат, 1970. – 160 с.

Хомутов, А.Е. Биологические и технологические основы получения пчелиного яда: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13, 06.02.04 / А.Е. Хомутов. – Москва, 1996. – 48 с.

Хрусталева, Н.А. Бабочки и возможные медицинские последствия контактов с их ядами. Ч. II. Сем. Thaumetopoeidae, Lasiocampidae, Lymantriidae / Н.А. Хрусталева // Пест-менеджмент. – 2008. – № 1. – С. 30–36.

Чернышев, А.В. Сравнительная морфология, систематика и филогения немертин / А.В. Чернышев. – Владивосток: Изд-во Дальнаука, 2011. – 309 с.

Шабалин, М.А. Влияние гипертермии на систему крови у животных-опухоленосителей на фоне действия зоотоксинов / М.А. Шабалин, В.Н. Крылов // В мире научных открытий. – 2014. – № 2 (50). – С. 381–386.

Шулепко, М.А. Исследование лиганд-рецепторных взаимодействий на примере никотинового ацетилхолинового рецептора и токсинов из яда змей: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.02 / М.А. Шулепко. – Москва, 2009. – 25 с.

Ягин, В.В. Эколого-физиологические аспекты термопротекторного действия зоотоксинов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13, 03.00.16 / В.В. Ягин. – Н. Новгород, 2007. – 49 с.

Aubret, F. A comparison of two populations of tiger snakes, *Notechis scutatus occidentalis*: the influence of phenotypic plasticity on various life history traits / F. Aubret // New Ph.D. thesis. University of Western Australia. – 2005. – 212 p.

Abd-Elsalam, M.A. Bosentan, a selective and more potent antagonist for *Atractaspis envenomation* than the specific antivenom / M.A. Abd-Elsalam // *Toxicon*. – 2011. – Vol. 57. – P. 861–870.

Abirami, P. Bio-prospecting of catfish sting venom *Arius maculatus* available along south east coast of India / P. Abirami, M. Arumugam, S. Giji, S. Nagarajan // *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* – 2014. – Vol. 6. – P. 110–115.

Abraham, A.A. Characterization of brevetoxin metabolism in *Karenia brevis* bloom-exposed clams (*Mercenaria* sp.) by LC-MS/MS / A.A. Abraham, Y. Wang, K.R. El Said, S.M. Plakas // *Toxicon*. – 2012. – Vol. 60. – P. 1030–1040.

Adachi, M. Total synthesis of chiriquitoxin, an analogue of tetrodotoxin isolated from the skin of a Dart Frog / M. Adachi, T. Imazu, R. Sakakibara // *Chem. Eur. J.* – 2014. – Vol. 20. – P. 1247–1251.

Albrand, J.-P. NMR and restrained molecular dynamics study of the three-dimensional solution structure of toxin FS2, a specific blocker of the L-type calcium channel, isolated from Black Mamba venom / J.-P. Albrand, M.J. Blackledge, F. Pascaud et al. // *Biochem.* – 1995. – Vol. 34. – P. 5923–5937.

Amzil, Z. Ovatoxin- $\alpha$  and palytoxin accumulation in seafood in relation to *Ostreopsis* cf. *ovata* blooms on the french mediterranean coast / Z. Amzil, M. Sibat, N. Chomerat et al. // *Mar. Drugs*. – 2012. – Vol. 10. – P. 477–496.

Andreev, Y.A. Polypeptide modulators of TRPV1 produce analgesia without hyperthermia / Y.A. Andreev, S.A. Kozlov, Y.V. Korolkova et al. // *Mar. Drugs*. – 2013. – Vol. 11. – P. 5100–5115.

Anderluh, G. Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) / G. Anderluh, P. Maček // *Toxicon*. – 2002. – Vol. 40. – P. 111–124.

Andrich, F. A potent vasoactive cytolysin isolated from *Scorpaena plumieri* scorpionfish venom / F. Andrich, J.B.T. Carnielli, J.S. Cassoli et al. // *Toxicon*. – 2010. – Vol. 56. – P. 487–496.

Archer, S.L. Nitric oxide and cGMP cause vasorelaxation by activation of a charybdotoxin-sensitive  $K^+$ -channel by cGMP-dependent protein kinase / S.L. Archer,

J.M.C. Huang, V. Hampl et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1994. – Vol. 91. – P. 7583–7587.

Argiolas, A. Bombolinitins, a new class of mast cell degranulating peptides from the venom of the bumblebee *Megabombus pennsylvanicus* / A. Argiolas, J.J. Pisano // J. Biol. Chem. – 1985. – Vol. 260. – P. 1437–1444.

Armer, C.A. Colorado potato beetle toxins revisited: evidence the beetle does not sequester host plant glycoalkaloids / C.A. Armer // J. Chem. Ecology. – 2004. – Vol. 30. – P. 883–888.

Asano, M. Charybdotoxin-sensitive K<sup>+</sup>-channels regulate the myogenic tone in the resting state of arteries from spontaneously hypertensive rats / M. Asano, K. Masuzawa-Ito, T. Matsuda // Br. J. Pharmacol. – 1993. – Vol. 108. – P. 214–222.

Assessment of the threat of toxic microalgal species to the Great Barrier Reef World Heritage Area: A literature review / Compiled by S. Garrard, K. Heimann, D. Blair // Cairns, Qld: Reef and Rainforest Research Centre. – 2008. – 32 p.

Auddy, B. A lethal protein toxin (toxin-PC) from the indian catfish (*Plotosus canius*, Hamilton) venom / B. Auddy, D.C. Muhuri, M.I. Alam, A. Gomes // Natural toxins. – 1995. – Vol. 3. – P. 363–368.

Badillo, R.B. A Case study of lionfish sting-induced paralysis / R.B. Badillo, W. Banner, J.A. Morris, Jr., S.E. Schaeffer // AACL Bioflux. – 2012. – Vol. 5. – P. 1–3.

Banumathi, S. Structure of the neurotoxic complex vipoxin at 1.4 Å resolution / S. Banumathi, K.R. Rajashankar, C. Notzel et al. // Acta Cryst. – 2001. – D57. – P. 1552–1559.

Barbaro, K.C. Comparative study on extracts from the tissue covering the stingers of freshwater (*Potamotrygon falkneri*) and marine (*Dasyatis guttata*) stingrays / K.C. Barbaro, M.S. Lira, M.B. Malta et al. // Toxicon. – 2007. – Vol. 50. – P. 676–687.

Barlow, A. Coevolution of diet and prey-specific venom activity supports the role of selection in snake venom evolution / A. Barlow, C.E. Pook, R.A. Harrison et al. // Proc. R. Soc. – 2009. – Vol. 276 B. – P. 2443–2449.

Bell, K.L. Some pharmacological studies of venom from the Inland taipan (*Oxyuranus microlepidotus*) / K.L. Bell, S.K. Sutherland, W.C. Hodgson // Toxicon. – 1998. – Vol. 36. – P. 63–74.

Bergeron, Z.L. Scorpion toxins specific for potassium (K<sup>+</sup>) channels: a historical overview of peptide bioengineering / Z.L. Bergeron, J.-P. Bingham // Toxins. – 2012. – Vol. 4. – P. 1082–1119.

Bernaldez, J. A *Conus regularis* conotoxin with a novel eight-cysteine framework inhibits CaV2.2 channels and displays an anti-nociceptive activity / J. Bernaldez, S.A. Roman-Gonzalez, O. Martinez et al. // Mar. Drugs. – 2013. – Vol. 11. – P. 1188–1202.

Birrell, G.W. The diversity of bioactive proteins in Australian snake venoms / G.W. Birrell, S.T.H. Earl, T.P. Wallis et al. // Mol. Cell. Proteomics. – 2007. – Vol. 6. – P. 973–986.

Bisset, N.G. Arrow and dart poisons / N.G. Bisset // J. Ethnopharmacol. – 1989. – Vol. 25. – P. 1–41.

Black, A.R. Solubilization and physical characterization of acceptors for dendrotoxin and  $\beta$ -bungarotoxin from synaptic membranes of rat brain / A.R. Black, C.M. Donegan, B.J. Denny et al. // Biochem. – 1988. – Vol. 27. – P. 6814–6820.

Blaylock, R.S.M. Antibacterial properties of KwaZulu natal snake venoms / R.S.M. Blaylock // Toxicon. – 2000. – Vol. 38. – P. 1529–1534.



Blum, M.S. Defensive secretions of tiger beetles: ceanogenetic basis / M.S. Blum, T.H. Jones, G.J. House et al. // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1981. – Vol. 69B. – P. 903–904.

Bon, C. Crotoxin: a biochemical analysis of its mode of action / C. Bon, F. Radvanyi, B. Saliou et al. // *J. Toxicol.-Toxin reviews.* – 1986. – Vol. 5. – P. 125–138.

Bontems, F. Analysis of side-chain organization on a refined model of charybdotoxin: structural and functional implications / F. Bontems, B. Gilquin, C. Roumestand et al. // *Biochemistry.* – 1992. – Vol. 31. – P. 7756–764.

Bosmans, F. Four novel Tarantula toxins as selective modulators of voltage-gated sodium channel subtypes / F. Bosmans, L. Rash, S. Zhu et al. // *Mol. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 69. – P. 419–429.

Brady, R.M. Strategies for the development of conotoxins as new therapeutic leads / R.M. Brady, J.B. Baell, R.S. Norton // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 2293–2313.

Brown, R.L. Pseudechotoxin: a peptide blocker of cyclic nucleotide-gated ion channels / R.L. Brown, T.L. Haley, K.A. West et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 96. – P. 754–759.

Brust, A. Differential evolution and neofunctionalization of snake venom metalloprotease domains / A. Brust, K. Sunagar, E.A.B. Undheim et al. // *Molecular and Cellular Proteomics.* – 2013. – Vol. 12. – P. 651–663.

Butzke, D. Hydrogen peroxide produced by Aplysia ink toxin kills tumor cells independent of apoptosis via peroxiredoxin I sensitive pathways / D. Butzke, N. Machuy, B. Thiede et al. // *Cell Death and Differentiation.* – 2004. – Vol. 11. – P. 608–617.

Calderon, L. Biological and biochemical activities of *Vipera berus* (european viper) venom / L. Calderon, B. Lomonte, J.M. Gutierrez et al. // *Toxicon.* – 1993. – Vol. 31. – P. 743–753.

Campo, M. Okadaic acid toxin at sublethal dose produced cell proliferation in gastric and colon epithelial cell lines / M. Campo, H. Toledo, N. Lagos // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 4751–4760.

Candia, S. Mode of action of iberiotoxin, a potent blocker of the large conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$ -channel / S. Candia, M.L. Garcia, R. Latorre // *Biophys. Soc.* – 1992. – Vol. 63. – P. 583–590.

Carneiro, R.L. Growth and saxitoxin production by *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) correlate with water hardness / R.L. Carneiro, A.B.F. Pacheco, S.M.F.O. Azevedo // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 2949–2963.

Casewell, N.R. Domain loss facilitates accelerated evolution and neofunctionalization of duplicate snake venom metalloproteinase toxin genes / N.R. Casewell, S.C. Wagstaff, R.A. Harrison et al. // *Mol. Biol. Evolution.* – 2011. – Vol. 28. – P. 2637–2649.

Casewell, N.R. Dynamic evolution of venom proteins in squamate reptiles / N.R. Casewell, G.A. Huttley, Wolfgang Wuster // *Nat. communications.* – 2012. – Vol. 3. – P. 1066.

Catterall, W.A. Ion channel voltage sensors: structure, function and pathophysiology / W.A. Catterall // *Neuron review.* – 2010. – Vol. 67. – P. 915–928.

Cegolon, L. Jellyfish stings and their management: a review / L. Cegolon, W.C. Heymann, J.H. Lange et al. // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 523–550.

- Cervenansky, C. Fasciculin: modification of carboxyl groups and discussion of structure-activity relationship / C. Cervenansky, R. Duran, E. Karlsson // *Toxicon*. – 1996. – Vol. 34. – P. 718–721.
- Chainey, J.E. Insecta: Diptera, Tabanidae / J.E. Chainey. – Series Title: freshwater invertebrates of the Malaysian region, 2004. – P. 786–790.
- Chanturiya, A.N. The interaction of toxin from *Radianthus macrodactylus* with bilayer phospholipid membranes / A.N. Chanturiya, O.Ja. Shatursky, V.K. Lishko et al. // *Biol. Membr.* – 1990. – Vol. 7. – P. 763–769.
- Chau, R. Diversity and biosynthetic potential of culturable microbes associated with toxic marine animals / R. Chau, J.A. Kalaitzis, S.A. Wood et al. // *Mar. Drugs*. – 2013. – Vol. 11. – P. 2695–2712.
- Chen, K.K. Pharmacology and toxicology of toad venom / K.K. Chen, A. Kovarikova // *J. Pharm. Sci.* – 1967. – Vol. 56. – P. 1535–1543.
- Chhatwal, I. Isolation and characterization of dracotoxin from the venom of the greater weever fish *Trachinus draco* / I. Chhatwal, F. Drever // *Toxicon*. – 1992. – Vol. 30. – P. 87–93.
- Chugunov, A.O. Modular organization of  $\alpha$ -toxins from scorpion venom mirrors domain structure of their targets, sodium channels / A.O. Chugunov, A.D. Koromyslova, A.A. Berkut et al. // *J. Biol. Chem.* – 2013. – Vol. 288. – P. 19014–19027.
- Church, J.E. Adrenergic and cholinergic activity contributes to the cardiovascular effects of lionfish (*Pterois volitans*) venom / J.E. Church, W.C. Hodgson // *Toxicon*. – 2002. – Vol. 40. – P. 787–796.
- Church, J.E. The pharmacological activity of fish venoms / J.E. Church, W.C. Hodgson // *Toxicon*. – 2002. – Vol. 40. – P. 1083–1093.
- Clark, R.F. A review of selected seafood poisonings / R.F. Clark, S.R. Williams, S.P. Nordt et al. // *Undersea Hyper Med.* – 1999. – Vol. 26. – P. 175–185.
- Conceic, K. Orpotrin: A novel vasoconstrictor peptide from the venom of the brazilian stingray *Potamotrygon gr. orbignyi* / K. Conceic, K. Konno, R.L. Melo et al. // *Peptides*. – 2006. – Vol. 27. – P. 3039–3046.
- Crest, M. Kaliotoxin, a novel peptidyl inhibitor of neuronal BK-type  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$ -channels characterized from *Androctonus mauretanicus mauretanicus* venom / M. Crest, G. Jacquet, M. Gola // *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267. – P. 1640–1647.
- Currie, B.J. Marine Antivenoms / B.J. Currie // *J. Toxicol., Clin. Toxicol.* – 2003. – Vol. 41. – P. 301–308.
- Cusick, K.D. An Overview on the marine neurotoxin, saxitoxin: genetics, molecular targets, methods of detection and ecological functions / K.D. Cusick, G.S. Sayler // *Mar. Drugs*. – 2013. – Vol. 11. – P. 991–1018.
- Daenekas, J. *Speleonectes kakuki*, a new species of Remipedia (Crustacea) from anchialine and sub-seafloor caves on Andros and Cat Island, Bahamas / J. Daenekas, T.M. Iliffe, J. Yager, S. Koenemann // *Zootaxa*. – 2009. – Vol. 2016. – P. 51–66.
- Daly, J.W. Gephyrotoxins, histrionicotoxins and pumiliotoxins from the neotropical frog *Dendrobates histrionicus* / J.W. Daly, B. Witkop, T. Tokuyama et al. // *Helvetica Chimica Acta*. – 1977. – Vol. 6. – P. 1128–1141.
- Daly, J.W. Classification of skin alkaloids from neotropical poison-dart frogs (Dendrobatidae) / J.W. Daly, G.B. Brown, M. Mensah-Dwumah // *Toxicon*. – 1978. – Vol. 16. – P. 163–188.
- Daly, J.W. The chemistry of poisons in amphibian skin / J.W. Daly // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1995. – Vol. 92. – P. 9–13.

Daly, J.W. Alkaloids from frog skin: the discovery of epibatidine and the potential for developing novel non-opioid analgesics / J.W. Daly, H.M. Garraffo, T.F. Spande et al. // Nat. Prod. Rep. – 2000 – Vol. 17. – P. 131–135.

Daly, M. The phylum Cnidaria: a review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus / M. Daly, M.R. Brugler, P. Cartwright, A.G. Collins, M.N. Dawson et al. // Zootaxa. – 2007. – Vol. 1668. – P. 127–182.

Daly, N.L. Structural studies of conotoxins / N.L. Daly, D.J. Craik // IUBMB Life. – 2009. – Vol. 61. – P. 144–150.

Darling, D.C. Production of a cyanogenic secretion by a thyridid caterpillar (*Calindoea trifascialis*, Thyrididae, Lepidoptera) / D.C. Darling, F.C. Schroeder, J. Meinwald et al. // Naturwissenschaften. – 2001. – Vol. 88. – P. 306–309.

Datta, G. Toxicology and biochemistry of Colubridae venom / G. Datta, A.T. Tu // J. Toxicol.–Toxin reviews. – 1993. – Vol. 12. – P. 63–89.

Dauplais, M. Conservation of a diad of functional residues in potassium channel-blocking toxins with unrelated structures / M. Dauplais, A. Lecoq, J. Song et al. // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272. – P. 4302–4309.

De Weille, J.R. Calciseptine, a peptide isolated from black mamba venom, is a specific blocker of the L-type calcium channel / J.R. de Weille, H. Schweitz, P. Maes et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1991. – Vol. 88. – P. 2437–2440.

Dehghani, H. Study of patient's injuries by stingrays, lethal activity determination and cardiac effects induced by *Himantura gerrardi* venom / H. Dehghani, M.M. Sajjadi, H. Rajaian et al. // Toxicol. – 2009. – Vol. 54. – P. 881–886.

Delpierre, G.R. Studies on African snake venoms. II. Differentiation between proteinase and amino-acid esterase activities of some African viperidae venoms / G.R. Delpierre // Toxicol. – 1968. – Vol. 6. – P. 103–108.

Dixon, R. Myotoxic toxins from snake venoms: implications for treatment / R. Dixon, J. Harris // Toxicol. – 1996. – Vol. 34. – P. 734–735.

Dong, K. Insect sodium channels and insecticide resistance / K. Dong // Invert Neurosci. – 2007. – Vol. 7. – P. 17–30.

Doyle, D.A. The structure of the potassium channel: molecular basis of K<sup>+</sup> conduction and selectivity / D.A. Doyle, J.M. Cabral, R.A. Pfuetzner et al. // Science. – 1998. – Vol. 280. – P. 69–76.

Ducancel, F. Endothelin-like peptides / F. Ducancel // Cell. Mol. Life Sci. – 2005. – Vol. 62. – P. 2828–2839.

Dumbacher, J.P. Batrachotoxin alkaloids from passerine birds: a second toxic bird genus (*Ifrita kowaldi*) from New Guinea / J.P. Dumbacher, T.F. Spande, W. Daly // PNAS. – 2000. – Vol. 97. – P. 12970–12975.

Dumbacher, J.P. Melyrid beetles (Choresine): a putative source for the batrachotoxin alkaloids found in poison-dart and toxic passerine birds / J.P. Dumbacher, A. Wako, S.R. Derrickson et al. // PNAS. – 2004. – Vol. 101. – P. 15857–15860.

Duran, R. Effect of fasciculon on hydrolysis of neutral and choline esters by butyrylcholinesterase, cobra venom and chicken acetylcholinesterases / R. Duran, C. Cervenansky, E. Karlsson // Toxicol. – 1996. – Vol. 34. – P. 959–963.

Eagleman, D.M. Envenomation by the asp caterpillar (*Megalopyge opercularis*) / D.M. Eagleman // Clinical Toxicology. – 2007. – iFirst. – P. 1–5.

Eisner, T. Firefly "femmes fatales" acquire defensive steroids (lucibufagins) from their firefly prey / T. Eisner, M.A. Goetz, D.E. Hill et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – Vol. 94. – P. 9723–9728.

