

УДК 591.145.2+598.115.33(470.4)

## ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ ЯДА ОБЫКНОВЕННОЙ ГАДЮКИ В ВОЛЖСКОМ БАССЕЙНЕ: ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

© 2011 О.В. Зайцева, А.Л. Маленев, А.Г. Бакиев\*

Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти (Россия)

Поступила 20 сентября 2010 г.

Показана необходимость расширения диапазона значений некоторых параметров (токсичность, протеолитическая активность) во Временной фармакопейной статье на сухой яд гадюки обыкновенной. Для повышения эффективности противоядных сывороток рекомендовано учитывать географическую изменчивость пептидного состава ядовитого секрета змей.

*Ключевые слова:* обыкновенная гадюка, Волжский бассейн, змеиный яд.

**Zaitseva O.V., Malenyov A.L., Bakiev A.G. Researches of properties of the common viper's venom in the Volga river basin: practical value the received results.**

Necessity of dilating of a value ranges of some parameters (toxicity, protease activity) of a dry common adder's venom in Russian Pharmacopeian documents is shown in the article. For increase of effectiveness of antiserum it is recommended take into account the geographical variability of peptide's content of viper's venom.

*Key words:* common adder, Volga River Basin, snake venom.

Опубликованные данные о свойствах ядов обыкновенных гадюк *Vipera berus*, населяющих Волжский бассейн, до последнего времени были весьма скудными. На наш взгляд, это объясняется рядом причин. Во-первых, у исследователей за рубежом не было возможности исследовать образцы яда гадюк с территории Волжского бассейна, а в нашей стране такого рода исследования почти не проводились. Во-вторых, во всем мире биохимические эксперименты проводят на «высокоудойных» видах змей, в то время как от обыкновенной гадюки можно получить за одно ядовзятие в среднем не более 5-10 мг сухого секрета. В-третьих, лишь за последние годы в Институте экологии Волжского бассейна РАН удалось собрать коллекцию образцов яда из разных районов Поволжья и организовать планомерные работы по исследованию биохимических свойств ядов обыкновенной гадюки, результаты которых начали публиковаться всего лишь несколько лет назад.

В частности, для токсичности (среднесмертельная доза ЛД<sub>50</sub>) яда обыкновенных гадюк из разных популяций Волжского бассейна не выявлено статистически значимых различий (Маленев и др., 2007а). Наряду с этим установлено, что активность протеаз и оксидазы L-аминокислот яда в отдельных популяциях может отли-

---

\* Ольга Владимировна Зайцева, аспирант; Андрей Львович Маленев, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией; Бакиев Андрей Геннадьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: herpetology@list.ru

чаться (Маленев и др., 2007б; Бакиев и др., 2008). Также было показано, что ядовитый секрет двух подвидов обыкновенной гадюки *V. b. berus* и *V. b. nikolskii*, распространенных соответственно в речных бассейнах Волги и Дона, различается по активностям ферментов и своему пептидному составу. Согласно предварительным данным, гадюки, по внешнеморфологическим признакам близкие к лесостепному подвиду, гадюке Никольского *V. b. nikolskii*, имеют значительно более низкие значения активности протеаз и оксидазы *L*-аминокислот по сравнению с гадюками, морфологически близкими к номинативной форме *V. b. berus*. Для первого подвида характерен бесцветный яд, для второго – желтый. Группа популяций, населяющих районы бассейна Волги у водораздела с и Донским бассейном в Пензенской и Саратовской областях, по окраске ядовитого секрета, активности протеаз и оксидазы *L*-аминокислот занимает промежуточное положение между двумя подвидами. Так, обнаружены популяции, где одни змеи продуцируют желтый, другие – бесцветный секрет (Бакиев и др., 2008, 2009; Зайцева, 2009). Наличие данной группы популяций подтверждает предположение о том, что на территории Волжского бассейна находится зона интерградации двух подвидов (Зиненко, 2003).

Проведенные экспериментальные исследования биохимических свойств ядовитого секрета обыкновенных гадюк с большой территории ареала заставляют обратить внимание на значения контролируемых параметров качества яда, указанных во Временной фармакопейной статье ВФС 42-3026-98 «Яд гадюки обыкновенной сухой» (1998). Дело в том, что утвержденная Фармакопейным комитетом ВФС рекомендует ряд контролируемых параметров, по которым необходимо оценивать яд обыкновенной гадюки как сырье для фармацевтической промышленности. Из этих параметров мы анализировали цвет яда, его токсичность, активности оксидазы *L*-аминокислот, фосфолипазы  $A_2$  и протеолитических ферментов. Сравнительные данные приведены в таблице.

Таблица

Сравнение экспериментальных данных с требованиями ВФС

Параметр	Требования ВФС	Наши данные
Цвет яда	от светло-желтого до желтого	от бесцветного до ярко-желтого
Токсичность (ЛД <sub>50</sub> )	не более 3,5 мг/кг	2,9-4,7 мг/кг
Активность фосфолипазы $A_2$	не менее 1,4 МЕ/мг белка	1,6-2,1 МЕ/мг белка
Активность протеазы	0,08-0,25 ПЕ/мг белка	0-0,20 ПЕ/мг белка
Активность оксидазы <i>L</i> -аминокислот	не регламентирована	0-25 Е/мг белка мин

Из данных таблицы видно, что ядовитый секрет, полученный от части гадюк, по ряду параметров (цвет яда, активность протеаз и среднесмертельная доза ЛД<sub>50</sub>) не удовлетворяет требованиям ВФС и, следовательно, не может использоваться при производстве лекарственных препаратов. В основном это популяции гадюк из бассейна Дона и прилегающих к нему районов бассейна Волги. На самом деле, низкие значения активности протеазы, оксидазы *L*-аминокислот или цвет яда являются не показателями «плохого» качества ядовитого секрета, а отражают географическую изменчивость гадюк, таксономический и генетический статус популяций.

Ранее для получения яда обыкновенной гадюки массовый отлов змей проводили на тех территориях РСФСР, где распространен номинативный подвид. Эти гадюки использовались «Зоокомбинатом» (г. Москва) для получения ядовитого секрета, который в плановом порядке поступал на фармацевтические предприятия.

В настоящее время мы считаем целесообразным учитывать полученные новые данные по изменчивости ферментативных активностей яда обыкновенных гадюк при разработке современной нормативной документации (ВФС) на яд гадюки. Логично предположить, что выходы из создавшейся противоречивой ситуации могут быть следующими.

1. Во Временной фармакопейной статье на яд обыкновенной гадюки должны быть учтены различающиеся параметры ядовитого секрета у разных подвидов и расширены границы варьирования ряда контролируемых параметров. Данный вариант предполагает тщательные научные исследования варибельности свойств ядовитого секрета гадюк с большой территории Российской Федерации, включая речные бассейны Волги и Дона.

2. Принципиально возможно разработать отдельные ВФС на яды гадюк разных подвидов с учетом подвидовых особенностей их ядовитого секрета, тем более, что многие исследователи (например: Ананьева и др., 2004; Phelps, 2010) признают лесостепную форму самостоятельным видом *V. nikolskii*.

3. В любом случае необходимо четко разграничить области, которые населены популяциями гадюк разных подвидов, имеющих разные характеристики ядовитого секрета. Это накладывает дополнительные квалификационные требования к лицам, производящим отлов змей и получение яда.

Результаты электрофоретического разделения пептидов ядовитого секрета обыкновенной гадюки из разных районов Волжского и Донского бассейнов свидетельствуют о существовании внутривидовых различий и в белковом спектре яда (Бакиев и др., 2008, 2009; Зайцева, 2009). Кроме теоретической значимости, заключающейся в возможности использования пептидного состава ядовитого секрета в систематике гадюк, эти результаты имеют и практическую ценность. Вследствие установленной изменчивости пептидного состава яды гадюк из разных географических районов ареала имеют и различный набор антигенов, что необходимо учитывать при создании эффективных противоядных сывороток. В странах, где проблема спасения людей от змеиных укусов стоит очень остро, проблема исследования изменчивости свойств ядов является актуальной, и созданию высокоэффективных противоядных сывороток уделяется очень большое внимание (Chippaux et al., 1991).

В Российской Федерации при укусах людей обыкновенными гадюками, наряду с медикаментозными методами лечения, применяется и серотерапия, т.е. лечение с применением видоспецифической сыворотки. На сегодняшний день единственным производителем моновалентной сыворотки «Антигадюка» является ФГУП «Аллерген» (г. Ставрополь). При производстве сыворотки используется яд гадюк без учета пептидного состава ядовитого секрета. Этим ядом иммунизируют лошадей, в крови которых вырабатываются антитела на все белки, присутствующие в яде. Потом сыворотку обогащают, стерилизуют, разливают в ампулы и рекомендуют к применению при укусах обыкновенных гадюк. Но белковый состав яда гадюк разных подвидов различается, даже внутри отдельных популяций нами обна-