- Elston, D.M. Aquatic antagonists: lionfish (*Pterois volitans*) / D.M. Elston // *Cutis*. – 2006. – Vol. 77. – P. 215–216
- Essack, M. Conotoxins that confer therapeutic possibilities / M. Essack, V.B. Bajic, J.A.C. Archer // *Mar. Drugs*. – 2012. – Vol. 10. – P. 1244–1265.
- Faure, G. Crystal structure of crotoxin reveals key residues involved in the stability and toxicity of this potent heterodimeric  $\beta$ -neurotoxin / G. Faure, H. Xu, F.A. Sau // *J. Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 412. – P. 722–191.
- Fedorov, S. The anticancer effects of actinoporins from the sea anemone *Heteractis crispata* (= *Radianthus macrodactylus*) / S. Fedorov, M. Monastyrnaya, S. Dyshlovoy et al. // *Toxicon*. – 2010. – Vol. 55. – P. 811–817.
- Fernandez, I. Kaliotoxin (1—37) shows structural differences with related potassium channel / I. Fernandez, R. Romi, S. Szendeffy et al. // *Biochem.* – 1994. – Vol. 33. – P. 14256–14263.
- Fisher, M. Epibatidine, an alkaloid from the poison frog *Epipedobates tricolor*, is a powerful ganglionic depolarizing agent / M. Fisher, D. Huangfu, T.Y. Shen et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1994. – Vol. 270. – P. 702–707.
- Fletcher, J.I. The structure of versutoxin ( $\delta$ -atractoxin-Hv1) provides insights into the binding of site 3 neurotoxins to the voltage-gated sodium channel / J.I. Fletcher, B.E. Chapman, J.P. Mackay et al. // *Structure*. – 1997. – Vol. 5. – P. 1525–1535.
- Fox, J.W. Exploring snake venom proteomes: multifaceted analyses for complex toxin mixtures / J.W. Fox, S.M.T. Serrano // *Proteomics*. – 2008. – Vol. 8. – P. 909–920.
- Frazao, B. Sea anemone (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) toxins: an overview / B. Frazao, V. Vasconcelos, A. Antunes // *Mar. Drugs*. – 2012. – Vol. 10. – P. 1812–1851.
- Fry, B.G. Structure-function properties of venom components from Australian elapids / B.G. Fry // *Toxicon*. – 1999. – Vol. 37. – P. 11–32.
- Fry, B.G. Analysis of Colubroidea snake venoms by liquid chromatography with mass spectrometry: evolutionary and toxinological implications / B.G. Fry, W. Wuster, S.F. Ramjan et al. // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2003. – Vol. 17. – P. 2047–2062.
- Fry, B.G. Molecular evolution and phylogeny of elapid snake venom three-finger toxins / B.G. Fry, W. Wiister, R.M. Kini et al. // *J. Mol. Evol.* – 2003. – Vol. 57. – P. 110–129.
- Fry, B.G. Assembling an arsenal: origin and evolution of the snake venom proteome inferred from phylogenetic analysis of toxin sequences / B.G. Fry, W. Wuster // *Mol. Biol. Evol.* – 2004. – Vol. 21. – P. 870–883.
- Fujimi, T.J. Molecular evolution and diversification of snake toxin genes, revealed by analysis of intron sequences / T.J. Fujimi, T. Nakajyo, E. Nishimura et al. // *Gene*. – 2003. – Vol. 313. – P. 111–118.
- Fujimoto, R. On the absolute configuration of gephyrotoxin / R. Fujimoto, Y. Kishi // *Tetrahedron Letters*. – 1981. – Vol. 22. – P. 4197–4199.
- Gairí, M. 3D Structure of kaliotoxin: is residue 34 a key for channel selectivity? / M. Gairí, R. Romi, I. Fernandez et al. // *J. Peptide Science* – 1997. – Vol. 3. – P. 314–319.
- Gall, B.G. Female newts (*Taricha granulosa*) produce tetrodotoxin laden eggs after long term captivity / B.G. Gall, A.N. Stokes, S.S. French et al. // *Toxicon*. – 2012. – Vol. 60. – P. 722–1062.
- Gao, Y.-D. Interaction of agitoxin 2, charybdotoxin, and iberiotoxin with potassium channels: selectivity between voltage-gated and maxi K<sup>+</sup>-channels / Y.-D. Gao,

M.L. Garcia // Proteins: Structure, Function and Genetics. – 2003. – Vol. 52. – P. 146–154.

Garnier, P. Enzymatic properties of the stonefish (*Synanceia verrucosa* Bloch, Schneider, 1801) venom and purification of a lethal, hypotensive and cytolytic factor / P. Garnier, F. Goudey-Perriere, P. Breton et al. // *Toxicon*. – 1995. – Vol. 33. – P. 143–155.

Gasanov, S.E. Snake venom cytotoxins, phospholipase A<sub>2</sub>s, and Zn<sup>2+</sup>-dependent metalloproteinases: mechanisms of action and pharmacological relevance / S.E. Gasanov, R.K. Dagda, E.D. Rael // *J. Clin. Toxicol.* – 2014. – Vol. 4. – 34 p.

Geh, S.L. Neuromuscular effects of four phospholipases A<sub>2</sub> from the venom of *Pseudechis australis*, the Australian king brown snake / S.L. Geh, E.G. Rowan, A.L. Harvey // *Toxicon*. – 1992. – Vol. 30. – P. 1051–1057.

Geiger, M. Cytotoxicity, fractionation and dereplication of extracts of the dinoflagellate *vulcanodinium rugosum*, a producer of pinnatoxin G / M. Geiger, G. Desanglois, K. Hogeveen // *Mar. Drugs*. – 2013. – Vol. 11. – P. 3350–3371.

Gerwig, G.J. Glycosylation of conotoxins / G.J. Gerwig, H.G. Hocking, R. Stocklin et al. // *Mar. Drugs*. – 2013. – Vol. 11. – P. 623–642.

Goldstein, S.A.N. The charybdotoxin receptor of a shaker K<sup>+</sup>-channel: peptide and channel residues mediating molecular recognition / S.A.N. Goldstein, D.J. Pheasant, C. Miller // *Neuron*. – 1994. – Vol. 12. – P. 1377–1388.

Gomes, H.L. Stonefish antivenom neutralises the inflammatory and cardiovascular effects induced by scorpionfish *Scorpaena plumieri* venom / H.L. Gomes, T.N. Menezes, J.B.T. Carnielli et al. // *Toxicon*. – 2011. – Vol. 57. – P. 992–999.

Gomes, H.L. Molecular and biochemical characterization of a cytolysin from the *Scorpaena plumieri* (scorpionfish) venom: evidence of pore formation on erythrocyte cell membrane / H.L. Gomes, F. Andrich, C.L. Fortes-Dias et al. // *Toxicon*. – 2013. – Vol. 74. – P. 92–100.

Gopalan, G. Structural and pharmacological comparison of daboia toxin from *Daboia russelli siamensis* with viperotoxin F and vipoxin from other vipers / G. Gopalan, M.-M. Thwin, P. Gopalakrishnakone et al. // *Acta Cryst.* – 2007. – 63 D. – P. 722–729.

Grishin, E.V. Structure and function of *Buthus eupeus* scorpion neurotoxin / E.V. Grishin // *Int. J. Quantum. Chem.* – 1981. – Vol. 7. – P. 1813–1827.

Grishin, E.V. The role of neurotoxins in studying sodium channels / E.V. Grishin / In: Chemistry of Peptides and Proteins. Vol. 2. Eds. W. Voelter, E. Bayer, Yu. Ovchinnikov, E. Wunsch. Walter de Gruyter and Co., Berlin – New York. – 1984. – P. 309–318.

Grishin, E.V. Isolation and structure analysis of components from venom of the spider *Argiope lobata* / E.V. Grishin, T.M. Volkova, A.S. Arseniev // *Toxicon*. – 1989. – Vol. 27. – P. 541–549.

Grishin, E.V. Modulation of functional activities of the neurotoxin from black widow spider venom / E.V. Grishin, N.H. Himmelreich, K.A. Pluzhnikov et al. // *FEBS Lett.* – 1993. – Vol. 336. – P. 205–207.

Grishin, E.V. Spider neurotoxins and their neuronal receptors / E.V. Grishin // *Pure and Appl. Chem.* – 1994. – Vol. 66. – P. 783–790.

Grishin, E.V. Structure and function of the potassium channel inhibitor from black scorpion venom / E.V. Grishin, Yu.V. Korolkova, S.A. Kozlov et al. // *Pure and Appl. Chem.* – 1996. – Vol. 68. – P. 2105–2109.

- Grishin, E.V. Neurotoxin from black widow spider venom. Structure and Function / E.V. Grishin // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1996. – Vol. 391. – P. 231–236.
- Grishin, E.V. Black widow spiders toxins: the present and the future / E.V. Grishin // *Toxicon.* – 1998. – Vol. 36. – P. 1693–1701.
- Grishin, E.V. Polypeptide neurotoxins from spider venoms / E.V. Grishin // *Eur. J. Biochem.* – 1999. – Vol. 264. – P. 276–280.
- Gronlund, J. Adder bites. A report of 68 cases / J. Gronlund, A. Vuori, S. Nieminen // *Scandinavian J. Surgery.* – 2003. – Vol. 92. – P. 171–174.
- Guillemin, I. Sequences and structural organization of phospholipase A<sub>2</sub> genes from *Vipera aspis aspis*, *V. aspis zinnikeri* and *Vipera berus berus* venom. Identification of the origin of a new viper population based on ammodytin II heterogeneity / I. Guillemin, C. Bouchiert, T. Garriguesi et al. // *Eur. J. Biochem.* – 2003. – Vol. 270. – P. 2697–2706.
- Gutierrez, M. del C. A toxic fraction from scolopendra venom increases the basal release of neurotransmitters in the ventral ganglia of crustaceans / M. del C. Gutierrez, C. Abarca, L.D. Possani // *Comp. Biochem. Physiol. C: Pharmacol. Toxicol.* – 2003. – Vol. 135. – P. 205–214.
- Gwee, M.C.E. A Review of stonefish venoms and toxins / M.C.E. Gwee, P. Gopalakrishnakone, R. Yuen et al. // *Pharmacol. Ther.* – 1994. – Vol. 64. – P. 509–528.
- Haddad V. Jr. Freshwater stingrays: study of epidemiologic, clinic and therapeutic aspects based on 84 envenomings in humans and some enzymatic activities of the venom / V. Haddad Jr., D.G. Neto, J.B. de P. Neto et al. // *Toxicon.* – 2004. – Vol. 43. – P. 287–294.
- Hahn, S.T. An investigation of the biological activity of bullroar (*Notesthes robusta*) venom / S.T. Hahn, J.M. O'Connor // *Toxicon.* – 2000. – Vol. 38. – P. 79–89.
- Hallock, K.J. Membrane composition determines pardaxin's mechanism of lipid bilayer disruption / K.J. Hallock, D.-K. Lee, J. Omnaas et al. // *Biophys. J.* – 2002. – Vol. 83. – P. 1004–1013.
- Hannon, H.E. Omega-Conotoxins as experimental tools and therapeutics in pain management / H.E. Hannon, W.D. Atchison // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 680–699.
- Harvey, A.L. Dendrotoxins: snake toxins that block potassium channels and facilitate neurotransmitter release / A.L. Harvey, A.J. Anderson // *Pharmacol. Ther.* – 1985. – Vol. 31. – P. 33–55.
- Hatano, M. Properties of a toxic phospholipid in the northern blenny roe / M. Hatano, Y. Hashimoto // *Toxicon.* – 1974. – Vol. 12. – P. 231–236.
- Hayashi, M.A.F. Long-sarafotoxins: characterization of a new family of endothelin-like peptides / M.A.F. Hayashi, C. Ligny-Lemaire, Z. Wollberg et al. // *Peptides.* – 2004. – Vol. 25. – P. 1243–1251.
- Hegyí, B. Tetrodotoxin blockade on canine cardiac L-type Ca<sup>2+</sup>-channels depends on pH and redox potential / B. Hegyí, I. Komaromi, K. Kistamas et al. // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 2140–2153.
- Herzner, G. Larvae of the parasitoid wasp *Ampulex compressa* sanitize their host, the American cockroach, with a blend of antimicrobials / G. Herzner, A. Schlecht, V. Dollhofer et al. // *PNAS.* – 2013. – Vol. 110. – P. 1369–1374.
- Heyborne, W.H. Cysteine-rich secretory proteins in reptile venoms / W.H. Heyborne, S.P. Mackessy / In: *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles.* – CRC Press, 2009. – P. 321–332.

- Hoang, A.N. Vietnamese *Heterometrus laoticus* scorpion venom: evidence for analgesic and anti-inflammatory activity and isolation of new polypeptide toxin acting on Kv1.3 potassium channel / A.N. Hoang, H.D. Vo, N.P. Vo et al. // *Toxicon*. – 2014. – Vol. 77. – P. 40–48.
- Hodgson, W.C. Snake venoms and their toxins: an Australian perspective / W.C. Hodgson, J.C. Wickramaratna // *Toxicon*. – 2006. – Vol. 48. – P. 931–940.
- Holland, A. Interpreting the possible ecological role(s) of cyanotoxins: compounds for competitive advantage and/or physiological aide? / A. Holland, S. Kinnear // *Mar. Drugs*. – 2013. – Vol. 11. – P. 2239–2258.
- Hopkins, B.J. Pharmacological studies of stonefish (*Synanceja trachynis*) venom / B.J. Hopkins, W.C. Hodgson, S.K. Sutherland // *Toxicon*. – 1994. – Vol. 32. – P. 1197–1210.
- Hsiao, T.H. Properties of leptinotarsin a toxic hemolymph protein from the colorado potato beetle / T.H. Hsiao, G. Fraenkel // *Toxicon*. – 1969. – Vol. 7. – P. 119–130.
- Hussein, A. Effect of the bumblebee *Bombus morrisoni* venom on cardiac, skeletal and smooth-muscle activity / A. Hussein, Z. Nabil, S. Zalata et al. // *Egyptian J. Biol.* – 1999. – Vol. 1. – P. 45–56.
- Il'ina, A. Amino acid sequence of RTX-A's isoform actinoporin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* / A. Il'ina, A. Lipkin, E. Barsova et al. // *Toxicon*. – 2006. – Vol. 47. – P. 517–520.
- Islami, I. New records of canthariphily among beetles (Coleoptera) from Iran / I. Islami, M.R. Nikbakhtzadeh // *Turk. entomol. derg.* – 2009. – Vol. 33. – P. 243–251.
- Itai, A. A receptor model for tumor promoters: Rational superposition of teleocidins and phorbol esters / A. Itai, Y. Kato, N. Tomioka et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1988. – Vol. 85. – P. 3688–3692.
- Itoi, S. Difference in the localization of tetrodotoxin between the female and male pufferfish *Takifugu niphobles*, during spawning / S. Itoi, S. Yoshikawa, R. Tatsuno et al. // *Toxicon*. – 2012. – Vol. 60. – P. 1000–1004.
- Ivanovski, G. The amino acid region 115-119 of ammodytoxins plays an important role in neurotoxicity / G. Ivanovski, A. Copic, I. Krizaj et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – Vol. 276. – P. 1229–1234.
- Jackson, K. The evolution of venom-delivery systems in snakes / K. Jackson // *Zool. J. Linnean Soc.* – 2003. – Vol. 137. – P. 337–354.
- Jacobsen, T.F. Effect of diamphidia toxin, a bushman arrow poison, on ionic permeability in nucleated cells / T.F. Jacobsen, O. Sand, T. Bjoro et al. // *Toxicon*. – 1990. – Vol. 28. – P. 435–444.
- Janssen, M. Purification and characterization of an antithrombin III inactivating enzyme from the venom of the African night adder (*Causus hombeatus*) / M. Janssen, J. Meier, T.A. Freyvogel // *Toxicon*. – 1992. – Vol. 30. – P. 985–999.
- Joh, Y.-G. The chemical nature of scaritoxin / Y.-G. Joh, P.J. Scheuer // *Marine Fisheries Review*. – 1986. – Vol. 48. – P. 20–22.
- Johnson, B.A. Determination of the three-dimensional structure of margatoxin by <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N triple-resonance nuclear magnetic resonance spectroscopy / B.A. Johnson, S.P. Stevens, J.M. Williamson // *Biochem.* – 1994. – Vol. 33. – P. 15061–15070.
- Kamiguti, A.S. Mass spectrophotometry evidence for P-III/P-IV metalloproteinases in the venom of the boomslang (*Dispholidus typus*) / A.S. Kamiguti, R.D.G. Theakston, N. Sherman et al. // *Toxicon*. – 2000. – Vol. 38 – P. 1613–1620.

- Karlson-Stiber, C. First clinical experiences with specific sheep Fab fragments in snake bite. Report of a multicentre study of *Vipera berus* envenoming / C. Karlson-Stiber, H. Persson, A. Heath et al. // N. Engl. J. Med. – 1997. – Vol. 241. – P. 53–58.
- Karlsson, E. Snake toxins with high selectivity for subtypes of muscarinic acetylcholine receptors / E. Karlsson, M. Jolkkonen, E. Mulugeta et al. // Biochimie. – 2000. – Vol. 82. – P. 793–806.
- Kaser, A. The AVIT protein family. Secreted cysteine-rich vertebrate proteins with diverse functions / A. Kaser, M. Winklmayr, G. Lepperdinger et al. // EMBO reports. – 2003. – Vol. 4. – P. 469–473.
- Kasturiratne, A. The global burden of snakebite: a literature analysis and modelling based on regional estimates of envenoming and deaths / A. Kasturiratne, A.R. Wickremasinghe, N. de Silva et al. // PLoS Med. – 2008. – Vol. 5. – P. 218.
- Kazimirova, M. Anticoagulant activities in salivary glands of tabanid flies / M. Kazimirova, M. Sulanova, A.R. Trimnell et al. // Medical and Veterinary Entomology. – 2002. – Vol. 16. – P. 301–309.
- Kellner, R.L.L. Differential efficacy of toxic pederin in deterring potential arthropod predators of *Paederus* (Coleoptera: Staphylinidae) offspring / R.L.L. Kellner, K. Dettner // Oecologia. – 1996. – Vol. 107. – P. 293–300.
- Kellner, R.L.L. Molecular identification of an endosymbiotic bacterium associated with pederin biosynthesis in *Paederus sabaesus* (Coleoptera: Staphylinidae) / R.L.L. Kellner // Insect Biochem. Mol. Biol. – 2002. – Vol. 32. – P. 389–395.
- Kem, W. The nemertine toxin anabaseine and its derivative DMXBA (GTS-21): Chemical and pharmacological properties / W. Kem, F. Soti, K. Wildeboer et al. // Mar. Drugs. – 2006. – Vol. 4. – P. 255–273.
- Khodorov, B.I. Further analysis of the mechanisms of action of batrachotoxin on the membrane of myelinated nerve / B.I. Khodorov, S.V. Revenko // Neuroscience. – 1979. – Vol. 4. – P. 1315–1330.
- Khoo, H.E. Bioactive proteins from stonefish venom / H.E. Khoo // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2000. – Vol. 29. – P. 802–806.
- King, A.M. Pygmy rattlesnake envenomation treated with Crotalidae polyvalent immune Fab antivenom / A.M. King, W.S. Crim, N.B. Menke, A.F. Pizon // Toxicon. – 2012. – Vol. 60. – P. 1287–1289.
- Kini, R.M. Molecular moulds with multiple missions: functional sites in three-finger toxins / R.M. Kini // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2002. – Vol. 29. – P. 815–822.
- Kloog, Y. Sarafotoxin, a novel vasoconstrictor peptide: phosphoinositide hydrolysis in rat heart and brain / Y. Kloog, I. Ambar, M. Sokolovsky et al. // Science. – 1988. – Vol. 242. – P. 268–270.
- Klyshko, E.V. Isolation, properties and partial amino acid sequence of a new actinoporin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* / E.V. Klyshko, M.P. Issaeva, M.M. Monastyrnaya et al. // Toxicon. – 2004. – Vol. 44. – P. 315–324.
- Kochva, E. The origin of snakes and evolution of the venom apparatus / E. Kochva // Toxicon. – 1987. – Vol. 25. – P. 65–106.
- Kodama, M. Paralytic shellfish poisoning toxins: biochemistry and origin / M. Kodama // Aqua-BioScience Monographs. – 2010. – Vol. 3. – P. 1–38.
- Korukottu, J. High-resolution 3D structure determination of kaliotoxin by solid-state NMR spectroscopy / J. Korukottu, R. Schneider, V. Vijayan et al. // PloS ONE. – 2008. – Vol. 3. – P. 7.
- Kovarik, F. Illustrated catalog of scorpions / F. Kovarik. – Clarion Productions: Praque, 2009. – 169 p.



Kristan, K. Pore Formation by equinatoxin, a eukaryotic pore-forming toxin, requires a flexible N-terminal region and a stable  $\beta$ -Sandwich / K. Kristan, Z. Podlesek, V. Hojnik et al. // *Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 46509–46517.

Krizaj, I. Isolation, partial characterization and complete amino acid sequence of the toxic phospholipase A<sub>2</sub> from the venom of the common viper, *Vipera berus berus* / I. Krizaj, J. Siigur, M. Samel et al. // *BBA General Subjects.* – 1993. – Vol. 115. – P. 81–85.

Kuch, U. Phylogeography of Australia's king brown snake (*Pseudechis australis*) reveals pliocene divergence and pleistocene dispersal of a top predator / U. Kuch, J.S. Keogh, J. Weigel et al. // *Naturwissenschaften.* – 2005. – Bd. 92. – S. 121–127.

Kudo, Y. Isolation and structural determination of the first 8-epi-type tetrodotoxin analogs from the newt, *Cynops ensicaudapopei*, and comparison of tetrodotoxin analogs profiles of this newt and the puffer fish, *Fugu poecilonotus* / Y. Kudo, T. Yasumoto, K. Konoki et al. // *Mar. Drugs.* – 2012. – Vol. 10. – P. 655–667.

Kuhn-Nentwig, L. Venom composition and strategies in spiders: is everything possible? / L. Kuhn-Nentwig, R. Stocklin, W. Nentwig. In: *Advances in Insect Physiology.* – Burlington: Academic Press, 2011. – Vol. 40. – P. 1–87.

Kurnik, D. A snake bite by the burrowing Asp, *Atractaspis engaddensis* / D. Kurnik, Y. Haviv, E. Kochva // *Toxicon.* – 1999. – Vol. 37. – P. 223–227.

Laabir, M. Influence of environmental factors on the paralytic shellfish toxin content and profile of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) isolated from the Mediterranean sea / M. Laabir, Y. Collos, E. Masseret // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 1583–1601.

Laloo, D.G. Snake antivenoms / D.G. Laloo, R.D.G. Theakston // *J. Toxicol., Clin. Toxicol.* – 2003. – Vol. 41. – P. 277–290.

Lange, A. Toxin-induced conformational changes in a potassium channel revealed by solid-state NMR / A. Lange, K. Giller, S. Hornig et al. // *Nature.* – 2006. – Vol. 440. – P. 959–962.

Laraba-Djebari, F. Purification, characterization, and precursor nucleotide sequence of KTX2 from *Androctonus australis* venom / F. Laraba-Djebari, C. Legros, M. Crest et al. // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269. – P. 32835–32843.

Lecomte, C. Synthetic peptides as tools to investigate the structure and pharmacology of potassium channel-acting short-chain scorpion toxins / C. Lecomte, J.M. Sabatier, J.V. Rietschoten et al. // *Biochim.* – 1998. – Vol. 80. – P. 151–154.

Leonardi, A. Purification and characterisation of two hemorrhagic metalloproteinases from the venom of the long-nosed viper, *Vipera ammodytes ammodytes* / A. Leonardi, F. Gubensek, I. Krizaj // *Toxicon.* – 2002. – Vol. 40. – P. 55–62.

Leonardi, T.M. A lethal myotoxin isolated from the venom of the Australian king brown snake (*Pseudechis australis*) / T.M. Leonardi, M.E.H. Howden, I. Spence // *Toxicon.* – 1979. – Vol. 17 – P. 549–555.

Li, C. Phage randomization in a charybdotoxin scaffold leads to CD4-mimetic recognition motifs that bind HIV-1 envelope through non-aromatic sequences / C. Li, C.S. Dowd, W. Zhang, I.M. Chaiken // *J. Peptide Res.* – 2001. – Vol. 57. – P. 507–518.

Ling, K. H. Fish-induced keriorrhea / K.H. Ling, P.D. Nichols, P.P.-H. But / In: *Advances in food and nutrition research.* Taylor, S. L. (Ed). – 2009. – Vol. 57. – P. 1–52.

Liu, Z.H. Biochemical and pharmacological study of venom of the wolf spider *Lycosa singoriensis* / Z.H. Liu, W. Qian, J. Li et al. // J. Venom Anim. Toxins Incl. Trop. Dis. – 2009. – Vol. 15. – P. 79–92.

Lomonte, B. Similar effectiveness of Fab and F(ab')<sub>2</sub> antivenoms in the neutralization of hemorrhagic activity of *Vipera berus* snake venom in mice / B. Lomonte, G. Leon, L.A. Hanson // Toxicon. – 1996. – Vol. 34. – P. 1197–1202.

Lopes, V.M. Cephalopods as vectors of harmful algal bloom toxins in marine food webs / V.M. Lopes, A.R. Lopes, P. Costa et al. // Mar. Drugs. – 2013. – Vol. 11. – P. 3381–3409.

Lopes-Ferreira, M. Thalassophryne nattereri fish venom: biological and biochemical characterization and serum neutralization of its toxic activities / M. Lopes-Ferreira, K.C. Barbaro, D.F. Cardoso et al. // Toxicon. – 1998. – Vol. 36. – P. 405–410.

Lopes-Ferreira, M. Clinical manifestations and experimental studies on the spine extract of the toadfish *Porichthys porosissimus* / M. Lopes-Ferreira, A.D. Ramos, I.A. Martins et al. // Toxicon. – 2014. – Vol. 86 – P. 28–39.

Lopreato, G.F. Evolution and divergence of sodium channel genes in vertebrates / G.F. Lopreato, Y. Lu, A. Southwell et al. // PNAS. – 2001. – Vol. 98. – P. 7588–7592.

Lorentzen, D. Speleonectes emersoni, a new species of Remipedia (Crustacea) from the Dominican Republic / D. Lorentzen, S. Koenemann, T.M. Iliffe // Zootaxa. – 2007. – Vol. 1543. – P. 61–68.

Lorini, L.M. Biology of laboratory-reared *Lonomia obliqua* (Lepidoptera: Saturniidae) / L.M. Lorini, P.H.G. Zarbin, C.D. Tedesco et al. // Florida Entomologist. – 2007. – Vol. 90. – P. 770–771.

Lunt, G.G. Snake venom phospholipases: separating the phospholipase activity from neurotoxicity / G.G. Lunt // Toxicon. – 1996. – Vol. 34. – P. 727.

Ma, D. Purification and characterization of two new allergens from the salivary glands of the horsefly, *Tabanus yao* / D. Ma, Y. Li, J. Dong et al. // Allergy. – 2011. – Vol. 66. – P. 101–109.

Maatuk, N. Modeling the binding mechanism of Alzheimer's A $\beta$ 1-42 to nicotinic acetylcholine receptors based on similarity with snake  $\alpha$ -neurotoxins / N. Maatuk, A.O. Samson // NeuroToxicology. – 2012. – Vol. 1470. – 7 p. Режим доступа: <http://odem.md.biu.ac.il/maatuk.pdf>

Mackessy, S.P. Biochemistry and pharmacology of colubrid snake venoms / S.P. Mackessy // J. Toxicol. – Toxin reviews. – 2002. – Vol. 21. – P. 43–83.

MacKinnon, R. Mechanism of charybdotoxin block of the high-conductance, Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup>-channel / R. MacKinnon, C. Miller // J. Gen. Physiol. – 1998. – Vol. 91. – P. 335–349.

Maeda, N. The primary structure of the toxin *Laticauda semifasciata* III, a weak and reversibly acting neurotoxin from the venom of a Sea Snake, *Laticauda semifasciata* / N. Maeda, N. Tamiya // Biochem. J. – 1974. – Vol. 141. – P. 389–400.

Maeda, N. Three Neurotoxins from the venom of sea snake *Astrotia stokesii*, including two long-chain neurotoxic proteins with amidated C-Termini / N. Maeda, N. Tamiya // Biochem. J. – 1978. – Vol. 175. – P. 507–517.

Magalhaes, G.S. Natterins, a new class of proteins with kininogenase activity characterized from *Thalassophryne nattereri* fish venom / G.S. Magalhaes, M. Lopes-Ferreira, I.L.M. Junqueira-de-Azevedo et al. // Biochimie. – 2005. – Vol. 87. – P. 687–699.

Magalhaes, K.W. Biological and biochemical properties of the brazilian potamotrygon stingrays: *Potamotrygon cf. scobina* and *Potamotrygon gr. orbignyi* /

K.W. Magalhaes, C. Lima, A.A. Piran-Soares et al. // *Toxicon*. – 2006. – Vol. 47. – P. 575–583.

Malina, T. Neurotoxicity and hypertension following european adder (*Vipera berus berus*) bites in Hungary: case report and review / T. Malina, L. Kresak, D.A. Warrell // *J. Med.* – 2008. – Vol. 101. – P. 801–806.

Mancheno, J.M. Crystal and electron microscopy structures of sticholysin II actinoporin reveal insights into the mechanism of membrane pore formation / J.M. Mancheno, J. Martin-Benito, M. Martinez-Ripol et al. // *Structure*. – 2003. – Vol. 11. – P. 1319–1328.

Markin, G.P. Biological control of tansy ragwort (*Senecio jacobaeae*, L.) by the cinabar moth, *Tyria jacobaeae* (CL) (Lepidoptera: Arctiidae), in the northern Rocky Mountains / G.P. Markin, J.L. Littlefield / In: *Proceedings of the XII International Symposium on Biological Control of Weeds*. Ed. M.H. Julien, R. Sforza et al. CAB International Wallingford, UK, 2008. – P. 583–588.

Markland, F.S. Snake venoms and the hemostatic system / F.S. Markland // *Toxicon*. – 1998. – Vol. 36. – P. 1749–1800.

Marrouchi, R. Toxic C17-sphinganine analogue mycotoxin, contaminating tunisian mussels, causes flaccid paralysis in rodents / R. Marrouchi, E. Benoit, J.-P. Le Caer et al. // *Mar. Drugs*. – 2013. – Vol. 11. – P. 4724–4740.

McDowell, R.S. Mambin, a potent glycoprotein IIb-IIIa antagonist and platelet aggregation inhibitor structurally related to the short neurotoxins / R.S. McDowell, M.S. Dennis, A. Louie et al. // *Biochem.* – 1992. – Vol. 31. – P. 4766–4772.

Mebs, D. European viper venoms: haemorrhagic and myotoxic activities / D. Mebs, T. Langeluddeke // *Toxicon*. – 1992. – Vol. 30. – P. 1303–1306.

Mebs, D. Tetrodotoxin does not protect red-spotted newts *Notophthalmus viridescens*, from intestinal parasites / D. Mebs, M. Yotsu-Yamashita, H.M. Seitz, O. Arakawa // *Toxicon*. – 2012. – Vol. 60. – P. 66–69.

Meera, P. A neuronal  $\beta$  subunit (KCNMB4) makes the large conductance, voltage- and  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$ -channel resistant to charybdotoxin and iberiotoxin / P. Meera, M. Wallner, L. Toro // *PNAS*. – 2000. – Vol. 97. – P. 5562–5567.

Menezes, T.N. Local inflammatory response induced by scorpionfish *Scorpaena plumieri* venom in mice / T.N. Menezes, J.B.T. Carnielli, H.L. Gomes et al. // *Toxicon*. – 2012. – Vol. 60. – P. 729–741.

Mikhailov, K.G. The spider genus *Clubiona* Latreille, 1804 (Aranei: Clubionidae) in the fauna of the former USSR: 2003 update / K.G. Mikhailov // *Arthropoda Selecta*. – 2002. – Vol. 11. – P. 283–317.

Mochca-Morales, J. Isolation and characterization of Helothermine, a novel toxin from *Heloderma horridum horridum* (Mexican beaded lizard) venom / J. Mochca-Morales, B.M. Martin, L.D. Possani // *Toxicon*. – 1990. – Vol. 28. – P. 299–309.

Monastyrnaya, M. Actinoporins from the sea anemones, tropical *Radianthus macrodactylus* and northern *Oulactis orientalis*: comparative analysis of structure-function relationships / M. Monastyrnaya, E. Leychenko, M. Issaeva et al. // *Toxicon*. – 2010. – Vol. 56. – P. 1299–1314.

Mondo, K. Cyanobacterial neurotoxin  $\beta$ -N-Methylamino-L-alanine (BMAA) in shark fins / K. Mondo, N. Hammerschlag, M. Basile et al. // *Mar. Drugs*. – 2012. – Vol. 10. – P. 509–520.

Montecucco, C. How do presynaptic PLA2 neurotoxins block nerve terminals? / C. Montecucco, O. Rossetto // *TIBS*. – 2000. – Vol. 25. – P. 266–270.

Moore, B.P. Hydrogen cyanide in the defensive secretions of larval paropsini (Coleoptera: Chrysomelidae) / B.P. Moore // J. Aust. Ent. Soc. – 1967. – Vol. 6. – P. 36–38.

Moroz, C. Isolation and characterization of a neurotoxin from *Vipera palestinae* venom / C. Moroz, A. de Vries, M. Sela // Biochim. Biophys. Acta. – 1966. – Vol. 124. – P. 136–146.

Murakami, M.T. Structural basis for metal ion coordination and the catalytic mechanism of sphingomyelinases D / M.T. Murakami, M.F. Fernandes-Pedrosa, D.V. Tambourg et al. // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280. – P. 13658–13664.

Müller, W.E.G. Differential expression of the demosponge (*Suberites domuncula*) carotenoid oxygenases in response to light: protection mechanism against the self-produced toxic protein (suberitine) / W.E.G. Müller, X. Wang, M. Binder et al. // Mar. Drugs. – 2012. – Vol. 10. – P. 177–199.

Nair, M.S.R. Short communications a non-proteinaceous toxin from the venomous spines of the lionfish *Pterois volitans* (Linnaeus) / M.S.R. Nair, P. Cheung, I. Leong et al. // Toxicon. – 1983. – Vol. 21. – P. 523–527.

Neves, J. Conopeptides from Cape Verde *Conus crotchii* / J. Neves, A. Campos, H. Osorio et al. // Mar. Drugs. – 2013. – Vol. 11. – P. 2203–2215.

Newman, D.J. Marine-sourced anti-cancer and cancer pain control agents in clinical and late preclinical development / D.J. Newman, G.M. Cragg // Mar. Drugs. – 2014. – Vol. 12. – P. 255–278.

Nicosia, A. Evidence of accelerated evolution and ectodermal-specific expression of presumptive BDS Toxin cDNAs from *Anemonia viridis* / A. Nicosia, T. Maggio, S. Mazzola et al. // Mar. Drugs. – 2013. – Vol. 11. – P. 4213–4231.

Nieto, F.R. Tetrodotoxin (TTX) as a therapeutic agent for pain / F.R. Nieto, E.J. Cobos, M.A. Tejada et al. // Mar. Drugs. – 2012. – Vol. 10. – P. 281–305.

Nikai, T. Isolation and biochemical characterization of hemorrhagic toxin f from the venom of *Crotalus atrox* (western diamondback rattlesnake) / T. Nikai, N. Mori, M. Kishida et al. // Arch. Biochem. Biophys. – 1984. – Vol. 231. – P. 309–319.

Nirthanan, S. Pharmacological characterization of mikatoxin, an  $\alpha$ -neurotoxin isolated from the venom of the New-Guinean small-eyed snake / S. Nirthanan, R. Gao, P. Gopalakrishnakone et al. // Toxicon. – 2002. – Vol. 40. – P. 863–871.

Nirthanan, S. Three-finger  $\alpha$ -neurotoxins and the nicotinic acetylcholine receptor, forty years on / S. Nirthanan, M.C.E. Gwee // J. Pharmacol. Sci. – 2004. – Vol. 94. – P. 1–17.

Orr, R.J.S. Evolution and distribution of saxitoxin biosynthesis in dinoflagellates / R.J.S. Orr, A. Stiiken, S.A. Murray et al. // Mar. Drugs. – 2013. – Vol. 11. – P. 2814–2828.

Orts, D.J.B. Biochemical and electrophysiological characterization of two sea anemone type 1 potassium toxins from a geographically distant population of *Bunodosoma caissarum* / D.J.B. Orts, S. Peigneur, B. Madio et al. // Mar. Drugs. – 2013. – Vol. 11. – P. 655–679.

Ouanounou, G. Trachynilysin, a neurosecretory protein isolated from stonefish (*Synanceia trachynis*) venom, forms nonselective pores in the membrane of NG108-15 cells / G. Ouanounou, M. Malo, J. Stinnakrel et al. // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – P. 39119–39127.

Paiva, O. Combined venom gland cDNA sequencing and venomomics of the New Guinea small-eyed snake, *Micropechis ikaheka* / O. Paiva, D. Pla, C.E. Wright et al. // J. Proteomics. – 2014. – Vol. 110. – P. 209–229.

Pallaghy, P.K. Solution structure of robustoxin, the lethal neurotoxin from the funnel-web spider *Atrax robustus* / P.K. Pallaghy, D. Alewood, P.F. Alewood et al. // FEBS Letters. – 1997. – Vol. 419. – P. 191–196.

Palviainen, M. Proteomic profiling of dog urine after European adder (*Vipera berus berus*) envenomation by two-dimensional difference gel electrophoresis / M. Palviainen, M. Raekallio, M. Vainionpaa et al. // Toxicon. – 2012. – Vol. 60. – P. 1228–1234.

Park, H.Y. Calotropin: A cardenolide from *Calotropis gigantea* that inhibits Wnt signaling by increasing casein kinase 1a in colon cancer cells / H.Y. Park, K.Toume, M.A. Arai et al. // Eur. J. Biochem. – 2014. – Vol. 15. – P. 872–878.

Patel, R. Actions of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) alkaloids on vertebrate and invertebrate nicotinic acetylcholine receptors / R. Patel // MRes thesis, University of Nottingham, 2012. – 102 p.

Pelin, M. Characterization of palytoxin binding to HaCaT cells using a monoclonal anti-palytoxin antibody / M. Pelin, S. Boscolo, M. Poli et al. // Mar. Drugs. – 2013. – Vol. 11. – P. 584–598.

Perales, J. Molecular structure and mechanism of action of the crotoxin inhibitor from *Crotalus durissus terrificus* serum / J. Perales, C. Villela, G.B. Domont et al. // Eur. J. Biochem. – 1995. – Vol. 227. – P. 19–26.

Perbandt, M. Structure of the heterodimeric neurotoxic complex viperotoxin F (RV-4/RV-7) from the venom of *Vipera russelli formosensis* at 1.9 Å resolution / M. Perbandt, I.-H. Tsai, A. Fuchs et al. // Acta Cryst. – 2003. – Vol. 59D. – P. 1679–1687.

Pettit, G.R. The structure of the steroid toad venom constituent bufotoxin / G.R. Pettit, Y. Kamano // J. Chem. Soc., Chem. Commun. – 1972. – Vol. 2. – P. 45.

Pinto, A.F.M. *Lonomia obliqua* venom: in vivo effects and molecular aspects associated with the hemorrhagic syndrome / A.F.M. Pinto, M. Berger, J. Reck Jr. et al. // Toxicon. – 2010. – Vol. 56. – P. 73103–1112.

Pistocchi, R. Toxin levels and profiles in microalgae from the north-western Adriatic Sea – 15 years of studies on cultured species / R. Pistocchi, F. Guerrini, L. Pezzolesi et al. // Mar. Drugs. – 2012. – Vol. 10. – P. 140–162.

Pomin, V.H. Holothurian fucosylated chondroitin sulfate / V.H. Pomin // Mar. Drugs. – 2014. – Vol. 12. – P. 232–254.

Pung, Y.F. Ohanin, a novel protein from king cobra venom, induces hypolocomotion and hyperalgesia in mice / Y.F. Pung, P.T.H. Wong, P.P. Kumar et al. // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280. – P. 13137–13147.

Pung, Y.F. Ohanin, a novel protein from king cobra venom: Its cDNA and genomic organization / Y.F. Pung, S.V. Kumar, N. Rajagopalan et al. // Gene. – 2006. – Vol. 371. – P. 246–256.

Pyron, R.A. The phylogeny of advanced snakes (Colubroidea), with discovery of a new subfamily and comparison of support methods for likelihood trees / R.A. Pyron, F.T. Burbrink, G.R. Colli et al. // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2011. – Vol. 58. – P. 3731–342.

Qiu, Y. Molecular cloning and antifibrinolytic activity of a serine protease inhibitor from bumblebee (*Bombus terrestris*) venom / Y. Qiu, K.S. Lee, Y.M. Choo et al. // Toxicon. – 2013. – Vol. 63. – P. 1–6.

Quinton, L. Characterization of toxins within crude venoms by combined use of fourier transform mass spectrometry and cloning / L. Quinton, J.-P. Le Caer, G. Phan et al. // Anal. Chem. – 2005. – Vol. 77. – P. 6630–6639.

Ramazanov, A.S. Heterodimeric neurotoxic phospholipases A<sub>2</sub>. The first proteins from venom of recently established species *Vipera nikolskii*: Implication of venom composition in viper systematics / A.S. Ramazanov, L.L. Zavada, V.G. Starkov et al. // *Toxicon*. – 2008. – Vol. 51. – P. 524–537.

Ramazanov, A.S. Cysteine-rich venom proteins from the snakes of Viperinae subfamily – Molecular cloning and phylogenetic relationship / A.S. Ramazanov, V.G. Starkov, A.V. Osipov et al. // *Toxicon*. – 2009. – Vol. 53. – P. 162–168.

Ramirez-Dominguez, M.E. Cn11, the first example of a scorpion toxin that is a true blocker of Na<sup>+</sup> currents in crayfish neurons / M.T. Ramirez-Dominguez, T. Olamendi-Portugal, U. Garcia et al. // *J. Exper. Biol.* – 2002. – Vol. 205. – P. 869–876.

Ranawaka, U.K. Neurotoxicity in snakebite—the limits of our knowledge / U.K. Ranawaka, D.G. Lalloo, H.J. de Silva // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2013. – Vol. 7. – P. 3.

Reguera, B. Dinophysis eoxins: causative organisms, distribution and fate in shellfish / B. Reguera, P. Riobo, F. Rodriguez et al. // *Mar. Drugs*. – 2014. – Vol. 12. – P. 394–461.

Reumont, B.M. The first venomous crustacean revealed by transcriptomics and functional morphology: remipede venom glands express a unique toxin cocktail dominated by enzymes and a neurotoxin / B.M. Reumont, A. Blanke, S. Richter et al. // *Mol. Biol. Evol.* – 2013. – P. 11.

Richards, D.P. Venom lethality and diet: differential responses of natural prey and model organisms to the venom of the saw-scaled vipers (*Echis*) / D.P. Richards, A. Barlow, W. Wuster // *Toxicon*. – 2012. – Vol. 59. – P. 110–116.

Rigoni, M. Snake presynaptic neurotoxins with phospholipase A<sub>2</sub> activity induce punctate swellings of neurites and exocytosis of synaptic vesicles / M. Rigoni, G. Schiavo, A.E. Weston et al. // *J. Cell Sci.* – 2004. – Vol. 117. – P. 3561–3570.

Ringo, A.R. The mast leucocytes in adult guinea pig under experimental conditions / A.R. Ringo // *Amer. J. Anat.* – 1923. – Vol. 31. – P. 319–337.

Robertson, A. Invasive lionfish (*Pterois volitans*): a potential human health threat for ciguatera fish poisoning in tropical waters / A. Robertson, A.C. Garcia, H.A.F. Quintana et al. // *Mar. Drugs*. – 2014. – Vol. 12. – P. 88–97.

Roll, A. Ultrarush immunotherapy in a patient with occupational allergy to bumblebee venom (*Bombus terrestris*) / A. Roll, P. Schmid-Grendelmeier // *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 15. – P. 305–307.

Rosenberg, H.I. Lethal factors and enzymes in the secretion from duvernoy's gland of three colubrid snakes / H.I. Rosenberg, A. Bdolan, E. Kochva // *J. Exp. Zoology*. – 1985. – Vol. 233. – P. 5–14.

Rosing, J. Structural and functional properties of snake venom prothrombin activators / J. Rosing, G. Tans // *Toxicon*. – 1992. – Vol. 30. – P. 1515–1527.

Rossetto, O. Presynaptic enzymatic neurotoxins / O. Rossetto, L. Morbiato, P. Caccin et al. // *J. Neurochem.* – 2006. – Vol. 97. – P. 1534–1545.