ружены отличия. В связи с этим можно предположить, что и состав антител в каждой партии выпускаемой сыворотки будет различаться, и эффективность ее применения в отдельных регионах будет также различна. Становится понятным, что применение сыворотки, комплементарной к белкам яда *V. b. berus*, будет менее эффективным при введении ее при укусах *V. b. nikolskii*, поскольку номинативная форма обыкновенной гадюки и гадюка Никольского отличаются белковым составом ядовитого секрета. Здесь же необходимо отметить, что в некоторых медицинских учреждениях для лечения последствий укусов гадюк, даже при наличии сыворотки, ее не решаются использовать, опасаясь анафилактического шока и других осложнений.

На наш взгляд, существует несколько возможных путей выхода из создавшейся ситуации.

Во-первых, целесообразно использовать при производстве сыворотки яд гадюк с возможно больших территорий ее ареала для того, чтобы увеличить «антигенное» разнообразие исходного сырья, включая по возможности и яд разных подвидов гадюк. Это выход представляется нам наименее затратным с экономической точки зрения для монопольного производства сыворотки «Антигадюка».

Во-вторых, можно использовать дифференцированный подход, при котором сыворотка будет производиться на основе яда гадюк, обитающих в том регионе, где она будет применяться. Другими словами, в Самарской области при укусе обыкновенных гадюк наиболее целесообразно применять сыворотку с набором антител к ядовитому секрету змей данного вида, населяющих именно Самарскую область.

В-третьих, для зон симпатрии разных видов ядовитых змей (к примеру, в Среднем Поволжье встречаются и обыкновенная *V. berus*, и степная *V. renardi* гадюки) желательнее наладить производство поливалентных сывороток, поскольку в симпатрических зонах часто не удается установить видовую принадлежность змеи, укусившей человека.

Таким образом, результаты проведенных в последние годы исследований внутривидовой изменчивости свойств яда обыкновенной гадюки необходимо использовать при разработке нормативно-технической документации на змеиные яды и при производстве более эффективных противоядных сывороток.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

**Ананьева Н.Б., Орлов Н.Л., Халиков Р.Г. и др.** Атлас пресмыкающихся Северной Евразии (таксономическое разнообразие, географическое распространение и природоохранный статус). СПб., 2004. 232 с.

**Бакиев А.Г., Маленев А.Л., Четанов Н.А., Зайцева О.В., Песков А.Н.** Обыкновенная гадюка *Vipera berus* (Reptilia, Viperidae) в Волжском бассейне: материалы по биологии, экологии и токсинологии // Бюл. «Самарская Лука». 2008б. Т. 17, № 4 (26). С. 759-816. – **Бакиев А.Г., Маленев А.Л., Зайцева О.В., Шуршина И.В.** Змеи Самарской области. Тольятти: ООО «Кассандра», 2009. 170 с.

**Зайцева О.В.** Полипептидный состав ядовитого секрета некоторых видов гадюк // Экологический сборник 2: Тр. молодых ученых Поволжья. Тольятти: ИЭВБ РАН; «Кассандра», 2009. С. 226-229. – **Зиненко А.И.** Особенности морфологии *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) и *Vipera nikolskii* Vedmederja, Grubant et Rudaeva, 1986 – следствие интрогрессивной гибридизации? // Змеи Восточной Европы: Материалы междунар. конф. Тольятти, 2003. С. 20-22.

**Маленев А.Л., Бакиев А.Г., Зайцева О.В., Шуршина И.В.** Токсичность яда обыкновенных гадюк из различных пунктов ареала // Изв. Самар. НЦ РАН. 2007а. Т. 9, № 1. С. 259-261. – **Маленев А.Л., Бакиев А.Г., Зайцева О.В., Шуршина И.В., Зиненко А.И.** Протеолитическая активность яда обыкновенных гадюк из некоторых популяций России и Украины // Изв. Самар. НЦ РАН. 2007б. Т. 9, № 4. С. 1040-1044.

**Яд гадюки обыкновенной сухой.** Временная фармакопейная статья: ВФС 42-3026-98. М., 1998. 23 с.

**Chippaux J.P., Williams V., White J.** Snake venom variability: methods of study, results and interpretation // Toxicon. 1991. V. 29. P. 1279-1303.

**Phelps T.** Old World Vipers: A Natural History of the Azemiopinae, and Viperinae. Frankfurt a. M.: Chimaria Buchhandelsgesellschaft mbH, 2010. 558 p.