Rothschild, M. A study on the mode of action and composition of a toxin from the female abdomen and eggs of *Arctia caja* (L.) (Lep. Arctidae): an electro-physiological, ultrastructural and biochemical analysis / M. Rothschild, H. Keutmann, N.J. Lane, J.J. Parsons et al. // *Toxicon*. – 1979. – Vol. 17. – P. 285–306.

Rothschild, M. Pyrrolizidine alkaloids in arctiid moths (Lep.) with a discussion on host plant relationships and the role of these secondary plant substances in the Arctiidae / M. Rothschild, R.T. Aplin et al. // *Biol. J. Linn. Soc.* – 1979. – Vol. 12. – P. 305–326.

- Sajevic, T. Haemostatically active proteins in snake venoms / T. Sajevic, A. Leonardi, I. Krizaj // *Toxicon*. – 2011. – Vol. 57. – P. 6733–645.
- Samel, M. Medium molecular weight factor X activating enzyme from *Vipera berus berus* venom / M. Samel, J. Siigur // *Toxicon*. – 1995. – Vol. 33. – P. 41–52.
- Sanchez, E.E. Disintegrin, hemorrhagic, and proteolytic activities of Mohave rattlesnake, *Crotalus scutulatus scutulatus* venoms lacking mojave toxin / E.E. Sanchez, J.A. Galan, R.L. Powell et al. // *Comp. Biochem. Physiol. C: Pharmacol. Toxicol.* – 2005. – Vol. 141. – P. 124–132.
- Santarem, M. Formal total synthesis of (+)-gephyrotoxin / M. Santarem, C. Vanucci-Bacque, G. Lhommet // *J. Org. Chem.* – 2008. – Vol. 73. – P. 6466–6469.
- Santos, G.G.L. Antinociceptive properties of *Micrurus lemniscatus* venom / G.G.L. Santos, L.L.C. Silva, M.B.P. Soares et al. // *Toxicon*. – 2012. – Vol. 60. – P. 1005–1012.
- Sauviat, M.-P. Does crude venom of the stonefish (*Synanceia verrucosa*) activate  $\beta$ -adrenoceptors in the frog heart muscle? / M.-P. Sauviat, P. Garnier, F. Goudey-Perriere et al. // *Toxicon*. – 1995. – Vol. 33. – P. 1207–1213.
- Schleifer, K.-J. Comparative molecular modelling study of the calcium channel blockers nifedipine and black mamba toxin FS2 / K.-J. Schleifer // *J. Comput.-Aided Mol. Des.* – 1997. – Vol. 11. – P. 491–501.
- Schmidt, J.J. Molecular properties and structure-function relationships of lethal peptides from venom of wagler's pit viper, *Trimeresurus wagleri* / J.J. Schmidt, S.A. Weinstein, L.A. Smith // *Toxicon*. – 1992. – Vol. 30. – P. 1027–1036.
- Schweitz, H. A New member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*) / H. Schweitz, P. Vigne, D. Moinier et al. // *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267. – P. 13928–13932.
- Schweitz, H. Calcicludine, a venom peptide of the Kunitz-type protease inhibitor family, is a potent blocker of high-threshold  $Ca^{2+}$ -channels with a high affinity for L-type channels in cerebellar granule neurons / H. Schweitz, C. Heurteaux, P. Bois et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1994. – Vol. 91. – P. 878–882.
- Sharma, R. Therapeutic potential of *Calotropis procera*: a giant milkweed / R. Sharma, G.S. Thakur, B.S. Sanodiya et al. // *IOSR J. Pharm. Biol. Sci. (IOSR-JPBS)*. – 2012. – Vol. 4. – P. 42–57.
- Sheumack, D.D. Maculotoxin: A neurotoxin from the venom glands of the octopus *Hapalochlaena maculosa* identified as tetrodotoxin / D.D. Sheumack, M.E.H. Howden // *Science*. – 1978. – Vol. 199. – P. 188–189.
- Shiomi, K. Isolation and structures of grammistins, peptide toxins from the skin secretion of the soapfish *Grammistes sexlineatus* / K. Shiomi, T. Igarashi, H. Yokota et al. // *Toxicon*. – 2000. – Vol. 38. – P. 91–103.
- Shiomi, K. Primary and secondary structures of grammistins, peptide toxins isolated from the skin secretion of the soapfish *Pogonoperca punctata* / K. Shiomi, H. Yokoto, Y. Nagashima, M. Ishida // *Fisheries Science*. – 2001. – Vol. 67. – P. 163–169.
- Silva, M. New gastropod vectors and tetrodotoxin potential expansion in temperate waters of the Atlantic ocean / M. Silva, J. Azevedo, P. Rodriguez et al. // *Mar. Drugs*. – 2012. – Vol. 10. – P. 712–726.
- Simmaco, M. A family of bombinin-related peptides from the skin of *Bombina variegata* // M. Simmaco, D. Barra, F. Chiarini et al. // *Eur. J. Biochem.* – 1991. – Vol. 199. – P. 217–222.

Simpson, L.L. Identification of the site at which phospholipase A<sub>2</sub> neurotoxins localize to produce their neuro muscular blocking effects / L.L. Simpson, G.T. Lautenslager, I.I. Kaiser et al. // *Toxicon*. – 1993. – Vol. 31. – P. 13–26.

Sinclair, A. Thirty-five years of synthetic studies directed towards the histrionicotoxin family of alkaloids / A. Sinclair, R.A. Stockman // *Nat. Prod. Rep.* – 2007. – Vol. 24. – P. 298–326.

Sivan, G. Fish venom: pharmacological features and biological significance / G. Sivan // *Fish and Fisheries*. – 2009. – Vol. 10. – P. 159–172.

Smith, L.A. Cloning and expression of mamba toxins / L.A. Smith, M.A. Olson, P.J. Lafaye et al. // *Toxicon*. – 1995. – Vol. 33. – P. 459–474.

Soares, A.M. Effects of chemical modifications of crotoxin B, the phospholipase A<sub>2</sub> subunit of crotoxin from *Crotalus durissus terrificus* snake venom, on its enzymatic and pharmacological activities / A.M. Soares, A.C. Mancin, A.L. Cecchini et al. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2001. – Vol. 33. – P. 877–888.

Sosa-Rosales, J.I. Important biological activities induced by *Thalassophryne maculosa* fish venom / J.I. Sosa-Rosales, A.A. Piran-Soares, S.H.P. Farsky et al. // *Toxicon*. – 2005. – Vol. 45. – P. 155–161.

Stitiles, B.G. Antibacterial effects of different snake venoms: purification and characterization of antibacterial proteins from *Pseudochis australis* (Australian king brown or mulga snake) venom / B.G. Stitiles, F.W. Sexton, S.A. Weinstetn // *Toxicon*. – 1991. – Vol. 29. – P. 1129–1141.

Stremgaard, K. Analogues of neuroactive polyamine wasp toxins that lack inner basic sites exhibit enhanced antagonism toward a muscle-type mammalian nicotinic acetylcholine receptor / K. Stremgaard, M.J. Brierley, K. Andersen et al. // *J. Med. Chem.* – 1999. – Vol. 42. – P. 5224–5234.

Strong, P.N. Potassium channel toxins / P.N. Strong // *Pharmac. Ther.* – 1990. – Vol. 46. – P. 137–162.

Stroud, M.R. *In vivo* bio-imaging using chlorotoxin-based conjugates / M.R. Stroud, S.J. Hansen, J.M. Olson // *Curr. Pharm. Des.* – 2011. – Vol. 17. – P. 4362–4371.

Sugiyama, N. Further isolation and characterization of grammistins from the skin secretion of the soapfish *Grammistes sexlineatus* / N. Sugiyama, M. Araki, M. Ishida et al. // *Toxicon*. – 2005. – Vol. 45 – P. 595–601.

Takasaki, C. Isolation and amino acid sequence of a short-chain neurotoxin from an Australian elapid snake, *Pseudechis australis* / C. Takasaki, N. Tamiya // *Biochem. J.* – 1985. – Vol. 232. – P. 367–371.

Tamiya, N. The isolation, properties and amino acid sequence of erabutoxin c, a minor neurotoxic component of the venom of a sea snake *Laticauda semifasciata* / N. Tamiya, H. Abe // *J. Biochem.* – 1972. – Vol. 130. – P. 547–555.

Tan, N.-H. A comparative study of the biological properties of venoms from snakes of the genus *Vipera* (true adders) / N.-H. Tan, G. Ponnudurai // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1990. – Vol. 96B. – P. 683–688.

Tan, N.-H. A comparative study of the biological properties of venoms of some Old World Vipers (Subfamily Viperinae) / N.-H. Tan, G. Ponnudurai // *Int. J. Biochem.* – 1992. – Vol. 2. – P. 331–336.

Terrat, Y. Are there unequivocal criteria to label a given protein as a toxin? Permissive versus conservative annotation processes / Y. Terrat, F. Ducancel // *Genome Biology*. – 2013. – Vol. 14. – P. 406–413.

Thomson, D.A. Toxic stress secretions of the boxfish *Ostracion meleagris* Shaw / D.A. Thomson // *Copeia*. – 1969. – Vol. 1969. – P. 335–352.



Toraya, S. Dynamic structure of bombolitin II bound to lipid bilayers as revealed by solid-state NMR and molecular-dynamics simulation / S. Toraya, N. Javkhlantugs, D. Mishima et al. // *Biophys. J.* – 2010. – Vol. 99. – P. 3282–3289.

Tranberg, C.E.  $\omega$ -Conotoxin GVIA mimetics that bind and inhibit neuronal Cav2.2 ion channels / C.E. Tranberg, A. Yang, I. Vetter et al. // *Mar. Drugs.* – 2012. – Vol. 10. – P. 2349–2368.

Tsetlin, V.I. Snake and snail toxins acting on nicotinic acetylcholine receptors: fundamental aspects and medical applications / V.I. Tsetlin, F. Hucho // *FEBS Letters.* – 2004. – Vol. 557. – P. 9–13.

Ueda, A. Purification, properties and cDNA cloning of neoverrucotoxin (neoVTX), a hemolytic lethal factor from the stonefish *Synanceia verrucosa* venom / A. Ueda, M. Suzuki, T. Honma et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – Vol. 1760. – P. 1713–1722.

Utkin, Y.N. Azemiopsin from *Azemiops feae* viper venom, a novel polypeptide ligand of nicotinic acetylcholine receptor / Y.N. Utkin, C. Weise, I.E. Kasheverov et al. // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287. – P. 27079–27086.

Valdiglesias, V. Okadaic acid: more than a diarrheic toxin / V. Valdiglesias, M.V. Prego-Faraldo, E. Pasaro et al. // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 4328–4349.

Vetrano, S.J. Lionfish envenomation / S.J. Vetrano, J.B. Lebowitz, S. Marcus // *J. Emergency Med.* – 2002. – Vol. 23. – P. 379–382.

Vojoen, C.C. Isolation and amino acid sequence of caudoxin, a presynaptic acting toxic phospholipase A<sub>2</sub> from the venom of the horned puff adder (*Bitis caudalis*) / C.C. Vojoen, D.P. Botes, H. Kruger // *Toxicon.* – 1982. – Vol. 20. – P. 715–737.

Vonk, F.J. Evolutionary origin and development of snake fangs / F.J. Vonk, J.F. Admiraal, K. Jackson et al. // *Nature.* – 2008. – Vol. 454. – P. 628–633.

Vulfius, C.A. Phospholipases A<sub>2</sub> isolated from snake venoms block acetylcholine-elicited currents in identified *Lymnaea stagnalis* neurons / C.A. Vulfius, E.V. Gorbacheva, V.G. Starkov et al. // *Biochem. (Moscow). A: Membrane and cell biology.* – 2013. – Vol. 7. – P. 203–206.

Wang, B. Pharmacological studies of tentacle extract from the jellyfish *Cyanea capillata* in isolated rat aorta / B. Wang, B. Zhang, Q. Wang et al. // *Mar. Drugs.* – 2013. – Vol. 11. – P. 3335–3349.

Wang, L.-H. Natural product chemistry of gorgonian corals of the family Plexauridae distributed in the Indo-Pacific Ocean / L.-H. Wang, J.-H. Sheu, S.-Y. Kao et al. // *Mar. Drugs.* – 2012. – Vol. 10. – P. 2415–2434.

Wang, S.-C. Cytotoxicity of calotropin is through caspase activation and downregulation of anti-apoptotic proteins in K562 cells / S.-C. Wang, M.-C. Lu, H.-L. Chen et al. // *Cell Biology International.* – 2009. – Vol. 33. – P. 1230–1236.

Weinstein, S.A. Properties of duvernoy's secretions from opisthoglyphous and aglyphous Colubrid snakes / S.A. Weinstein, K.V. Kardong // *Toxicon.* – 1994. – Vol. 32. – P. 1161–1185.

Wilcox, C.L. False positive tests for ciguatera may derail efforts to control invasive lionfish / C.L. Wilcox, M.A. Hixon // *Environ. Biol. Fish.* – Published online: 26 July 2014. – 9 p. Режим доступа: <http://appliedecology.cals.ncsu.edu/>

Willemse, G.T. Individual variation in snake venom / G.T. Willemse // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1978. – Vol. 61B. – P. 553–557.

- Williams, D. The good, the bad and the ugly: Australian snake taxonomists and a history of the taxonomy of Australia's venomous snakes / D. Williams, W. Wuster, B.G. Fry // *Toxicon*. – 2006. – Vol. 48. – P. 919–930.
- Williams, D.J. Ending the drought: new strategies for improving the flow of affordable, effective antivenoms in Asia and Africa / D.J. Williams, J.-M. Gutierrez, J.J. Calvete et al. // *J. Proteomics*. – 2011. – Vol. 74. – P. 1735–1767.
- Williams, D.L. Sarafotoxin S6c: an agonist which distinguishes between endothelin receptor subtypes / D.L. Williams, Jr., K.L. Jones, D.J. Pettibone et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1991. – Vol. 175. – P. 556–561.
- Wood, S.A. Tetrodotoxin concentrations in *Pleurobranchaea maculata*: temporal, spatial and individual variability from new Zealand populations / S.A. Wood, D.I. Taylor, P. McNabb et al. // *Mar. Drugs*. – 2012. – Vol. 10. – P. 163–176.
- Wright, A.D. A Great Barrier Reef *Simularia* sp. yields two new cytotoxic diterpenes / A.D. Wright, J.L. Nielson, D.M. Tapiolas et al. // *Mar. Drugs*. – 2012. – Vol. 10. – P. 1619–1630.
- Wuster, W. The phylogeny of cobras inferred from mitochondrial DNA sequences: Evolution of venom spitting and the phylogeography of the African spitting cobras (Serpentes: Elapidae: *Naja nigricollis* complex) / W. Wuster, S. Crookes, I. Ineich et al. // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2007. – Vol. 45. – P. 437–453.
- Yamazaki, Y. Structure and function of snake venom cysteine-rich secretory proteins / Y. Yamazaki, T. Morita // *Toxicon*. – 2004. – Vol. 44. – P. 227–231.
- Yotsu-Yamashita, M. The structure of zetekitoxin AB, a saxitoxin analog from the panamanian golden frog *Atelopus zeteki*: a potent sodium-channel blocker / M. Yotsu-Yamashita, Y.H. Kim, S.C. Dudley et al. // *PNAS*. – 2004. – Vol. 101. – P. 4336–4351.
- Zagorski, M.G. Solution structure of pardaxin P-2 / M.G. Zagorski, D.G. Norman, C.J. Barrow et al. // *Biochem.* – 1991. – Vol. 30. – P. 8009–8017.
- Zhang, F. Shellfish toxins targeting voltage-gated sodium channels / F. Zhang, X. Xu, T. Li et al. // *Mar. Drugs*. – 2013. – Vol. 11. – P. 4698–4723.
- Zhao, R. Immunoregulatory peptides from salivary glands of the horsefly, *Tabanus pleskei* / R. Zhao, X. Yu, H. Yu et al. // *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.* – 2009. – Vol. 154. – P. 1–5.

---

## ИНТЕРНЕТ-РЕСУРСЫ

### **ArachnoServer 2.0**

URL: <http://www.arachnoserver.org/>

ArachnoServer 2.0 – информационная база данных об аминокислотной последовательности токсинов пауков, их трехмерной структуре и биологической активности.

### **Animal Toxin Database 2.0 (ATDB2.0)**

URL: <http://protchem.hunnu.edu.cn/toxin/>

Animal Toxin Database 2.0 (ATDB2.0) содержит сведения о строении и структуре ионных каналов и взаимодействующих с ними природных токсинов.

### **Biomolecula**

URL: <http://biomolecula.ru/>

Бiomолекула – научно-популярный сайт, посвященный молекулярным основам современной биологии и практическим применением научных достижений в медицине и биотехнологии.

### **Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB)**

URL: <http://www.rcsb.org/>

RCSB PDB – база данных о 3-D структуре белков, нуклеиновых кислот и молекулярных комплексов. Была перенесена в октябре 1998 года из Protein Data Bank(PDB).

### **Structural Classification of Proteins 2 (SCOP2)**

URL: <http://scop2.mrc-lmb.cam.ac.uk/>

SCOP2 является преемником базы данных по структурной классификации белков (Structural Classification of Proteins, SCOP). Основное внимание в SCOP2 уделено структурной организации, характеризующей белки в соответствии с их структурными и эволюционными взаимоотношениями.

### **Smartox Biotechnology**

URL: <http://www.smartox-biotech.com>

Smartox Biotechnology – база данных пептидных токсинов из животных ядов, взаимодействующих с рецепторами, ионными каналами и другими структурами.

### **UniProt**

URL: <http://www.uniprot.org/>

UniProt представляет собой базу данных последовательностей белков, охватывающую различные аспекты анализа белковых последовательностей.

### **The reptile database**

URL: <http://www.reptile-database.org>

The reptile database – база данных, содержащая каталог всех живых видов рептилий и их классификацию.

**WHO|Snake Antivenom Immunoglobulins**

URL: [http://www.who.int/bloodproducts/snake\\_antivenoms/en/](http://www.who.int/bloodproducts/snake_antivenoms/en/)

WHO|Snake Antivenom Immunoglobulins – база данных антисывороток к яду змей.

**W. Wuster, School of Biological Sciences, Bangor University**

(URL<sup>218</sup> <http://pages.bangor.ac.uk/~bss166/>)

Сайт W. Wuster содержит разнообразную информацию о ядовитых змеях.

---

<sup>218</sup> Единый указатель ресурсов (англ. *Uniform Resource Locator*, URL) – единообразный локатор (определитель местонахождения) ресурса. Ранее назывался *Universal Resource Locator* – универсальный указатель ресурса. URL служит стандартизированным способом записи адреса ресурса в сети Интернет.

---

## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

### А

абломин 533, 593, 609, 622  
агатоксины 148, 150, 214, 221, 222,  
233–235  
адален 346  
азаспировая кислота 50, 51  
аземиопсин 499, 595  
акантофин 543, 552  
акрилилхолин 132  
активно-ядовитые животные 15, 16,  
118, 119, 124, 273, 391, 394–397,  
399, 400, 402, 403  
актинопорины 90, 94, 95, 712, 716  
алитезин 456, 457, 713  
аллелохимические взаимодействия  
14, 144, 704  
алломоны 14, 160, 366, 369, 370, 704  
аминопептидаза 75, 413, 420  
аммодитоксин 576, 583–586, 588–592  
амнестический яд моллюсков 39, 45  
АМРА-рецепторы 46, 47, 291  
амфипорин 106  
анабазеин 106–109, 335  
ангидробонеллин 102  
анемонотоксины 93, 188  
анкрод 25, 577  
антигеморрагические факторы 568,  
611, 612, 676, 707  
антикомплементарные факторы 335,  
497, 532, 683, 687  
антоплеурин 89  
апамин 199, 306, 311–313, 658, 665,  
666, 681, 711  
апитерапия 13, 655, 656, 659, 666–  
668, 681, 713  
апифор 13, 25, 668  
аплизиаатоксин 17, 135  
аплизин 135  
аплизинол 135  
арахноидизм 208, 237, 679  
арвин 25, 577  
аргиопин 14, 215, 216, 249, 711  
аргиопинин 251  
астеросапонин 160–164

атракотоксины 208, 228–230  
аутофармакологические реакции 22,  
23, 390, 565, 566  
ацетилсамандарин 478  
ацилполиамины 212

### Б

баета 623  
банкол 114, 115, 711  
барбатоллизин 297, 330  
батраксобин 575, 577  
батрахотоксин 17, 19, 22, 58, 188,  
189, 351, 447, 459–461, 465, 480,  
643, 645–647, 708  
батропазин 573  
бензальдегид 336, 352, 353, 371, 392,  
393  
бензохиноны 352, 391  
бенсультап 114, 115  
бибротоксин 600  
биогенные амины в ядах  
-- амфибий 452, 453, 481  
-- кишечнополостных 79  
-- моллюсков 138  
-- насекомых 295, 297, 306, 322,  
389, 660  
-- паукообразных 215  
-- рыб 408  
битанарин 584, 588, 595  
бозентан 602  
бомбезин 454, 456, 713  
бомбинин 454, 457, 458  
бомболитин 314, 315  
бонеллин 102  
брадикинин 23, 156, 158, 178,  
298, 299, 359, 420, 454, 455, 481,  
566, 567, 569, 574, 620  
бреветоксин 38, 40, 47, 48, 188, 432  
бузонамин 391  
букандин 508, 516  
 $\alpha$ -бунгаротоксин 107, 108, 123, 462,  
499, 500, 510, 513, 520, 540, 585,  
595

β-бунгаротоксин 499, 500, 516, 518–522, 526, 545, 548, 708  
к-бунгаротоксин 507, 508, 512, 513, 520  
буфодиенолиды 447, 453, 465, 471–474, 476, 477, 609  
буфоталидин 473  
буфоталин 472–474  
буфотенидин 453, 471  
буфотенин 453, 454, 471, 670  
буфотоксин 470, 472, 477

## **В**

ваглерин 499  
ваглерины 581, 582, 595  
вазоактивный интестинальный пептид 620  
ваниллоидный рецептор 91, 92, 712  
васпин 583–585, 588, 591  
веррукотоксин 403, 413, 414  
версустоксин 228, 229  
вспакинины 298  
весприны 532, 543, 556  
веспеулакинины 298, 299  
видарабин 59, 60  
видоспецифические нейротоксины 201, 246, 608, 677, 707  
виперотоксин 586, 587  
виперотоксин F 585, 587  
випоксин 583, 584, 586, 588, 591  
випросал 25  
випротокс 25  
вирапин 25, 668  
вицинальная дисульфидная связь 230  
вторично-ядовитые животные 15, 16, 41, 119, 143, 144, 274, 359, 647, 704

## **Г**

галлюциногены 434, 453  
гамабуфоталин 473, 474  
гамбиертоксин 38, 39, 432  
гемиастерлин 60  
гемокоагулаза 571  
гемостазиология 570, 571  
гефиротоксин 447, 463  
гиалуронидаза 80, 141, 178, 179, 182, 220, 228, 238, 295, 297, 306–308, 331, 376, 378, 381, 407, 411–413,

418, 507, 568, 595, 620, 663, 665, 681

гидрохиноны 353, 354  
гилатоксин 621  
гипподиамин 345  
гироксин 580  
гистаминлибераторы 22, 71, 75, 79, 300, 311, 327, 331  
гистрионикотоксин 447, 462, 463, 465  
гломерин 391, 392  
глутаматные рецепторы 14, 39, 220, 221, 233, 234, 249, 251, 253, 254, 287–291  
голостан 167  
голотоксины 168  
голотурины 167–169  
гомарин 102  
гомогломерин 391, 392  
гониаутоксин 38, 39  
гопlostатин 439  
грамматоксины 226  
граммистины 436, 437, 439  
гуанидиновая группировка 44, 215, 427, 428, 466

## **Д**

дабоятоксин 585–587  
ДВС-синдром 542, 566, 571, 575  
двухголовые сфинголипиды 62, 63  
дебромаплизин 135  
дезацетилскаларадиал 58  
дендролазин 335, 336  
дендротоксин 499, 524, 526, 673, 708  
дерморфин 454, 458, 480  
дермотоксины 238  
дефибраза 25, 572, 577  
диамфотоксин 350, 351  
диарейное отравление 39, 40, 48  
диарейный яд моллюсков 39, 48–50  
диногунеллин 435  
динофизистоксины 38–40, 48–50  
дискодермолид 61  
дистоластерозиды 163, 164  
домоевая кислота 38, 39, 45, 46, 143  
дракотоксин 403, 408, 409

## **Ж**

железа Дювернуа 491, 598, 609

### **З**

заднебороздчатые змеи 490, 493, 606, 609  
зиконотид 130, 131

### **И**

ибериотоксин 195–198  
ингибитор серновых протеаз типа Кунитца 150, 519, 520, 525, 556  
инкапаситанты 470  
инсектотоксины 25, 178, 180–182, 184, 188, 190, 200, 217, 229, 230, 238, 239, 245, 246, 262, 272, 710  
интегрин 95, 527, 581  
ирдитоксин 512  
иридомирмецин 335, 336  
ихтиоаллиэйнотоксизм 434  
ихтиокринотоксины 435, 436, 438  
ихтиотоксины 40, 57, 416, 434  
ихтиохемотоксины 439

### **Й**

йессотоксин 40, 48–50

### **К**

$\alpha$ -кобратоксин 508, 512–514, 540  
кайин 360, 362, 363, 371  
калатоксин 368  
калатропагенин 368  
калатропин 368–370  
калиевые каналы 14, 125, 182, 192, 194–198, 214, 219–221, 226, 227, 229, 265, 465, 466, 499, 519, 533, 622, 629, 713  
каликсозид 62, 63  
калиотоксин 196–199  
калликреин 90, 265, 359, 416, 420, 574, 621, 629, 630  
кальцисептин 499, 525, 526  
кандицин 134  
кандоксин 499, 507, 508, 510, 516  
каннитоксин 549  
кантаридин 340, 341, 342  
карденолиды 351, 367–370, 471, 474, 476  
кардиопеп 313, 661

кардиотоксины 500, 506, 524, 528, 530, 631, 708  
картап (падан) 114, 115  
каталаза 354  
каудоксин 583, 586  
кинины 290, 298–300, 334, 359, 705  
кислоточувствительные каналы 227  
клубеотоксизм 439  
книдобласты 66, 68, 69  
кокцинеллин 345, 346  
конвергин 345  
конгестин 87  
конопептиды 124–126  
конотоксины 123–130, 144, 188, 235, 296, 712, 716  
контулактин G 125  
красный прилив 30–36, 38, 40, 41, 47, 48, 709  
кротамин 580  
кротапотин 578  
кротоксин 500, 548, 577–581, 612, 688  
крустацеантоксин 178, 180, 189, 190  
ксенобиотики 19, 22, 704, 705  
куботоксин 439  
кукумариозид G<sub>1</sub> 168  
кукумариозид C 168–170

### **Л**

$\alpha$ -латротоксин 208, 212, 223, 245, 246, 248, 714  
латродектизм 208, 242  
латродектическое лицо 243  
латроинсектотоксины 245, 246  
латрокрустотоксин 245, 246  
лептинотарзин 348, 362  
лептодактилин 453  
леуцетамол 62–64  
ликотоксины 217, 257  
локсосцелизм 208, 209, 237  
лофотоксин 85, 86  
люцибуфагин 477

### **М**

MCD-пептид 300, 306, 311, 327  
майтотоксин 38–40  
макулотоксин 141–144, 428, 439  
мамбин 527, 528

мандаротоксин 300–302  
манделонитрил 352, 371, 392, 393  
маргатокин 196, 197  
маринобуфагин 473  
мастопаран 300, 315  
мелиттин 308–310, 315, 660, 680, 681  
мембрано-активные полипептиды  
202, 438, 528  
металлопротеиназы 200, 543, 554,  
556, 569, 571–574, 608, 612  
механорецепторы 69, 222  
микатоксин 555, 556  
миррин 345  
млекотоксины 178, 180, 181, 183,  
184, 188, 229  
монокроталин 363  
морская крапива 80  
мохавестатин 581  
мохаветоксин 580, 581  
мулготоксин 553  
мурексин 132

## Н

налоксон 505, 699  
нанизани 351, 647  
натрийуретический пептид 528, 549,  
629, 638  
натрин 533, 622  
наттектин 403, 420  
наттерин 420  
нейротоксины 13–17, 19, 21–23, 25,  
38, 45, 88–90, 93, 98, 99, 102, 106,  
111, 124, 127, 139, 146, 148, 179,  
180, 183–192, 195, 196, 201, 202,  
208, 212, 214–216, 218–221, 223,  
226, 229, 245, 252, 258, 259, 272,  
295, 300–303, 311, 335, 425–427,  
429, 439, 462, 465, 468, 499, 500,  
505, 507–520, 526, 538, 540–543,  
545, 548, 549, 551–557, 577, 582–  
585, 588, 590, 595, 606, 608, 631,  
679, 707, 708, 711, 714, 716  
нейротоксический яд моллюсков 47  
нейротрофины 163  
нематоцисты 68, 69, 73, 75, 77, 78,  
80, 82–84, 91, 104, 149, 706  
нематоциты 66, 68, 69  
немертиллен 108  
неосакситоксин 38, 39, 188

нереистоксин 113–115  
ноксиустоксин 192, 195–197  
нотексин 271, 500, 516, 545, 546, 548,  
550, 708  
ноттины 212, 218, 261, 262  
ноцитоксин 403, 418

## О

окадаевая кислота 38–40  
опиоидные пептиды 452, 454, 458,  
660  
ориентотоксин 295, 296, 302, 303,  
716  
орпотрин 407  
офанин 533, 534, 622  
оханин 532, 533  
ошенпайзид 62, 63

## П

падан (картап) 114, 115  
паклитаксель 60, 61  
палитоатоксин 96  
палитоксин 19, 39, 96–98, 143, 219,  
432, 439, 716  
паралитический яд моллюсков 35,  
37–40, 44  
пардаксин 437, 438  
пассивно-ядовитые животные 15, 16,  
64, 118, 119, 131, 132, 274, 396,  
397, 399, 424, 425, 439, 704, 707  
пахутоксин 436  
педерин 340–342  
пектенотоксины 40, 48–50  
пеламистоксин 541  
первично-ядовитые животные 15, 16,  
274, 359, 704  
переднебороздчатые змеи 490, 493  
пероксидаза 354  
пиразины 345, 346  
пневматофор 73  
полистескинин 298, 299  
полистин 297  
понератоксин 334, 335  
приалт 130  
прокамин 306, 313, 661  
протеиназы 90, 93, 148, 271, 380,  
413, 556, 567, 574, 596, 606  
протоксины 222, 226, 661



прямой литический фактор 181, 240, 531  
псалмотоксин 222, 227  
псевдехетоксин 533, 622  
псевдонаятоксин-b 551, 556  
псевдоптерозины 86  
псилоцин 453  
пумилиотоксины 447, 463–465

## Р

ранакинины 454  
регуларозид А 164  
резibuфогенин 473, 474  
репелленты 341, 346, 392, 704, 707  
рептилаза 25, 577  
рианодиновый рецептор 622  
ризостомин 83  
ризохалин 62, 63  
риптицин 438  
робустоксин 222, 228, 229

## С

сакситоксин 19, 22, 36, 38–45, 111, 134, 143, 188, 428, 429, 467, 468, 696  
самандаридин 478  
самандарон 478, 479  
сарафотоксин 600, 601  
секапин 306, 313, 661  
сенециолилхолин 132  
сенецифиллин 363  
сериновые протеазы 148, 150, 314, 316, 549, 556, 569, 573, 574, 596, 621  
сигуатера 15, 35, 39, 40, 48, 134, 430–433, 438, 439, 444, 709  
сигуатоксины 38–40, 188, 430–433  
синильная кислота 352, 353, 359, 371, 391–393  
скаритоксин 433  
скутуестатин 581  
слабый токсин 515  
соленопсин А 326, 327  
спонгистатин 61, 62  
спонготимидин 58  
стипвен 25, 577  
стихопозиды 168  
стонустоксин 403, 412–414

суберитин 57  
суругатоксин 133, 707  
сфингомиелиназа D 208, 220, 238–241

## Т

таикатоксин 549  
тайпоксин 19, 499, 500, 516, 543, 546–549  
талласин 87  
тарихатоксин 428, 429  
тахикинины 452, 454, 455, 481  
теалиатоксин 89  
текстилитоксин 516  
телоцинобуфагин 473  
темпорины 457  
терморепцепторы 222, 560  
тертиапин 306, 313, 314  
тетродотоксин 17, 19, 22, 45, 48, 58, 133, 142, 143, 188, 189, 191, 425–427, 444, 447, 466, 468, 479, 696, 707, 708  
тигрин 609, 622  
тиосультап 114, 115  
тиоциклам 114, 115  
тирофибан 571  
титиустоксин 181  
токсин-РС 403, 422  
торнастерозид А 164  
трахинилизин 403, 412  
трахинин 403  
трехпетельные  $\alpha$ -нейротоксины 506, 508, 510, 511, 523, 528, 582, 593–595  
тригонеллин 102  
трифлин 533, 534, 593, 609, 622  
тромбоцитин 574, 577  
ТТХ-резистентные  $\text{Na}^+$ -каналы 191, 214, 430  
ТТХ-чувствительные  $\text{Na}^+$ -каналы 191, 214, 430

## У

узарегинин 368  
уперолеин 454, 455  
уроканилхолин 132  
урхитоксины 156, 157

## Ф

фактор роста нервов 497, 532, 696  
фасцикулины 499, 524–526  
ферменты ядов  
-- змей 497, 568  
-- кишечнорастворимых 75, 80  
-- насекомых 295, 307  
-- паукообразных 179, 219  
феромоны 322, 332, 335, 364, 378, 704  
физалемин 139, 454–456  
филанготоксины 287–291  
филлокинин 454  
филломедузин 454  
фосфолипаза А<sub>2</sub> 90, 181, 182, 208, 220, 264, 295–297, 306–308, 314, 331, 407, 413, 415, 418, 420, 473, 497–499, 507, 516, 517, 519, 520, 530, 531, 541–543, 545–549, 551, 552, 554–556, 568, 569, 576–580, 582–586, 588, 590, 591, 595, 606, 608, 611, 620, 628–631, 660, 663, 680–682, 686, 687  
фринолизин 453, 557

## Х

хадитоксин 512  
халитоксин 58, 59  
халихондрины 60  
ханатоксины 222, 226, 227  
хапалотоксин 143  
харибдотоксин 195–198  
хелвеприны 606, 609, 622  
хелодерматин 621  
хелодермин 623  
хелоспектины 623  
хелотермин 609, 621, 622  
хитиназы 148, 149  
хлоротоксин 199–201, 710  
хувентотоксины 226

## Ц

цекропин 308, 438  
церулеин 454, 456  
цетекитоксины 467, 468  
цефалотоксины 139  
циклонеосамандарон 478  
ципринидин 434  
цистиновый узел 212, 213, 218, 230, 235

цитарбин 59, 60  
цитолитики 212, 412  
цитотоксины 17, 57, 58, 88–90, 94, 102, 106, 110, 111, 182, 202, 371, 500, 505, 506, 524, 528–531, 631, 711

## Ч

чирикитоксин 465, 466

## Э

эквинатоксин 95  
эксайтотоксичность 46  
эксенатид 623  
эксендины 623  
эледозин 139, 140, 456  
энгидротоксины 541  
эндотелин-1 601  
эпибатидин 447, 468–470  
эпидоксистирол 159  
эпилахнен 345  
эптатетрин 442  
эптифибатид 571  
эрабутоксины 510, 538–541, 594  
эрибулин мезилат 60, 61

## Я

Ядовитый аппарат  
-- амфибий 451  
-- бабочек 355  
-- варанов 627  
-- жуков 352  
-- змей 487  
-- иглокожих 155  
-- кишечнорастворимых 67  
-- клещей 269  
-- моллюсков 120  
-- многоножек 386  
-- немертин 104  
-- пауков 205  
-- перепончатокрылых 280, 304  
-- полихет 112  
-- ремипедий 146  
-- рыб 400  
-- скорпионов 176  
-- утконосов 637  
-- чешуекрылых 355  
-- ядозубов 618

---

УКАЗАТЕЛЬ ЛАТИНСКИХ НАЗВАНИЙ

**A**

*Abramis brama* 434  
*Acanthophis antarcticus* 502, 504,  
509, 543, 551, 552  
*Acanthophis praelongus* 551, 552  
*Acanthophis pyrrhus* 551  
*Achatina fulica* 136  
*Actinia equine* 87  
*Actinopyga Agassiz* 167  
*Agelena orientalis* 150, 233, 235  
*Agelenopsis aperta* 214, 216, 220–  
223, 233  
*Agkistrodon blomhoffi* 533, 609  
*Agkistrodon piscivorus* 487, 494,  
532, 560  
*Aipysurus laevis* 538  
*Alatina mordens* 79  
*Alatina moseri* 79  
*Alexandrium catenella* 39, 727  
*Alexandrium minutum* 39  
*Alexandrium tamarensis* 41  
*Allagelena opulenta* 219  
*Alytes obstetricans* 456  
*Amblyomma hebraeum* 271  
*Amphiporus lactifloreus* 106  
*Ampulex compressa* 316–320, 724  
*Anadara maculosa* 37  
*Androctonus crassicauda* 175  
*Andrena hattorfiana* 305  
*Androctonus aeneas aeneas* 179  
*Androctonus australis* 178, 183,  
190, 677, 679, 727  
*Androctonus mauretanicus* 197,  
720  
*Androctonus melanophysa* 176  
*Anguilla vulgaris* 439  
*Anisodoris nobilis* 135  
*Anthopleura xanthogrammica* 88,  
90  
*Apheloria corrugata* 392, 393  
*Aphenogaster fulva* 335  
*Apis mellifera* 275, 276, 297, 304,  
310, 313, 680, 682  
*Aplysia californica* 123, 127, 134  
*Apostichopus japonicus* 153  
*Araneus gemma* 215

*Araneus ventricosus* 221  
*Arctia caja* 360–362, 732  
*Argiope lobata* 215, 223, 711, 723  
*Arhynchonemertes axi* 104  
*Arius maculatus* 422  
*Arothron stellatus* 425  
*Ascaris longissima* 102  
*Asclepias curassavica* 368, 369  
*Asterias amurensis* 153, 161, 162  
*Asterias rubens* 160  
*Atelopus chiriquensis* 465  
*Atelopus zeteki* 467, 468, 736  
*Atergatis floridis* 41  
*Atractaspis irregularis* 599  
*Atractaspis microlepidota* 599  
*Atractaspis engaddensis* 599  
*Atrax robustus* 204, 206, 220, 222,  
223, 228, 229, 730  
*Atta sexdens* 335  
*Austrelaps superbus* 542  
*Azemiops feae* 490, 499, 558, 564,  
595, 735

**B**

*Babylonia japonica* 132, 428  
*Bagheera kiplingi* 204  
*Barbus sp.* 434  
*Bitis arietans* 494, 562, 584, 595  
*Bitis caudalis* 562, 583, 590, 735  
*Bitis gabonica* 489, 558, 562, 575  
*Bitis schneideri* 562  
*Blarina carolinensis* 642  
*Blatta orientalis* 223  
*Boiga irregularis* 512, 608  
*Boiga trigonatum* 603, 604  
*Bombina bombina* 450, 451, 456  
*Bombina variegata* 450, 451, 456,  
733  
*Bombus armeniacus* 27  
*Bombus distinguendus* 305  
*Bombus fragrans* 27  
*Bombus mastrucatus* 27  
*Bombus morrisoni* 316, 725  
*Bombus proteus* 27  
*Bombus terrestris* 277, 316, 731, 732  
*Bombus unicus* 27

*Bonellia* sp. 102  
*Boophilus decoloratus* 271  
*Bothrops asper* 612, 691, 693  
*Bothrops atrox* 494, 574, 577  
*Bothrops jararaca* 558, 573, 611, 672  
*Bracon* (*Glabrobracon*) *anthracinis* 282  
*Bracon* (*Rostobracon*) *urinator* 282  
*Bufo* b. *gargarizans* 473, 474  
*Bufo bufo* 448, 449, 473, 684  
*Bufo calamita* 26  
*Bufo marinus* 453, 470, 473  
*Bufo verrucosissimus* 26  
*Bungarus caeruleus* 494, 693  
*Bungarus candidus* 499, 508, 510, 516  
*Bungarus multicinctus* 107, 500, 508–510, 513, 516, 519, 520, 594  
*Buthacus arenicola* 180  
*Buthacus leptochelis* 180  
*Buthus eupeus* 175, 183–186, 199, 200, 651, 692, 711, 723  
*Buthus occitanus paris* 180  
*Buthus tumulus* 197  
*Buzonium crassipes* 391

## C

*Cacospongia scalaris* 58  
*Cadina flavomaculata* 135  
*Calindoea trifascialis* 370, 371, 721  
*Calotropis gigantea* 368, 369, 731  
*Cambarellus montezumae* 189  
*Candida glabrata* 63  
*Caranx sexfasciatus* 431  
*Carcinoscorpius rotundicauda* 41  
*Carukia barnesi* 79  
*Carukia shinju* 79  
*Causus bilineatus* 565  
*Causus defilippii* 565, 596  
*Causus resimus* 565  
*Causus rhombeatus* 558, 565, 596  
*Causus maculatus* 565, 596  
*Centruroides noxius* 189, 190, 195, 197, 678, 679  
*Centruroides sculpturatus* 190, 191  
*Centruroides suffusus* 178, 190  
*Cerastes boehmei* 563

*Cerastes cerastes* 563  
*Cerastes gasperettii* 563  
*Cerastes vipera* 563  
*Cerebratulus lacteus* 110, 111  
*Certallum ebulinum* 340, 341  
*Charonia saulinae* 428  
*Cheiracanthium inclusum* 260  
*Cheiracanthium japonicum* 260, 262  
*Cheiracanthium punctorium* 206, 260, 261  
*Chilobrachys jingzhao* 212–214  
*Chironex fleckeri* 76–79, 677  
*Chiropsalmus quadrigatus* 79, 677  
*Choresine pulchra* 351, 352  
*Choresine rugiceps* 351  
*Chrysaora quinquecirrha* 80, 677  
*Cittarium (Livona) pica* 430  
*Clicera convoluta* 116  
*Clostridium histolyticum* 116  
*Clubiona* sp. 262  
*Clupanodon thrissa* 425, 439  
*Coluber ravergieri* 602, 604, 606  
*Condylactis gigantea* 90  
*Conger conger* 437  
*Conus achatinus* 123  
*Conus arenatus* 123  
*Conus californicus* 123  
*Conus eburneus* 123  
*Conus geographus* 119, 122, 123  
*Conus gloriamaris* 119  
*Conus magus* 123, 125, 130  
*Conus striatus* 122, 123  
*Corallium inutile* 96  
*Crassostrea echinata* 37  
*Crassostrea gigas* 37  
*Cribrinopsis similis* 95  
*Crotalus adamanteus* 487, 494  
*Crotalus atrox* 494, 561, 573, 730  
*Crotalus durissus* 561, 690, 691, 693, 734  
*Crotalus durissus terrificus* 500, 577, 612, 688, 731  
*Crotalus polystictus* 560  
*Crotalus scutulatus* 494, 580, 733  
*Cryptotethia crypta* 58  
*Cucumaria fraudatrix* 169  
*Cucumaria japonica* 153  
*Cupiennius salei* 214, 217, 223

*Cyanea capillata* 80–82, 735  
*Cycloporus popillosus* 102  
*Cyprinus carpio* 434

## **D**

*Daboia russelli* 584–586, 590, 693  
*Daboia russelli siamensis* 584, 585, 723  
*Danaus chrisippus* 366, 367  
*Dasyatis aspera* 398  
*Dendroaspis angusticeps* 494, 522–524, 733  
*Dendroaspis jamesoni* 509, 527, 528  
*Dendroaspis polylepis* 502, 509, 522–524  
*Dendroaspis viridis* 509, 523  
*Dendrobates histrionicus* 449, 460, 463, 720  
*Dendrobates pumilio* 452, 463  
*Dendrobates auratus* 464  
*Dendrolimus sibiricus* 358  
*Diademichthys lineatus* 439  
*Diamphidia nigro-ornata* 347, 349–351  
*Diamphidia locusta* 347, 348  
*Didelphis marsupialis* 612  
*Discodermia disollata* 61  
*Dispholidus typus* 604–607, 610, 725  
*Distolasterias nipon* 163, 164  
*Doriopsilla albopunctata* 135

## **E**

*Echinothrix calamaris* 158  
*Echis carinatus* 487, 494, 563, 571, 577, 590, 611, 688, 691, 693  
*Echis carinatus multisquamatus* 563  
*Efferia albibarbis* 373  
*Eledone cirrhosa* 139, 141  
*Eliomys nitela* 612  
*Engraulis japonicus* 424  
*Enhydrina schistosa* 494  
*Ephestia kuehniella* 284  
*Epiactis prolifera* 90  
*Epilachna varivestis* 343, 345  
*Epilachna chrysomelina* 339, 344

*Epilachna paenulata* 343  
*Epipedobates tricolor* 468, 722  
*Eptatretus stoutii* 442  
*Eresus kollari* 262, 263  
*Eresus niger* 205, 220, 264  
*Erinaceus europeus* 612  
*Eriophora transmarina* 220  
*Eupentacta fraudatrix* 170  
*Euproctis subflava* 359  
*Euryurus leaehii* 392  
*Euscorpius tauricus* 175

## **F**

*Formica obscuripes* 391  
*Fotrochota birotulata* 57  
*Fuga vermiculare* 424

## **G**

*Gambierdiscus toxicus* 39, 40, 432, 433  
*Gastrophysa polygoni* 340  
*Gibbula umbilicalis* 428  
*Glabrilutanus nematophorus* 430, 433  
*Glomeris marginata* 391, 392  
*Gobiodon sp.* 428, 439  
*Gonionemus vertens* 69–71, 677  
*Goniopora sp.* 98  
*Gonyaulax catenella* 34, 36, 41  
*Gonyaulax tamarensis* 34  
*Gorgonocephalus arcticus* 152  
*Grammistes sexlineatus* 424, 436, 733, 734  
*Grammostola rosea* 215, 217, 221, 222, 226  
*Grammostola spatulata* 226  
*Gymnodinium breve* 34, 35  
*Gymnodinium catenatum* 39

## **H**

*Hadogenes troglodytes* 175  
*Hadronyche formidabilis* 230  
*Hadronyche infensa* 230  
*Hadronyche versuta* 228–230  
*Haichondria okadai* 60  
*Haliclona erina* 57  
*Halictus sexcintus* 305

*Hapalochlaena maculosa* 138, 141, 428, 708, 733  
*Haplopelma hainanum* 219  
*Haplopelma huwena* 225  
*Haplopelma schmidti* 222, 225  
*Harmonia axyridis* 344–346, 731  
*Heloderma horridum* 616–619, 621, 623, 630, 729  
*Heloderma suspectum* 616–619, 621, 623, 630  
*Hemachatus haemachatus* 503, 504, 533  
*Herpestes ichneumon* 612  
*Heteractis crispa* 92–94, 712, 713, 716, 722  
*Heterometrus fulvipes* 182  
*Heteropoda venatoria* 219, 222  
*Himantura gerradi* 406  
*Hippodamia convergens* 345  
*Holothuria vagabunda* 167  
*Holotrichius innesi* 380  
*Hoplosthetus atlanticus* 439  
*Hybomitra bimaculata* 374  
*Hydrophis belcheri* 538  
*Hydrophis elegans* 538  
*Hydrophis ornatus* 538  
*Hydrophis semperi* 536  
*Hydrophis cyanocinctus* 538  
*Hyla coerulea* 456

## **I**

*Ifrita kowaldi* 351, 460, 643, 644, 721  
*Ilybius fenestratus* 353  
*Ixodes ricinus* 267–269

## **K**

*Karenia brevis* 34, 47, 717  
*Katsuwonus pelamis* 424  
*Kyphosus vaigiensis* 434

## **L**

*Lachesis muta* 494, 561  
*Lampetra fluviatilis* 442  
*Lapemis hardwickii* 538  
*Laticauda colubrina* 509, 510  
*Laticauda laticauda* 487, 509  
*Laticauda semifasciata* 509, 510, 533, 538–541, 594, 609, 728, 734

*Latrodectus hesperus* 223, 242  
*Latrodectus bishopi* 242  
*Latrodectus geometricus* 242  
*Latrodectus mactans tredecimguttatus* 205, 220, 242, 245, 692  
*Lebistina subcrucata* 350  
*Leimadophis epinephelus* 450  
*Leiurus quinquestriatus* 178, 179, 183, 185, 195, 197, 199, 200  
*Leiurus quinquestriatus hebraeus* 190, 195  
*Lepisosteus spatula* 435  
*Leptinotarsa decemlineata* 114, 339, 347, 351, 362, 683  
*Lethocerus cordofanus* 378  
*Lethocerus delpontei* 380  
*Lethrinus miniatus* 424  
*Lineus longissimus* 102  
*Locusta migratoria* 282, 373  
*Lonomia obliqua* 364, 365, 692, 728, 731  
*Lopha cristagalli* 37  
*Lophogorgia alba* 85  
*Loxosceles aphrasta* 236  
*Loxosceles arizonica* 204  
*Loxosceles laeta* 236, 238, 239, 679, 680  
*Loxosceles reclusa* 220, 240, 680, 691  
*Loxosceles rufescens* 236  
*Lumbriconereis heteropoda* 113  
*Lutianus bohar* 424, 430  
*Lycosa erythrognatha* 259  
*Lycosa singoriensis* 204, 205, 217, 254, 255, 257, 258, 260, 727  
*Lycosa tarantula* 254, 255  
*Lymantria dispar* 359  
*Lytta menetriesi* 339

## **M**

*Macrovipera lebetina* 487, 563, 688  
*Macrovipera lebetina turanica* 576  
*Malo kingi* 79  
*Marthasterias glacialis* 162  
*Mastophora gasteracanthoides* 249  
*Megachile sericans* 305  
*Megalopyge opercularis* 357, 358, 360, 721  
*Megascolia flavirons* 299, 334

*Mertensilla caucasica* 26  
*Metridium senile* 89, 90, 95  
*Microbracon hebetor* 283  
*Micropechis ikaheka* 554–556, 730  
*Micruroides euryxanthus* 502  
*Micrurus fulvius* 494  
*Millepora dichotoma* 72  
*Millepora platyphylla* 72  
*Millepora tener* 73  
*Modiolus auriculatus* 37  
*Modiolus modiolus* 37  
*Monodonta lineata* 428  
*Mugil cephalus* 434  
*Mulloidicht hyssamoensis* 434  
*Muraena helena* 424  
*Murex brandaris* 132  
*Musca domestica* 246, 282, 347  
*Mya arenaria* 37  
*Mylabris calida* 339  
*Myrmecia pilosula* 322  
*Myrmecia pyriformis* 275  
*Myrmeleon formicarius* 383  
*Mytilus californianus* 37, 41  
*Mytilus edulis* 37, 50  
*Mytilus galloprovincialis* 37  
*Myxine glutinosa* 442

## N

*Naja n. atra* 500, 533, 622  
*Naja haje* 487, 509, 533  
*Naja kaouthia* 510, 512, 533, 556, 584, 594  
*Naja mossambica mossambica* 509, 511, 533  
*Naja naja* 494, 503, 509, 602, 676, 693  
*Naja nigricollis* 506, 511, 529, 736  
*Naja oxiana* 19, 500, 508, 509, 513, 520, 711  
*Naja siamensis* 503, 507, 508, 513, 594  
*Naja sputatrix* 503, 509  
*Nebo hierochonticus* 182  
*Neomyxus chaptalli* 434  
*Neotoma micropus* 612  
*Nepa cinerea* 381  
*Nephila clavata* 215, 221, 223, 253  
*Nephila jurassica* 251

*Nephila maculate* 221  
*Nephila pilipes* 252  
*Neptunea arthritica* 124  
*Nitzschia navis-varingica* 45  
*Noctiluca scintillan* 35  
*Notechis ater ater* 545  
*Notechis ater humphreysi* 545  
*Notechis ater niger* 545  
*Notechis ater serventyi* 545  
*Notechis scutatus* 494, 500, 509, 516, 542, 543, 546, 693, 717  
*Notechis scutatus occidentalis* 544  
*Nothestes robusta* 403, 417, 418  
*Notonecta glauca* 382  
*Nygma chrysorrhoea* 356  
*Nylanderia fulva* 328

## O

*Oceanapia incrustata* 62, 63  
*Oceanapia philipensis* 62  
*Octopus vulgaris* 137, 139  
*Ommatoiulus rutilans* 388  
*Onomeris sinuata* 391  
*Ophiophagus hannah* 494, 502, 503  
*Opilioacariformes* 232  
*Opsanus tau* 419  
*Oregonia gracilis* 56  
*Ornithoctonus huwena* 225  
*Ornithorhynchus anatinus* 634, 635, 637, 640  
*Orthochirus scrobiculosus* 198, 692, 714  
*Orthomorpha coarctata* 392  
*Oryctes nasicornis* 299  
*Ostrea edulis* 37  
*Ostrinia nubialis* 282, 347  
*Oulactis orientalis* 95, 712, 729  
*Oxynoe panamensis* 136  
*Oxyuranus microlepidotus* 546, 547, 718  
*Oxyuranus scutellatus* 493, 499, 500, 502, 516, 546, 547, 549  
*Oxyuranus temporalis* 546

## P

*Pagellus erythrinus* 425  
*Palamneus gravimanus* 178, 182, 678

- Palpares libelluloides* 384  
*Palythoa toxica* 96  
*Palythoa tuberculosa* 96, 98  
*Pandinus exitialis* 182  
*Paracoelotes luctuosus* 219  
*Paraponera clavata* 275, 294, 296, 322, 331, 332  
*Parasa consocia* 356, 359  
*Paravespula vulgaris* 298  
*Parazoanthus axinellae* 96  
*Pardachirus marmoratus* 437  
*Paropsis atomaria* 353  
*Parupeneus chryserydros* 425  
*Patiria pectinifera* 163, 164  
*Pelagia noctiluca* 80, 82, 83  
*Pelobates syriacus* 26  
*Pelodytes caucasicus* 26  
*Perca fluviatilis* 434  
*Peridiniopsis polonicum* 38  
*Periechinus deserti* 612  
*Periplaneta americana* 238, 240, 246, 317, 318, 320, 347, 380  
*Petromyzon mariae* 27  
*Petromyzon marinus* 27  
*Petromyzon wagneri* 27  
*Phidippus johnsonii* 223  
*Philanthus triangulum* 277, 285  
*Philodryas olfersii* 606, 608  
*Philonicus dorsiger* 373  
*Phoneutria bahiensis* 264  
*Phoneutria boliviensis* 264  
*Phoneutria nigriventer* 220–222, 258, 264–267  
*Phrixotrichus spatulata* 226  
*Phyllidia varicosa* 136  
*Phyllobates aurotaenia* 459, 460  
*Phyllobates terribilis* 449  
*Phyllomedusa bicolor* 449  
*Phyllomedusa rohdei* 456  
*Phyllomedusa sauvagei* 458  
*Physalaemus fuscomaculatus* 139, 455  
*Physalaemus slau* 456  
*Physalia physalis* 69, 73–75  
*Pinctada maxima* 37  
*Pitohui cristatus* 644  
*Pitohui dichrous* 351, 460, 644, 646  
*Pitohui ferrugineus* 644, 646  
*Pitohui incertus* 644  
*Pitohui kirhocephalus* 351, 460, 644, 646  
*Pitohui nigrescens* 644  
*Platymeris rhadamantus* 380, 381  
*Platypodia granulosa* 41  
*Pleurobranchaea maculata* 428, 736  
*Pleuronectes platessa* 162  
*Plotosus canius* 403, 718  
*Plotosus lineatus* 421, 422  
*Poecilotheria fasciata* 224, 225  
*Pogonomyrmex barbatus* 275, 297, 329, 330  
*Pogonoperca punctata* 436, 733  
*Polistes comanche* 276, 297  
*Polistes humilis* 297  
*Porichthys porosissimis* 419–421, 728  
*Poseidon viridis* 103  
*Potamotrygon cf. scobina* 407, 421, 728  
*Potamotrygon falkneri* 406, 407, 718  
*Potamotrygon gr. orbignyi* 407, 421, 720, 728  
*Procambarus clarkii* 189  
*Protoceratum crassipes* 51  
*Prymnesium parvum* 34  
*Psalmopoeus cambridgei* 222, 227  
*Psammophis lineolatus* 603, 604  
*Pseudechis porphyriacus* 533  
*Pseudechis australis* 533, 542, 543, 550, 553, 554, 622, 723, 727, 734  
*Pseudechis colletti* 542  
*Pseudechis guttatus* 542  
*Pseudomonas aeruginosa* 341  
*Pseudonaja textilis* 516, 543, 550, 551, 556, 693  
*Pseudo-nitzschia multiseriata* 45  
*Pseudopterogorgia elisabethae* 86  
*Pterois antennata* 399, 400  
*Pterois volitans* 403, 416, 417, 720, 721, 730, 732  
*Ptychodiscus brevis* 47  
*Pyrodinium bahamense* 35, 39

## R

- Rana temporaria* 457  
*Remipedia* 30, 145, 146, 720, 728



*Rhabdophis tigrinus* 602, 604, 606–609, 622  
*Rhipicephalu severtsi* 271  
*Rhizochalina incrustata* 62, 63  
*Rhizostoma pulmo* 83  
*Rhynocoris fuscipes* 381  
*Rhyssa persuasoria* 280  
*Ropolidia revolutionalis* 297  
*Ryptic ussaponaceus* 436

## S

*Sacconemertella lutulenta* 105  
*Salamandra salamandra* 448, 479  
*Saxidomus giganteus* 37, 41, 42  
*Saxidomus nuttalli* 37  
*Scarus gibbus* 431, 433  
*Schizothorax intermedius* 434  
*Scolopendra cingulata* 389  
*Scolopendra gigantea* 387  
*Scolopendra moristans* 388, 390  
*Scolopendra subspinipes* 389  
*Scolopendra viridicornis* 389  
*Scomberomorus commerson* 431  
*Scorpaena guttata* 402, 414  
*Scorpaena plumieri* 414–416, 717, 723, 729  
*Scorpaena scrofa* 399, 400  
*Scorpaenichtys marmoratus* 435  
*Scytodes thoracica* 207  
*Segestria florentina* 219, 221  
*Sepia esculenta* 139  
*Sepia officinalis* 139  
*Seriola anteovitata* 431  
*Solenodon cubanus* 639  
*Solenodon paradoxus* 639  
*Solenopsis geminata* 323, 325, 683  
*Solenopsis invicta* 294, 322–325, 328  
*Solenopsis saevissima* 336  
*Sorex araneus* 642  
*Speleonectes kakuki* 147  
*Speleonectes ondinae* 147  
*Speleonectes tulumensis* 148  
*Sphyræna picuda* 424  
*Spilosoma lutea* 363  
*Spodoptera frugiperda* 239  
*Spondylus americanus* 37  
*Spondylus butleri* 37

*Spondylus ducalis* 37  
*Squalus acanthias* 398  
*Stichæus grigorjewi* 434, 435  
*Stichodactyla helianthus* 95  
*Stoichactis helianthus* 90  
*Stomolophus meleagris* 83, 84  
*Strongylocentrotus purpuratus* 153, 158, 677  
*Strongylocentrotus intermedius* 95  
*Stylostomum ellipse* 102  
*Subcoccinella vigintiquatorpunctata* 344  
*Suberites dotnuncula* 55, 57, 729  
*Sycon ciliatum* 55  
*Synanceia trachynis* 403, 411, 412, 414–417, 730  
*Synanceia verrucosa* 403, 413, 414, 722, 733, 735  
*Synanceia horrida* 403, 410–412, 414

## T

*Tabanus bovinus* 376  
*Tabanus yao* 376, 728  
*Tachymenis peruviana* 606  
*Taricha granulosa* 428, 722  
*Taricha torosa* 19, 428, 448, 479, 708  
*Taxidea taxus* 612  
*Tealia felina* 89  
*Tealia lofotensis* 90  
*Tegenaria atrica* 223  
*Tegenaria domestica* 232  
*Telescopus fallax* 27, 603  
*Tenebrio molitor* 282, 347, 391  
*Tesnusocaris goldichi* 146  
*Tetragonurus cuveri* 439  
*Thais floridana* 132  
*Thalassophryne nattereri* 403, 419–421, 728  
*Thalassophryne reticulate* 419  
*Thamnophis elegans vagrans* 491, 607, 608, 611  
*Thaumetopoea processionea* 358  
*Thelepus setosus* 102  
*Thelotornis capensis* 606  
*Thelotornis kirtlandi* 603–605, 611

*Thrixopelma pruriens* 222, 226  
*Tinca tinca* 434  
*Toxopneustes pileolus* 156–159  
*Trachelas volutus* 262  
*Trachinus draco* 399, 400, 403,  
408, 720  
*Trachinus vipera* 403  
*Trimeresurus trigonocephalus* 560  
*Trimeresurus flavoviridis* 24, 562,  
566, 573, 593, 608, 609, 611–  
613, 622  
*Tripneustes gratilla* 157, 158, 677  
*Tritona liacrinacea* 132  
*Tropidechis carriatus* 542, 693  
*Tropidolaemus wagleri* 499  
*Turbo marmorata* 37, 134  
*Typhlochactas mitchelli* 175

## U

*Ululodes mexicanus* 384  
*Upeneus arge* 434  
*Uperolei arugosa* 455  
*Urolophus halleri* 403, 406  
*Urticina grebelnyi* 91

## V

*Varanus griseus* 624  
*Varanus komodoensis* 624, 626, 628  
*Veromessor pergandei* 336  
*Verongia archeri* 57  
*Vespa mandarina* 276, 300, 301

*Vespa orientalis* 275, 277, 293,  
297, 683  
*Vespa xanthoptera* 300  
*Vespula (Dolichovespula) maculata*  
297, 683  
*Vespula lewisii* 300  
*Vipera ammodytes ammodytes* 568,  
573, 584, 585, 588, 590, 727  
*Vipera ammodytes meridionalis*  
568, 584  
*Vipera ammodytes* 583  
*Vipera aspis* 492, 564, 584, 585,  
588, 591, 724  
*Vipera aspis francisciredi* 568  
*Vipera aspis hugyi* 568  
*Vipera berus* 568, 573, 582, 583,  
586, 588, 688, 719, 724–728,  
731, 733  
*Vipera dinniki* 27  
*Vipera latasti gaditana* 568  
*Vipera nikolskii* 27, 583, 588, 731  
*Vipera palaestinae* 493, 564, 585,  
592, 602, 707  
*Vipera russelli* 494, 577, 585, 686  
*Vipera russelli formosensis* 585,  
731  
*Vipera ursinii* 564, 584

## Z

*Zosimus acneus* 41

---

## СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АД	– артериальное давление крови
ПД	– потенциал действия
ПКП	– потенциал концевой пластинки
МПКП	– миниатюрный потенциал концевой пластинки
ТКП	– ток концевой пластинки
ВПСП	– возбуждающий постсинаптический потенциал
ТПСП	– тормозный постсинаптический потенциал
ЦНС	– центральная нервная система
ВНС	– вегетативная нервная система
ГЭБ	– гематоэнцефалический барьер
ЭЭГ	– электроэнцефалограмма
ЭКГ	– электрокардиограмма
ГАМК	– гамма-аминомасляная кислота
МАП	– мембраноактивные полипептиды
УФ	– ультрафиолетовое излучение
ЭПР	– электронный парамагнитный резонанс
ЯМР	– ядерный магнитный резонанс
pH	– водородный показатель
pI	– изоэлектрическая точка
K <sub>a</sub>	– равновесная константа связывания (образования)
M <sub>r</sub>	– относительная молекулярная масса
m.e.	– мышинные единицы
DL <sub>50</sub>	– средняя летальная доза
MLD	– минимальная летальная доза
ED <sub>50</sub>	– средняя эффективная доза
ASP	– отравление амнестическим ядом моллюсков
DSP	– отравление диарейным ядом моллюсков
NSP	– отравление нейротоксическим ядом моллюсков
PSP	– отравление паралитическим ядом моллюсков
TTX	– тетродотоксин
STX	– сакситоксин

---

ПЕРЕЧЕНЬ АМИНОКИСЛОТ

Аминокислота	Сокращение		
	русское	английское	однобуквенный код
Аланин	Ала	Ala	A
Аргинин	Арг	Arg	R
Аспарагиновая кислота	Асп	Asp	D
Аспарагин	Асп	Asn	N
Валин	Вал	Val	V
Гистидин	Гис	His	H
Глицин	Гли	Gly	G
Глутамин	Глн	Gln	Q
Глутаминовая кислота	Глу	Glu	E
Изолейцин	Иле	Ile	I
Лейцин	Лей	Leu	L
Лизин	Лиз	Lys	K
Метионин	Мет	Met	M
Пироглутаминовая кислота	пироГлу	Glp	pE
Пролин	Про	Pro	P
Серин	Сер	Ser	S
Тирозин	Тир	Tyr	Y
Треонин	Тре	Thr	T
Триптофан	Трп	Trp	W
Фенилаланин	Фен	Phe	F
Цистеин	Цис	Cys	C

---

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие .....	5
От авторов .....	6
<b>Введение в зоотоксикологию .....</b>	<b>8</b>
Токсикологическая классификация ядовитых животных. Вопросы терминологии .....	14
Основные методы экспериментального изучения зоотоксинов .....	17
Медицинские аспекты зоотоксикологии .....	23
Охрана и рациональное использование ядовитых животных .....	25

### Часть I. Ядовитые морские беспозвоночные

<b>Глава 1. Токсичные организмы «красного прилива» .....</b>	<b>31</b>
1.1. Классификация, биология и экология динофлагеллат .....	32
1.2. Организмы «красного прилива» .....	34
1.3. Общая токсикологическая характеристика организмов «красного прилива» .....	38
1.4. Групповая токсикологическая характеристика организмов «красного прилива» .....	40
1.4.1. Отравление паралитическим ядом моллюсков (paralytic shellfish poisoning, PSP) .....	40
1.4.2. Отравление амнестическим ядом моллюсков (amnesic shellfish poisoning, ASP) .....	45
1.4.3. Отравление нейротоксическим ядом моллюсков (neurotoxic shellfish poisoning, NSP) .....	47
1.4.4. Отравление диарейным ядом моллюсков (diarrhetic shellfish poisoning, DSP) .....	48
1.4.5. Отравление азаспирокислотным ядом моллюсков (azaspiracid shellfish poisoning, AZP) .....	50
<b>Глава 2. Губки (Porifera) .....</b>	<b>53</b>
2.1. Токсикологическая характеристика .....	54
2.2. Химический состав и механизмы действия яда губок .....	56
2.2.1. Токсины .....	57
2.2.2. Цитотоксины и цитостатики .....	58
<b>Глава 3. Стрекающие (Cnidaria) .....</b>	<b>65</b>
3.1. Токсикологическая характеристика .....	66
3.1.1. Ядовитый аппарат стрекающих .....	67
3.2. Яд медуз и полипов (Hydrozoa, Cubozoa, Scyphozoa) .....	69
3.2.1. Медуза <i>Gonionemus vertens</i> .....	69
3.2.2. Огненные, или жгучие кораллы (Milleporidae) .....	72
3.2.3. Медуза <i>Physalia physalis</i> .....	73
3.2.4. Медуза <i>Chironex fleckeri</i> .....	76
3.2.5. Медуза <i>Carukia barnesi</i> .....	79
3.2.6. Медуза <i>Chrysaora quinquecirrha</i> .....	80
3.2.7. Медуза <i>Cyanea capillata</i> .....	81
3.2.8. Медуза <i>Pelagia noctiluca</i> .....	82
3.2.9. Медуза <i>Rhizostoma pulmo</i> .....	83

3.2.10. Медуза <i>Stomolophus meleagris</i> .....	83
3.3. Яд коралловых полипов (Anthozoa) .....	84
3.3.1. Роговые кораллы (Gorgonaria) .....	85
3.3.2. Актинии (Actinaria).....	87
3.3.3. Корковые кораллы (Zoantharia) .....	96
3.3.4. Мадрепоровые кораллы (Madreporaria).....	98
<b>Глава 4. Черви (Vermes) .....</b>	<b>101</b>
4.1. Токсикологическая характеристика .....	102
4.2. Яд немертин (Nemertini) .....	102
4.2.1. Вооруженные немертины (Anopla) .....	106
4.2.2. Невооруженные немертины (Eopla) .....	110
4.3. Яд полихет (Polychaeta) .....	112
4.3.1. Химический состав и механизмы действия яда .....	113
<b>Глава 5. Моллюски (Mollusca) .....</b>	<b>117</b>
5.1. Токсикологическая характеристика .....	118
5.2. Яд брюхоногих моллюсков (Gastropoda) .....	119
5.2.1. Активно-ядовитые брюхоногие моллюски .....	119
5.2.1.1. Механический состав и механизмы действия яда .....	122
5.2.2. Пассивно-ядовитые брюхоногие моллюски .....	131
5.3. Яд головоногих моллюсков (Cephalopoda) .....	137
5.3.1. Химический состав и механизмы действия яда .....	138
<b>Глава 6. Ремипедии (Remipedia) .....</b>	<b>145</b>
6.1. Токсикологическая характеристика .....	146
6.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	148
<b>Глава 7. Иглокожие (Echinodermata) .....</b>	<b>151</b>
7.1. Токсикологическая характеристика морских ежей (Echinoidea) .....	153
7.1.1. Ядовитый аппарат .....	155
7.1.2. Яд морских ежей .....	156
7.2. Токсикологическая характеристика морских звезд (Asteroidea) .....	160
7.2.1. Яд морских звезд .....	161
7.3. Токсикологическая характеристика голотурий (Holothuroidea) .....	164
7.3.1. Ядовитый аппарат .....	165
7.3.2. Яд голотурий .....	167
<b>Часть II. Ядовитые наземные беспозвоночные</b>	
<b>Глава 8. Скорпионы (Scorpions) .....</b>	<b>173</b>
8.1. Токсикологическая характеристика отряда скорпионов (Scorpiones) .....	174
8.1.1. Ядовитый аппарат скорпионов .....	176
8.1.2. Клиника отравления ядом скорпионов .....	177
8.1.3. Химический состав и механизмы действия цельного яда скорпионов .....	178
8.2. Химическая структура и механизмы действия полипептидных токсинов яда скорпионов .....	182
8.2.1. Нейротоксины скорпионов и Na <sup>+</sup> -каналы .....	183
8.2.2. Нейротоксины скорпионов и K <sup>+</sup> -каналы .....	192
8.2.3. Нейротоксины скорпионов и Cl <sup>-</sup> -каналы .....	199

<b>Глава 9. Мигаломорфные пауки (Megalomorphaea)</b> .....	203
9.1. Токсикологическая характеристика отряда пауков .....	204
9.1.1. Ядовитый аппарат пауков .....	205
9.1.2. Арахноидизм .....	208
9.1.3. Общая характеристика химического состава яда пауков .....	211
9.1.3.1. Низкомолекулярные компоненты .....	215
9.1.3.2. Линейные пептиды .....	215
9.1.3.3. Дисульфидсодержащие пептиды .....	218
9.1.3.4. Ферменты .....	219
9.1.4. Общая характеристика фармакологических эффектов яда пауков .....	220
9.2. Яд мигаломорфных пауков (Megalomorphaea) .....	223
9.2.1. Семейство Пауки-птицееды (Theraphosidae) .....	224
9.2.1.1. Клиника отравления .....	224
9.2.1.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	225
9.2.2. Семейство Ядовитые воронковые пауки (Hexathelidae) .....	227
9.2.2.1. Клиника отравления .....	228
9.2.2.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	228
<b>Глава 10 Аранеоморфные пауки (Araneomorphae). Паразитиформные клещи (Parasitiformes)</b> .....	231
10.1. Яд аранеоморфных пауков (Araneomorphae) .....	232
10.1.1. Семейство Воронковые пауки (Agelenidae) .....	232
10.1.2. Семейство Бурые пауки-отшельники (Sicariidae) .....	236
10.1.3. Семейство Пауки-тенетники (Theridiidae) .....	241
10.1.4. Семейство Пауки-кругопряды (Araneidae) и семейство Nephilidae .....	249
10.1.5. Семейство Пауки-волки (Lycosidae) .....	254
10.1.6. Семейство Пауки сумочные (Miturgidae) .....	260
10.1.7. Семейство Пауки-эрезиды (Eresidae) .....	262
10.1.8. Семейство Пауки блуждающие (Ctenidae) .....	264
10.2. Яд паразитиформных клещей (Parasitiformes) .....	267
10.2.1. Химический состав и механизмы действия яда .....	270
<b>Глава 11 Активно-ядовитые жалоносные насекомые</b> .....	273
11.1. Токсикологическая характеристика отряда Перепончатокрылые (Hymenoptera) .....	275
11.2. Надсемейство Ихневмоноидные наездники (Ichneumonoidea, инфраотряд Parasitica) .....	277
11.2.1. Ядовитый аппарат .....	280
11.2.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	282
11.3. Надсемейство Пчелы и Сфекоидные роющие осы (Apoidea, инфраотряд Aculeata) .....	284
11.3.1. Семейство Песочные осы, пчелиный волк (Crabronidae) .....	285
11.3.1.1. Химический состав и механизмы действия яда .....	286
11.3.2. Семейство Настоящие осы, складчатокрылые осы (Vespidae) .....	291
11.3.2.1. Ядовитый аппарат .....	293
11.3.2.2. Клиника отравлений .....	294
11.3.2.3. Химический состав и механизмы действия яда .....	295

11.3.3. Семейство Пчелы настоящие (Apidae) .....	303
11.3.3.1. Ядовитый аппарат .....	304
11.3.3.2. Клиника отравления .....	306
11.3.3.3. Химический состав и механизмы действия яда .....	306
11.3.4. Семейство Ампулициды (Ampulicidae) .....	316
11.3.5. Семейство Муравьи (Formicidae) .....	320
11.3.5.1. Ядовитый аппарат .....	322
11.3.5.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	322
<b>Глава 12. Пассивно-ядовитые насекомые. Насекомые с ядовитым ротовым аппаратом</b> .....	<b>337</b>
12.1. Ядовитые жуки (Coleoptera) .....	338
12.1.1. Семейства Стафилиниды (Staphylinidae) и Нарывники (Meloidae) .....	339
12.1.2. Семейство Божьи коровки (Coccinellidae) .....	343
12.1.3. Семейство Листоеды (Chrysomelidae) .....	346
12.1.4. Семейство Мелириды (Melyridae) .....	351
12.1.5. Другие жуки .....	352
12.2. Ядовитые Чешуекрылые, или Бабочки (Lepidoptera) .....	355
12.2.1. Семейство Медведицы (Arctiidae) .....	360
12.2.2. Семейство Павлиноглазки (Saturniidae) .....	364
12.2.3. Семейство Нимфалиды (Nymphalidae) .....	366
12.2.4. Другие бабочки .....	370
12.3. Ядовитые двукрылые (Diptera) .....	371
12.3.1. Семейство Ктыри (Asilidae) .....	372
12.3.2. Семейство Слепни (Tabanidae) .....	373
12.4. Ядовитые полужесткокрылые (Hemiptera) .....	377
12.4.1. Семейство Гигантские водяные клопы (Belostomatidae) .....	378
12.4.2. Семейство Хищницы (Reduviidae) .....	380
12.5. Ядовитые сетчатокрылые (Neuroptera) .....	382
<b>Глава 13. Многоножки (Myriapoda)</b> .....	<b>385</b>
13.1 Токсикологическая характеристика .....	386
13.2 Класс Губоногие (Chilopoda) .....	388
13.2.1 Химический состав и механизмы действия яда .....	389
13.3 Класс Двупарноногие (Diplopoda) .....	391
13.3.1 Химический состав и механизмы действия яда .....	391
<b>Часть III. Ядовитые анимнии: Рыбы (Pisces) и Амфибии (Amphibia)</b>	
<b>Глава 14. Активно-ядовитые рыбы</b> .....	<b>395</b>
14.1. Токсикологическая характеристика рыб .....	396
14.1.1. Хрящевые рыбы (Chondrichthyes) .....	397
14.1.2. Костные рыбы (Osteichthyes) .....	398
14.1.3. Ядовитый аппарат .....	400
14.2. Представители активно-ядовитых рыб .....	403
14.2.1. Отряд Хвостиколообразные (Myliobatiformes) .....	403
14.2.2. Отряд Окунеобразные (Perciformes) .....	407
14.2.2.1. Семейство Драконовые (Trachinidae) .....	407
14.2.3. Отряд Скорпенообразные (Scorpaeniformes) .....	410
14.2.3.1. Род Бородавчатки (Synanceia) .....	410



14.2.3.2. Род Скорпены ( <i>Scorpaena</i> ) .....	414
14.2.3.3 Род Крылатки ( <i>Pterois</i> ) .....	416
14.2.3.4. Род Нотестес ( <i>Nothestes</i> ) .....	417
14.2.4. Отряд Батрахообразные ( <i>Batrachoidiformes</i> ).....	418
14.2.5. Отряд Сомообразные ( <i>Siluriformes</i> ) .....	421
<b>Глава 15. Пассивно-ядовитые рыбы. Круглоротые (<i>Cyclostomata</i>) .....</b>	<b>423</b>
15.1. Яд пассивно-ядовитых рыб.....	424
15.1.1. Тетродотоксин.....	425
15.1.2. Сигуатера .....	430
15.1.3. Галлюциногены.....	434
15.1.4. Ихтиотоксины.....	434
15.1.5. Ихтиокринотоксины .....	435
15.1.6. Ихтиохемотоксины.....	439
15.1.7. Другие токсины пассивно-ядовитых рыб.....	439
15.2. Яд круглоротых ( <i>Cyclostomata</i> ) .....	440
<b>Глава 16. Амфибии (<i>Amphibia</i>) .....</b>	<b>445</b>
16.1. Токсикологическая характеристика амфибий .....	446
16.1.1. Отряд Хвостатые ( <i>Caudata</i> ) .....	448
16.1.2. Отряд Бесхвостые ( <i>Anura</i> ) .....	448
16.1.3. Ядовитый аппарат амфибий.....	451
16.2. Яд бесхвостых амфибий ( <i>Anura</i> ) .....	452
16.2.1. Биогенные амины .....	453
16.2.2. Пептиды и белки .....	454
16.2.3. Антимикробные пептиды .....	457
16.2.4. Опиоидные пептиды.....	458
16.2.5. Нейротоксические алкалоиды .....	459
16.2.6. Кардиотонические стероиды .....	470
16.3. Яд хвостатых амфибий ( <i>Caudata</i> ) .....	478

#### **Часть IV. Ядовитые амниоты: Рептилии (*Reptilia*), Млекопитающие (*Mammalia*), Птицы (*Aves*)**

<b>Глава 17. Общая характеристика ядовитых рептилий (<i>Reptilia</i>).....</b>	<b>483</b>
17.1. Токсикологическая характеристика ядовитых змей (подотряд <i>Ophidia</i> ).....	485
17.1.1. Строение ядовитого аппарата змей.....	487
17.1.2. Токсичность и ядопродуктивность змей .....	493
17.1.3. Эпидемиология змеиных укусов.....	494
17.1.4. Общая характеристика химического состава змеиных ядов .....	497
<b>Глава 18. Аспиды (<i>Elapinae</i>) .....</b>	<b>501</b>
18.1. Токсикологическая характеристика подсемейства <i>Elapinae</i> .....	502
18.1.1. Клиника отравления .....	504
18.2. Яд змей подсемейства <i>Elapinae</i> .....	506
18.2.1. Постсинаптические нейротоксины .....	511
18.2.2. Слабые постсинаптические нейротоксины .....	515
18.2.3. Пресинаптические нейротоксины.....	516

18.2.4. Токсины яда мамб ( <i>Dendroaspis</i> ) .....	522
18.2.5. Мембрано-активные полипептиды (МАП) .....	528
18.2.6. Другие биологически активные вещества яда аспидов .....	531
<b>Глава 19. Морские змеи (Hydrophiinae)</b> .....	<b>535</b>
19.1. Токсикологическая характеристика морских змей <i>Sensu stricto</i> .....	536
19.1.1. Клиника отравления .....	537
19.1.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	538
19.2. Австралийские ядовитые змеи .....	542
19.2.1. Тигровая змея ( <i>Notechis scutatus</i> ) .....	543
19.2.2. Род Тайпаны ( <i>Oxyuranus</i> ) .....	546
19.2.3. Восточная коричневая змея ( <i>Pseudonaja textilis</i> ) .....	550
19.2.4. Род Смертельные змеи ( <i>Acanthophis</i> ) .....	551
19.2.5. Мулга ( <i>Pseudechis australis</i> ) .....	553
19.2.6. Мелкоглазая новогвинейская змея ( <i>Micropechis ikaheka</i> ) .....	554
<b>Глава 20. Гадюковые змеи (Viperidae)</b> .....	<b>557</b>
20.1. Биоэкологическая и токсикологическая характеристики семейства Гадюковые змеи (Viperidae) .....	560
20.1.1. Подсемейство Ямкоголовые змеи (Crotalinae) .....	560
20.1.2. Подсемейство Гадюки (Viperinae) .....	562
20.1.3. Подсемейство Бирманские гадюки (Azemiophinae) .....	564
20.1.4. Подсемейство Африканские жабы гадюки (Causinae) .....	564
20.2. Клиника отравления ядами гадюк и ямкоголовых змей .....	565
20.3. Протеолитические ферменты яда гадюк и ямкоголовых змей .....	568
20.3.1. Общая характеристика .....	568
20.3.2. Металлопротеиназы .....	571
20.3.3. Сериновые протеазы .....	574
20.4. Нейротоксины яда ямкоголовых змей (Crotalinae) .....	577
20.4.1. Кротоксин .....	577
20.4.2. Гироксин и кротамин .....	580
20.4.3. Мохаветоксин .....	580
20.4.5. Ваглерины .....	581
20.5. Нейротоксины яда гадюк (Viperinae) .....	582
20.5.1. Токсические фосфолипазы яда гадюк .....	582
20.5.2. Белки семейства CRISPs (цистеин-богатые секреторные белки) .....	593
20.5.3. Трехпетельные токсины .....	593
20.6. Яд змей подсемейства Бирманские гадюки (Azemiophinae) .....	595
20.7. Яд змей подсемейства Африканские жабы гадюки (Causinae) .....	595
<b>Глава 21. Шпильковые змеи (Atractaspididae) и Ужеобразные змеи (Colubridae)</b> .....	<b>597</b>
21.1. Семейство Шпильковые змеи (Atractaspididae) .....	598
21.1.1. Клиника отравления .....	599
21.1.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	599
21.2. Семейство Ужеобразные змеи (Colubridae) .....	602
21.2.1. Клиника отравления .....	605
21.2.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	606
21.3. Природная устойчивость к змеиным ядам. Профилактика укусов змей .....	611

<b>Глава 22. Ящерицы (Lacertilia)</b> .....	615
22.1. Семейство Ядозубы (Helodermatidae).....	616
22.1.1. Ядовитый аппарат .....	618
22.1.2. Клиника отравления .....	620
22.1.3. Химический состав и механизмы действия яда .....	620
22.2. Семейство Варановые (Varanidae) .....	624
22.2.1. Клиника отравления .....	626
22.2.2. Ядовитый аппарат .....	627
22.2.3. Химический состав и механизмы действия яда .....	628
<b>Глава 23. Млекопитающие (Mammalia) и Птицы (Aves)</b> .....	633
23.1. Ядовитые млекопитающие .....	634
23.1.1.1. Ядовитый аппарат .....	637
23.1.1.2. Химический состав и механизмы действия яда .....	638
23.1.1. Яйцекладущие млекопитающие (Prototheria) .....	634
23.1.2. Живородящие млекопитающие (Theria) .....	639
23.2. Ядовитые птицы .....	643
23.2.1. Химический состав и механизмы действия яда .....	645

## **Часть V. Биомедицинские аспекты зоотоксикологии**

<b>Глава 24. Патологические механизмы действия некоторых зоотоксинов при альтерации функций организма</b> .....	649
24.1. Яд скорпионов .....	650
24.1.1. Яд скорпиона и система кровообращения .....	650
24.1.2. Яд скорпиона и кровопотеря.....	652
24.1.3. Яд скорпиона и клиническая смерть .....	654
24.2. Пчелиный яд .....	655
24.2.1. Системные эффекты пчелиного яда .....	656
24.2.2. Антиаритмические свойства пчелиного яда .....	661
24.2.3. Вазоактивные свойства пчелиного яда .....	663
24.2.4. Радиопротекторные свойства пчелиного яда .....	664
24.2.5. Гематологические свойства пчелиного яда.....	665
24.2.6. Пчелиный яд и геронтология .....	666
24.2.7. Пчелиный яд и онкология .....	667
24.2.8. Апитерапия и ее проблемы .....	667
24.3. Яд жаб.....	668
24.5. Яды змей .....	672
<b>Глава 25. Иммунокотерапия отравлений зоотоксинами</b> .....	675
25.1. Иммуностропные свойства ядов желудочно-кишечных .....	677
25.2. Иммуностропные свойства ядов паукообразных.....	677
25.2.1. Яд скорпионов.....	677
25.2.2. Яд пауков.....	679
25.3. Иммуностропные свойства ядов насекомых .....	680
25.3.1. Яд перепончатокрылых .....	680
25.3.2. Яд жуков .....	683
25.4. Иммуностропные свойства ядов рыб и круглоротых .....	684

25.5. Иммунотропные свойства ядов амфибий.....	684
25.6. Иммунотропные свойства ядов рептилий .....	685
25.7. Получение антисывороток .....	688
<b>Глава 26. Моделирование патологических состояний с помощью зоотоксинов.....</b>	<b>695</b>
26.1. Способ моделирования аритмий сердца.....	696
26.2. Способ моделирования атриовентрикулярного блока сердца .....	697
26.3. Способ моделирования спазма сосудов изолированного сердца.....	698
26.4. Способ моделирования гипотензии .....	698
26.5. Способ моделирования бронхоспазма .....	699
26.6. Способ лечения геморрагического шока .....	699
26.7. Способ стимуляции нервов.....	699
26.8. Способ моделирования эпилептиформного состояния .....	701
<b>Заключение .....</b>	<b>703</b>
<b>Литература .....</b>	<b>710</b>
<b>Интернет-ресурсы .....</b>	<b>737</b>
<b>Предметный указатель .....</b>	<b>739</b>
<b>Указатель латинских названий .....</b>	<b>745</b>
<b>Принятые сокращения .....</b>	<b>753</b>

---

## CONTENTS

Foreword .....	5
From the authors .....	6
<b>Introduction to zootxinology .....</b>	<b>8</b>
Toxinological classification of poisonous and venomous animals. Questions of terminology .....	14
Main methods of experimental studies of zootoxins .....	17
Medical aspects of zootxinology .....	23
Protection and rational use of poisonous and venomous animals .....	25
 <b>Part I. Poisonous and venomous marine invertebrates</b>	
<b>Chapter 1. Toxic organisms of the «red tide» .....</b>	<b>31</b>
1.1. Classification, biology and ecology of dinoflagellates .....	32
1.2. The «red tide» organisms .....	34
1.3. General toxinological characteristics of the «red tide» organisms .....	38
1.4. Toxinological characteristics of the groups of the «red tide» organisms .....	40
1.4.1. Paralytic shellfish poisoning (PSP) .....	40
1.4.2. Amnesic shellfish poisoning (ASP) .....	45
1.4.3. Neurotoxic shellfish poisoning (NSP) .....	47
1.4.4. Diarrhetic shellfish poisoning (DSP) .....	48
1.4.5. Azaspiracid shellfish poisoning (AZP) .....	50
<b>Chapter 2. Sponges (Porifera) .....</b>	<b>53</b>
2.1. Toxinological characteristics .....	54
2.2. Chemical composition and mechanisms of action of sponge venom .....	56
2.2.1. Toxins .....	57
2.2.2. Cytotoxins and cytostatics .....	58
<b>Chapter 3. Cnidarians (Cnidaria) .....</b>	<b>65</b>
3.1. Toxinological characteristics .....	66
3.1.1. Venom apparatus of Cnidarians .....	67
3.2. Venom jellyfish and polyps (Hydrozoa, Cubozoa, Scyphozoa) .....	69
3.2.1. Jellyfish <i>Gonionemus vertens</i> .....	69
3.2.2. Fire or stinging corals ( <i>Milleporidae</i> ) .....	72
3.2.3. Portuguese man-of-war <i>Physalia physalis</i> .....	73
3.2.4. Jellyfish <i>Chironex fleckeri</i> .....	76
3.2.5. Jellyfish <i>Carukia barnesi</i> .....	79
3.2.6. Jellyfish <i>Chrysaora quinquecirrha</i> .....	80
3.2.7. Jellyfish <i>Cyanea capillata</i> .....	81
3.2.8. Jellyfish <i>Pelagia noctiluca</i> .....	82
3.2.9. Jellyfish <i>Rhizostoma pulmo</i> .....	83
3.2.10. Jellyfish <i>Stomolophus meleagris</i> .....	83
3.3. Venom of coral polyps ( <i>Anthozoa</i> ) .....	84

3.3.1. Horny corals ( <i>Gorgonaria</i> ) .....	85
3.3.2. Sea anemones ( <i>Actinaria</i> ) .....	87
3.3.3. Crust corals ( <i>Zoantharia</i> ) .....	96
3.3.4. Stony corals ( <i>Madreporaria</i> ) .....	98
<b>Chapter 4. Worms (Vermes)</b> .....	101
4.1. Toxinological characteristics .....	102
4.2. Venom of nemerteans ( <i>Nemertini</i> ) .....	102
4.2.1. Armed nemerteans ( <i>Anopla</i> ) .....	106
4.2.2. Unarmed nemerteans ( <i>Enopla</i> ) .....	110
4.3. Venom of polychaetes ( <i>Polychaeta</i> ) .....	112
4.3.1 Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	113
<b>Chapter 5. Clams (Mollusca)</b> .....	117
5.1. Toxinological characteristics .....	118
5.2. Poison and venom of gastropods ( <i>Gastropoda</i> ) .....	119
5.2.1. Venomous gastropods .....	119
5.2.1.1. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	122
5.2.2. Poisonous gastropods .....	131
5.3. Venom of cephalopods ( <i>Cephalopoda</i> ) .....	137
5.3.1. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	138
<b>Chapter 6. Remipedes (Remipedia)</b> .....	145
6.1. Toxinological characteristics .....	146
6.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	148
<b>Chapter 7. Echinoderms (Echinodermata)</b> .....	151
7.1. Toxinological characteristics of sea urchins ( <i>Echinoidea</i> ) .....	153
7.1.1. Venom apparatus .....	155
7.1.2. Venom of sea urchins .....	156
7.2. Toxinological characteristics of starfish ( <i>Asteroidea</i> ) .....	160
7.2.1. Venom of starfish .....	161
7.3. Toxinological characteristics of sea cucumbers ( <i>Holothuroidea</i> ) .....	164
7.3.1. Venom apparatus .....	165
7.3.2. Venom of sea cucumbers .....	167

## Part II. Venomous terrestrial invertebrates

<b>Chapter 8. Scorpions (Scorpiones)</b> .....	173
8.1. Toxinological characteristics of the order of Scorpions ( <i>Scorpiones</i> ) .....	174
8.1.1. Venom apparatus .....	176
8.1.2. Clinical manifestations of scorpion envenomation .....	177
8.1.3. Chemical composition and mechanisms of action of the whole venom of scorpions .....	178
8.2. Chemical composition and mechanisms of action of polypeptide toxins of scorpion venom .....	182
8.2.1. Neurotoxins of scorpions and Na <sup>+</sup> -channels .....	183
8.2.3. Neurotoxins of scorpions and K <sup>+</sup> -channels .....	192
8.2.3. Neurotoxins of scorpions and Cl <sup>-</sup> -channels .....	199

<b>Chapter 9. Mygalomorphae (<i>Mygalomorphaea</i>)</b> .....	203
9.1. Toxinological characteristics of the order of Spiders .....	204
9.1.1. Venom apparatus of spiders .....	205
9.1.2. Arachnoidism.....	208
9.1.3. General characteristics of the chemical composition .....	211
9.1.3.1. Low molecular weight components .....	215
9.1.3.2. Linear peptides.....	215
9.1.3.3. Disulfide-containing peptides .....	218
9.1.3.4. Enzymes .....	219
9.1.4. General characteristics of the pharmacological effects of spider venoms.....	220
9.2. Venom of mygalomorphae ( <i>Mygalomorphaea</i> ) .....	223
9.2.1. Family of Tarantulas ( <i>Theraphosidae</i> ).....	224
9.2.1.1. Clinical manifestations of envenomation .....	224
9.2.1.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action.....	225
9.2.2. Family of Funnel-web spiders ( <i>Hexathelidae</i> ) .....	227
9.2.2.1. Clinical manifestations of envenomation .....	228
9.2.2.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action.....	228
<b>Chapter 10 Araneomorph spiders (<i>Araneomorphae</i>). Parasitiform ticks (<i>Parasitiformes</i>)</b> .....	231
10.1. Venom of araneomorph spiders ( <i>Araneomorphae</i> ) .....	232
10.1.1. Family of Funnel-weavers ( <i>Agelenidae</i> ) .....	232
10.1.2. Family of Brown recluse spiders ( <i>Sicariidae</i> ) .....	236
10.1.3. Family of Comb-footed spiders ( <i>Theridiidae</i> ) .....	241
10.1.4. Family of Orb-weaver spiders ( <i>Araneidae</i> ) and the family of <i>Nephilidae</i> .....	249
10.1.5. Family of Wolf spiders ( <i>Lycosidae</i> ).....	254
10.1.6. Family of Long-legged sac spiders ( <i>Miturgidae</i> ).....	260
10.1.7. Family of Velvet spiders ( <i>Eresidae</i> ).....	262
10.1.8. Family of Wandering spiders ( <i>Ctenidae</i> ) .....	264
10.2. Venom of ticks ( <i>Parasitiformes</i> ).....	267
10.2.1. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	270
<b>Chapter 11. Venomous stinging insects</b> .....	273
11.1. Toxinological characteristics of the order Hymenoptera ( <i>Hymenoptera</i> ).....	275
11.2. Superfamily of Ichneumonoidea ( <i>Ichneumonoidea</i> , infraorder <i>Parasitica</i> ).....	277
11.2.1. Venom apparatus .....	280
11.2.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	282
11.3. Superfamily of Bees and Sphecoid burrowing wasps ( <i>Apoidea</i> , infraorder <i>Aculeata</i> )....	284
11.3.1. Family of Sand wasps and Bee wolves ( <i>Crabronidae</i> ).....	285
11.3.1.1. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action.....	286
11.3.2. Family of True wasps ( <i>Vespidae</i> ) .....	291
11.3.2.1. Venom apparatus .....	293
11.3.2.2. Clinical manifestations of envenomation.....	294
11.3.2.3. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action.....	295
11.3.3. Family of True bees ( <i>Apidae</i> ) .....	303
11.3.3.1. Venom apparatus .....	304
11.3.3.2. Clinical manifestations of envenomation .....	306

11.3.3.3. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action.....	306
11.3.4. Family of Ampulicid wasps ( <i>Ampulicidae</i> ) .....	316
11.3.5. Family of Ants ( <i>Formicidae</i> ) .....	320
11.3.5.1. Venom apparatus .....	322
11.3.5.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action.....	322
<b>Chapter 12. Poisonous insects. Insects with poisonous mouthparts .....</b>	<b>337</b>
12.1. Poisonous beetles ( <i>Coleoptera</i> ) .....	338
12.1.1. Families of Rove beetles ( <i>Staphylinidae</i> ) and Meloids ( <i>Meloidae</i> ).....	339
12.1.2. Family of Ladybirds ( <i>Coccinellidae</i> ).....	343
12.1.3. Family of Chrysomelids ( <i>Chrysomelidae</i> ).....	346
12.1.4. Family of Melyrids ( <i>Melyridae</i> ).....	351
12.1.5. Other beetles .....	352
12.2. Poisonous Lepidopterans, or butterflies ( <i>Lepidoptera</i> ) .....	355
12.2.1. Family of Tiger moths ( <i>Arctiidae</i> ).....	360
12.2.2. Family of Saturnians ( <i>Saturniidae</i> ) .....	364
12.2.3. Family of Brushfoots ( <i>Nymphalidae</i> ) .....	366
12.2.4. Other butterflies .....	370
12.3. Poisonous Dipterans ( <i>Diptera</i> ) .....	371
12.3.1. Family of Robber flies ( <i>Asilidae</i> ).....	372
12.3.2. Family of Horseflies ( <i>Tabanidae</i> ).....	373
12.4. Poisonous Hemipterans ( <i>Hemiptera</i> ) .....	377
12.4.1. Family of Giant water bugs ( <i>Belostomatidae</i> ).....	378
12.4.2. Family of Assassin bugs ( <i>Reduviidae</i> ) .....	380
12.5. Poisonous lacewing ( <i>Neuroptera</i> ) .....	382
<b>Chapter 13. Myriapods (<i>Myriapoda</i>).....</b>	<b>385</b>
13.1 Toxinological characteristics.....	386
13.2 Class of Chilopodans ( <i>Chilopoda</i> ) .....	388
13.2.1 Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	389
13.3 Class of Diplopods ( <i>Diplopoda</i> ) .....	391
13.3.1 Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	391

### **Part III. Venomous and poisonous anamniotes: Fishes (Pisces) and Amphibians (Amphibia)**

<b>Chapter 14. Venomous fishes .....</b>	<b>395</b>
14.1. Toxinological characteristics of fishes .....	396
14.1.1. Cartilaginous fishes (Chondrichthyes).....	397
14.1.2. Bony fishes (Osteichthyes).....	398
14.1.3. Venom apparatus .....	400
14.2. Representatives of venomous fishes.....	403
14.2.1. Order of myliobatiformes ( <i>Myliobatiformes</i> ).....	403
14.2.2. Order of Perch-like fishes ( <i>Perciformes</i> ) .....	407
14.2.2.1. Family of Weaver fishes ( <i>Trachinidae</i> ) .....	407
14.2.3. Order of Mail-cheeked fishes ( <i>Scorpaeniformes</i> ) .....	410
14.2.3.1. Genus Devilfishes ( <i>Synanceia</i> ) .....	410
14.2.3.2. Genus Scorpionfishes ( <i>Scorpaena</i> ) .....	414



14.2.3.3 Genus Firefishes (Pterois) .....	416
14.2.3.4. Genus Nothestes (Nothestes) .....	417
14.2.4. Order of Toadfishes (Batrachoidiformes) .....	418
14.2.5. Order of Catfishes (Siluriformes) .....	421
<b>Chapter 15. Poisonous fishes. Cyclostomes (Cyclostomata) .....</b>	<b>423</b>
15.1. Poisons of poisonous fishes .....	424
15.1.1. Tetrodotoxin.....	425
15.1.2. Ciguatera .....	430
15.1.3. Hallucinogens .....	434
15.1.4. Ichthyotoxins .....	434
15.1.5. Ichthyocrinotoxins .....	435
15.1.6. Ichthyohemotoxins.....	439
15.1.7. Other toxins of poisonous fishes .....	439
15.2. Poison of Cyclostomes (Cyclostomata) .....	440
<b>Chapter 16. Amphibians (Amphibia).....</b>	<b>445</b>
16.1. Toxinological characteristics of amphibians .....	446
16.1.1. Order of Caudata .....	448
16.1.2. Order of Anura .....	448
16.1.3. Venom apparatus of amphibians.....	451
16.2. Anura venom .....	452
16.2.1. Biogenic amines .....	453
16.2.2. Peptides and proteins.....	454
16.2.3. Antimicrobial peptides .....	457
16.2.4. Opioid peptides.....	458
16.2.5. Neurotoxic alkaloids .....	459
16.2.6. Cardiotonic steroids.....	470
16.3. Caudata venom .....	478
<b>Part IV. Venomous amniotes: Reptiles (Reptilia), Mammals (Mammalia), Birds (Aves)</b>	
<b>Chapter 17. General characteristics of poisonous reptiles (Reptilia).....</b>	<b>483</b>
17.1. Toxinological characteristics of venomous snakes (suborder Ophidia).....	485
17.1.1. Structure of snake venom apparatus .....	487
17.1.2. Toxicity and venom production of snakes .....	493
17.1.3. Epidemiology of snakebites.....	494
17.1.4. General characteristics of the chemical composition of snake venoms .....	497
<b>Chapter 18. Elapids (Elapinae) .....</b>	<b>501</b>
18.1. Toxinological characteristics of the subfamily Elapinae .....	502
18.1.1. Clinical picture of envenoming.....	504
18.2. The venom of snakes of the subfamily Elapinae .....	506
18.2.1. Postsynaptic neurotoxins.....	511
18.2.2. Weak postsynaptic neurotoxins.....	515
18.2.3. Presynaptic neurotoxins .....	516
18.2.4. Toxins of Mamba (Dendroaspis) venom.....	522

18.2.5. Membrane-active polypeptides (MAP) .....	528
18.2.6. Other biologically active substances in the venom of elapids .....	531
<b>Chapter 19. Sea snakes (Hydrophiinae) .....</b>	<b>535</b>
19.1. Toxinological characteristics of sea snakes <i>Sensu stricto</i> .....	536
19.1.1. Clinical picture of envenoming.....	537
19.1.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	538
19.2. Australian venomous snakes.....	542
19.2.1. Tiger snake ( <i>Notechis scutatus</i> ) .....	543
19.2.2. Genus Taipans ( <i>Oxyuranus</i> ) .....	546
19.2.3. Eastern brown snake ( <i>Pseudonaja textilis</i> ) .....	550
19.2.4. Genus Death adders ( <i>Acanthophis</i> ) .....	551
19.2.5. Mulga snake ( <i>Pseudechis australis</i> ).....	553
19.2.6. New Guinea small-eyed snake ( <i>Micropechis ikaheka</i> ).....	554
<b>Chapter 20. Vipers (Viperidae).....</b>	<b>557</b>
20.1. Bioecological and toxinological characteristics of the viper family (Viperidae) .....	560
20.1.1. Subfamily Crotalinae – Pit vipers.....	560
20.1.2. Subfamily Viperinae – Pitless vipers .....	562
20.1.3. Subfamily Azemiophinae – Fea's viper.....	564
20.1.4. Subfamily Causinae – Night adders .....	564
20.2. Clinical picture of envenoming by the venom of adders and pit vipers .....	565
20.3. Proteolytic enzymes of the venom of adders and pit vipers .....	568
20.3.1. General characteristics .....	568
20.3.2. Metalloproteinases .....	571
20.3.3. Serine proteases .....	574
20.4. Neurotoxins of the venom of pit vipers (Crotalinae).....	577
20.4.1. Crotoxin .....	577
20.4.2. Gyroxin and crotamine .....	580
20.4.3. Mojave toxin .....	580
20.4.5. Waglerins.....	581
20.5. Neurotoxins of the venom of vipers (Viperinae) .....	582
20.5.1. Toxic phospholipases .....	582
20.5.2. Proteins of the CRISP family (cysteine-rich secretory proteins).....	593
20.5.3. Three-loop toxins.....	593
20.6. The venom of snakes of the subfamily Azemiophinae – Fea's viper .....	595
20.7. The venom of snakes of the subfamily Causus – Night adders .....	595
<b>Chapter 21. African burrowing snakes (Atractaspididae) and Colubrids (Colubridae) .....</b>	<b>597</b>
21.1. African burrowing snake family (Atractaspididae).....	598
21.1.1. Clinical picture of envenoming.....	599
21.1.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	599
21.2. Colubrid family of snakes (Colubridae).....	602
21.2.1. Clinical picture of envenoming.....	605
21.2.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	606
21.3. Natural resistance to snake venom. Prevention of snake bites .....	611
<b>Chapter 22. Lizards (Lacertilia) .....</b>	<b>615</b>
22.1. The family Helodermatidae.....	616
22.1.1. Venom apparatus .....	618

22.1.2. Clinical picture of envenoming.....	620
22.1.3. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	620
22.2. The family Varanidae.....	624
22.2.1. Clinical picture of envenoming.....	626
22.2.2. Venom apparatus .....	627
22.2.3. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	628
<b>Chapter 23. Mammals (Mammalia) and Birds (Aves) .....</b>	<b>633</b>
23.1. Venomous mammals.....	634
23.1.1. Oviparous mammals (Prototheria).....	634
23.1.1.1. Venom apparatus .....	637
23.1.1.2. Chemical composition of venom and mechanisms of venom action .....	638
23.1.2. Viviparous mammals (Theria).....	639
23.2. Poisonous birds .....	643
23.2.1. Chemical composition of poison and mechanisms of poison action .....	645

## Part V. Biomedical aspects of zootoxinology

<b>Chapter 24. Pathophysiological mechanisms of the action of some zootoxins in the alteration of body functions .....</b>	<b>649</b>
24.1. Scorpion venom .....	650
24.1.1. Scorpion venom and circulatory system.....	650
24.1.2. Scorpion venom and blood loss .....	652
24.1.3. Scorpion venom and clinical death.....	654
24.2. Bee venom .....	655
24.2.1. Systemic effects of bee venom.....	656
24.2.2. Antiarrhythmic properties of bee venom.....	661
24.2.3. Vasoactive properties of bee venom .....	663
24.2.4. Radioprotective properties of bee venom.....	664
24.2.5. Hematologic properties of bee venom.....	665
24.2.6. Bee venom and gerontology .....	666
24.2.7. Bee venom and oncology .....	667
24.2.8. Apitherapy and its problems .....	667
24.3. Toad venom.....	668
24.5. Snake venoms.....	672
<b>Chapter 25. Immunotoxicotherapy of envenomation by animal toxins .....</b>	<b>675</b>
25.1. Immunotropic properties of coelenterate venoms.....	677
25.2. Immunotropic properties of arachnid venoms .....	677
25.2.1. Scorpion venom .....	677
25.2.2. Spider venom .....	679
25.3. Immunotropic properties of insect and millipede venoms.....	680
25.3.1. Hymenoptera venom .....	680
25.3.2. Beetle venom.....	683
25.4. Immunotropic properties of fish and cyclostome venoms .....	684
25.5. Immunotropic properties of amphibian venoms .....	684
25.6. Immunotropic properties of reptile venoms.....	685
25.7. Methods for obtaining antisera .....	688

<b>Chapter 26. Modeling of pathological states with the help of zootoxins</b> .....	695
26.1. The method for cardiac arrhythmia modeling .....	696
26.2. The method for atrioventricular heart block modeling .....	697
26.3. The method for vasospasm modeling in an isolated heart .....	698
26.4. The method for hypotension modeling .....	698
26.5. The method for bronchospasm modeling .....	699
26.6. The method for treating hemorrhagic shock .....	699
26.7. The method for nerve stimulation .....	699
26.8. The method for epileptiform state modeling .....	701
<b>Conclusion</b> .....	703
<b>References</b> .....	710
<b>Internet resources</b> .....	737
<b>Subject index</b> .....	739
<b>Index of Latin names</b> .....	745
<b>Abbreviations</b> .....	753

**Гелашвили Давид Бежанович,  
Крылов Василий Николаевич,  
Романова Елена Борисовна**

**ЗООТОКСИНОЛОГИЯ:  
БИОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И БИМЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ**

*Учебное пособие*

Подписано к печати 13.02.2016  
Формат 70×108 1/16. Уч.-изд. л. 72,3. Усл. печ. л. 67,5.  
Заказ № 198. Тираж 200.

Издательство Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского  
603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Отпечатано в типографии Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского  
603000, Н. Новгород, ул. Б. Покровская, 37



ГЕЛАШВИЛИ Давид Бежанович – лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой экологии Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского



КРЫЛОВ Василий Николаевич – заслуженный деятель науки РФ, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой физиологии и биохимии человека и животных Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского



РОМАНОВА Елена Борисовна – д.б.н., профессор кафедры экологии Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского