

Государственный комитет Российской Федерации
по высшему образованию
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского

В.Н. КРЫЛОВ

ПЧЕЛИНЫЙ ЯД
СВОЙСТВА, ПОЛУЧЕНИЕ, ПРИМЕНЕНИЕ

Научно-справочное издание

Издательство Нижегородского университета
Нижний Новгород, 1995

ББК Е 691.894.73Ар
К85
УДК 615.919:591.145.2

К85. КРЫЛОВ В.Н. Пчелиный яд. Свойства, получение, применение: научно-справочное издание. Нижний Новгород: Изд-во Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 1995. - 224 с.

Рецензенты: Вальцева Н.А. - проф. кафедры биологии Московской медицинской академии, доктор биол. наук; Трошин В.Д. - зав. каф. нервных болезней Нижегородского мед. ин-та, доктор мед. наук, академик

Пчелиный яд, попадая в организм человека при ужалении, оказывает не только раздражающее, болевое действие, но может приводить к излечению многих заболеваний. Поэтому такое интенсивное развитие получила в настоящее время апитерапия и соответствующая технология получения пчелиного яда и разработка лекарственных средств на его основе.

В научно-справочном издании приведены литературные и собственные материалы по анализу физиологических свойств пчелиного яда и его компонентов, описана безвредная для пчел технология получения яда на пасеках, систематизированы клинические данные по применению пчелиного яда и лекарственных средств на его основе при лечении заболеваний человека.

Предназначена для студентов биологических и медицинских специальностей, научных работников, фармацевтов и фармакологов, пчеловодов, врачей.

ББК Е 691.894.73Ар

К 3705021000 - 277
М (187(03)) - 95

ISBN - 5-85746-076-X

© В.Н.Крылов, 1995

ВВЕДЕНИЕ

Пчеловодство как одна из сторон человеческой деятельности в настоящее время обогатилось еще одним продуктом - пчелиным ядом. Получение этого продукта в промышленных масштабах вызвано резко возросшими запросами на яд пчел отечественных и зарубежных научно-исследовательских учреждений, химико-фармацевтических предприятий, многих фирм широкого профиля деятельности. Соответственно, резко поднялась и цена яда - сегодня по каталогу американской фирмы "Сигма" один грамм пчелиного яда стоит 269 долларов. В свете современных представлений о целенаправленном воздействии на организм человека и животных химических агентов можно с уверенностью утверждать, что возросший интерес к пчелиному яду связан с его высокой физиологической активностью с одной стороны, и естественным происхождением - с другой. Эффективное лечение пчелиным ядом многих недугов человека привело к формированию целого медицинского направления - апитерапии. Как источник многих физиологически активных веществ со специфической активностью пчелиный яд широко используется в научных исследованиях. Намечились перспективы его применения в различных областях техники.

Принимая во внимание, что за рубежом издан ряд монографий, посвященных изучению пчелиного яда, а первая и единственная в нашей стране книга проф. Н.М. Артемова "Пчелиный яд, его физиологические свойства и терапевтическое применение", изданная еще в 1941 году, стала библиографической редкостью, мы сочли необходимым обобщить опыт, накопленный в этой области зарубежными и отечественными исследователями, а также собственные экспериментальные данные, посвященные изучению проблем, связанных с получением, изучением и применением пчелиного яда в физиологии и медицине. Укажем, что кафедра физиологии и био-

химии человека и животных Нижегородского университета в течение многих лет занимается исследованием пчелиного яда. Нами разработаны и в настоящее время применяются утвержденные Фармакопеей России лекарственные средства с пчелиным ядом - таблетки для электрофореза "Апифор" и мазь "Унгапивен", в стадии испытаний новые фармакологические средства.

Книга структурно состоит из трех разделов. В первом дается обзор сведений о химическом составе и свойствах пчелиного яда, его влиянию на важнейшие системы организма. Выявляется зависимость структуры отдельных ингредиентов яда с их функциональной активностью - на уровне мембран, клеток, тканей, органов и систем. Вскрываются механизмы терапевтического действия яда на моделируемых патологических состояниях животных.

Развивающаяся промышленная добыча пчелиного яда, ставшая важной отраслью пчеловодства, приводит к нагрузке на пчелосемью. В связи с этим имеется актуальная необходимость разработки оптимальной технологии получения пчелиного яда на пасеках, позволяющей получать достаточные объемы яда-сырца высокого качества при сохранении уровня производства других продуктов пчеловодства и являющейся безвредной для пчелосемей и человека. Поэтому следующий раздел посвящен технологии получения яда. В основном, это собственные разработки кафедры, защищенные авторскими свидетельствами и апробированные на пасеках. Учтены оптимальные способы размещения устройств для сбора яда, периодичность ядоотбора у пчел, характеристики электрического раздражения, влияние ядоотбора на активность, продуктивность, силу, развитие пчелиной семьи, а также трудоемкость работ, их безвредность для операторов, анализ качества получаемого продукта.

Третий раздел, в основном обзорный, раскрывает сущность апитерапии, ее практические методы, достоинства и недостатки при лечении тех или иных заболеваний человека. Приводятся описания инструкций по применению апитерапии, отдельных препаратов на основе пчелиного яда. Систематизированы основные группы заболеваний, при которых показано успешное применение лечения пчелиным ядом.

Считаю своим долгом выразить искреннюю признательность коллегам по работе - сотрудникам кафедры - доцентам А.С. Коря-

гину, С.Б. Парину, А.Е. Хомутову за помощь в экспериментах и обработке результатов исследования. Особую благодарность приношу ассистенту Л.В. Ошевенскому, соавтору многих разработок по получению и анализу пчелиного яда. Буду рад получить отзывы и критические замечания от читателей.

Василий Крылов

I. ПРОИСХОЖДЕНИЕ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Пчелиный яд является продуктом секреции специальных желез рабочих пчел, эволюционно связанных с их половым аппаратом. Происхождение и назначение, функциональная и морфологическая связь ядовитых желез с репродуктивными органами особенно отчетливо прослеживается при рассмотрении эволюционного развития семейства пчелиных. Пчелиные вместе с ближайшими родственниками — осами объединяются под общим названием — жалящие перепончатокрылые. Название связано с тем, что яйцеклад этих насекомых, кроме главной функции — откладки яиц, приобрел в филогенезе еще одно назначение — орудия защиты и нападения. При этом придаточные железы яйцекладущего аппарата превратились в производящие ядовитый секрет. Целесообразность такого превращения становится понятной, если учесть, что любое полезное приспособление к изменяющимся условиям окружающей среды наследственно закрепляется в эволюции, так как способствует выживанию и процветанию вида, рода, семейства. Появление и расцвет жалящих приходится на период возникновения покрытосеменных растений — около 100 млн. лет назад. Именно в это время от перепончатокрылых обособилась группа, перешедшая на питание животной пищей. Особенно важным это оказалось при развитии организма из яйца, которое откладывалось не просто куда-нибудь, а непосредственно в подходящий организм жертвы. Для этого было необходимо, проткнув яйцекладом покровы личинки или взрослого членистоногого (жука, бабочки и др.), впрыснуть внутрь не только яйцо, но и токсическое вещество, парализующее жертву. Такой парализованный, обездвиженный и в то же время живой корм — консерва оказался идеальным местом для развития потом-

ства жалящего насекомого. Сегодня мы имеем множество видов (наездники, одиночные осы и др.), у которых яйцеклад функционирует совместно с парализующим ядом.

Из сказанного следует, что секрет, выделяющийся из придаточных желез жалящих, обладает, прежде всего, активностью, парализующей нервную систему жертвы. Отсюда и отнесение пчелиного яда к группе нейротоксических (нейротропных) ядов. В дальнейшем приобретенное приспособление жалящих усовершенствовалось в нескольких направлениях. Это было связано с выделением группы общественных насекомых, куда вошли и пчелы. В связи с разделением функций в семье, подобно органам в организме, когда откладка яиц стала прерогативой матки, у остальных пчелиных самок-рабочих пчел яйцекладущий аппарат редуцировался, стал недоразвитым. В противоположность этому у них получил дальнейшее развитие и усовершенствование жалящий аппарат, так как одна из функций рабочих пчел еще и охрана всей семьи. В соответствии с этим для более эффективной защиты от сложно устроенных, крупных врагов совершенствовался как сам жалящий аппарат,

так и качество вырабатываемого ядовитого секрета.

Сегодня жалящий аппарат пчел — идеально сконструированное автоматическое оружие (рис. 1). Он расположен в задней части брюшка и по своему происхождению представляет видоизмененные тергиты 8 и 9 абдоминальных сегментов. Стержень жала состоит из луковицы, куда открывается

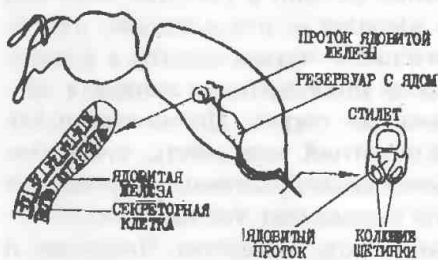


РИС. 1. Ядовитый аппарат пчелы медоносной [*Apis mellifera*]

общий проток ядовитых желез, стилета и колошких щетинок, являющихся хитиновыми образованиями. Стержень жала соединен с базальным аппаратом двумя парами дуг, образуя жалящий аппарат. Ранящий аппарат приводится в действие группой мышц, в результате чего стилет и щетинки выдвигаются из брюшка, внедряясь в покровы жертвы. Ядовитых желез две: длинная, разветвленная, содержащая кислый секрет, с крупным резервуаром, и короткая, трубковидная, содержащая щелочной секрет. Снаружи

кислая железа покрыта тонкой оболочкой. Под ней располагается железистый слой клеток, вырабатывающих ядовитый секрет. Внутри расположен проток, тянущийся вдоль всей железы. Резервуар заключен в мышечную оболочку, а внутри также выстлан железистыми клетками. Просвет его занят готовым секретом кислой железы. Щелочная (диффузная) железа имеет мышечную оболочку, под которой находятся складки железистой ткани. По всей длине проходит проток, так же как и проток кислой железы, открывающийся в луковичку стержня жала. Считается, что за эффект токсического действия отвечают секреты обеих желез.

Когда пчела подгибает брюшко и вонзает в эластичную кожу наиболее опасных врагов — грызунов, зверей и др., свое жало, оно автоматически погружается в ткани. Благодаря сокращению связанных с жалом мышц, колющие щетинки с зазубринками по внешнему краю попеременно продвигаются вглубь ткани, заякоряясь в ней. Одновременно сокращаются мышцы вокруг резервуара, содержащего секрет, и яд по каналу, образованному стилетом и щетинками, впрыскивается в ткань. Сокращения мышц аппарата автоматические, так как ими управляет отдельный нервный узел, расположенный в последнем сегменте брюшка. Поэтому, независимо от того, погибнет ли пчела на месте, или, улетев, оторвет весь закоренный в эластичной коже брюшной сегмент, впрыскивание яда из резервуара будет продолжаться в течение еще нескольких минут. Все это делает возможным полное опорожнение запасного яда в тело врага. Эффективность такого способа защиты семьи очевидна, хотя и достигается ценой гибели отдельных ее членов.

Интересен вопрос об эволюционной целесообразности такого способа защиты — отрыв жала и гибель пчелы в результате своеобразного и уникального физиологического акта. Его можно рассматривать как пример несовершенства аппарата — неприспособленность пчелиных к встрече с появившимися в эволюции млекопитающими (Фриш, 1935). Такого мнения придерживается, в частности и С.В. Пигулевский (1975). Автор полагает, что зазубренность жала существовала задолго до появления млекопитающих, а не возникла как приспособительный признак, и потеря жала — это следствие неподготовленности пчел к появлению млекопитающих. Пчела совершенствовалась в защите от обычных врагов — членистоногих, при ужалении которых жало не отрывается. Пчела, проколов хитиновый, неэластичный и неволокнистый покров, может извлечь его обратно, оставаясь живой. Однако есть и другая точка зрения на этот счет. Например, Н.М. Артемов (1949) считает, что

третичный период был эпохой стремительного развития млекопитающих и в то же время эпохой первого появления пчелиных — т.е. эволюция пчел и млекопитающих происходила одновременно. В процессе борьбы с такими крупными, сильными и хорошо защищенными врагами, как млекопитающие, среди которых было много древесных, лазающих форм, часто встречающихся и даже конкурировавших из-за мест поселения в дуплах, повышение эффективности ужаления в результате автотомии (автоотрыва) жала оказалось более выгодным, чем гибель некоторого числа работниц, защищающих семью. Такая гибель не могла иметь большого значения при многочисленности рабочих особей, к тому же бесплодных, в пчелиной семье. Поэтому естественный отбор закрепил у рабочих пчел способность к автотомии жала.

Подобную точку зрения подтверждают и исследования Ритчеля (Rietschel, 1937), в которых было показано, что отрыв жала представляет собой специальное выработанное приспособление. Автором описаны специальные изменения морфологии, облегчающие отрыв жала — сильное развитие зубрин на колющих щетинках, истончение хитинового соединения и инволюция мускулатуры, связывающей жалящий аппарат с абдоминальными сегментами и др.

Таким образом, способность пчел отрывать жало при ужалении млекопитающих должна, по мнению авторов, рассматриваться не как примитивный признак, свидетельствующий о несовершенстве этого органа, а как вновь приобретенный признак, дающий пчелам преимущество в борьбе за существование, так как он обеспечивает наиболее эффективное использование жала, как орудия борьбы с главными врагами пчел. Н.М. Артемов полагает далее, что эволюция жалящего аппарата пчел происходила в направлении приспособления его к защите именно от млекопитающих, а не каких-либо других животных. Усовершенствование структуры и функции жала развивалось параллельно развитию определенных инстинктов. Широко известно, что запах кожных выделений млекопитающих сильно раздражает пчел, и сторожевые особи агрессивно устремляются в направление запаха. Точно так же движущиеся предметы темной окраски (характерной для млекопитающих) всегда больше раздражают пчел, чем светлой. Создающееся впечатление, что пчелы "запутываются" в волосах, можно расценить и иначе: пчела, попавшая в волосы человека или животного, не пытается выбраться на свободу, а всегда стремится достигнуть кожи, чтобы ужалить.

Вместе с усовершенствованием жалящего аппарата усложняется и сам ядовитый секрет — в направлении более эффективного поражения млекопитающих, сложно устроенных, крупных животных. Для поражения их нервной системы потребовалась целая система компонентов, позволяющая ее достигнуть и поразить. На базе имеющихся нейротоксических компонентов конструируются вещества, позволяющие воздействовать на рецепторный аппарат — вызывать болевое ощущение, облегчить проникновение в кровеносные пути, по которым легче и быстрее достигнуть важнейших нервных центров, разрушить окологлеточные барьеры в виде соединительной ткани, наконец, эффективно разрушить оболочки клеток и их органеллы. Благодаря современным методам анализа указанные компоненты пчелиного яда сегодня хорошо изучены. Так, из яда выделены белки, обладающие ферментативными свойствами — фосфолипаза А, гиалуронидаза, фосфатазы; высокоактивные пептиды — мелиттин, апамин, МСД-пептид, тетрапин, секапин, адолапин, минимин, кардиопеп; биогенные амины — гистамин, серотонин, дофамин; летучие вещества, в том числе вещества тревоги — аттрактанты. (Ниже мы более детально остановимся на свойствах этих компонентов.) Эффективность токсического действия яда на разные виды животных позволила подтвердить, что и качественное изменение состава ядовитого секрета направлено на млекопитающих. Н.М. Артемов (1969), исследуя токсическое действие яда на 29 видах беспозвоночных и позвоночных животных, показал, что теплокровные животные оказались значительно чувствительнее к яду, чем холоднокровные, причем особенно высокой чувствительностью, за исключением ежей, обладали млекопитающие.

Эффективность суммарного токсического действия пчелиного яда достигается последовательным и совместным действием указанных выше компонентов на подвергнувшийся ужалению организм. Многие стороны этого процесса еще не ясны, однако схематически некоторые детали можно представить следующим образом. Первыми вступают в действие гистамин яда и МСД-пептид, разрушающий тучные клетки соединительной ткани, из которых также высвобождаются гистамин, серотонин и другие эндогенные амины. Они вызывают увеличение кровоснабжения пораженного участка, повышают проницаемость стенок кровеносных сосудов, оказывают болевой эффект. В силу возникшей ситуации основная масса яда поступает в кровоток и по магистралям кровеносных сосудов достигает наиболее уязвимых участков организма — цен-

тральной нервной системы. Однако для проникновения к нервным клеткам — нейронам необходимо преодолеть барьер в виде полимерных волокон соединительной ткани, окружающей клетки. С этим успешно справляется гиалуронидаза яда, так как в основе указанных полимерных волокон лежит гиалуроновая кислота, которую фермент и расщепляет. Теперь можно произвести дезинтеграцию связей между нервными клетками, чтобы понизить их сопротивляемость — это вполне эффективно производит апамин яда. Наконец цель достигнута — мембрана (оболочка) нейрона оказывается один на один с основными компонентами яда — мелиттином и фосфолипазой. Мелиттин и сам может эффективно разрушить мембрану клетки, однако, если фосфолипаза поможет разомкнуть фосфолипидные цепи оболочки, то эффект значительно увеличится: мембрана разрушается, нарушается вся деятельность нейрона. При экспериментальном отравлении животных пчелиным ядом смерть обычно наступает от остановки дыхания вследствие паралича дыхательного центра.

Такая мрачная картина нарисована лишь для того, чтобы подчеркнуть, что пчелиный яд не просто гетерогенная смесь веществ, а выработанная многовековой эволюцией эффективная система поражения врага в ходе борьбы за выживание такого сложного организма, каким можно представить пчелиную семью.

Процесс образования яда в железах, его "созревание" также свидетельствует о сложных взаимоотношениях отдельных особей пчелиной семьи с потенциальными врагами. Этот вопрос изучался рядом исследователей — Banks et al. (1985), Owen et al. (1971-1982), Мельниченко (1970), Лаврехин, Попкова (1975), Мусаев (1978) и др. Из проведенных исследований следует, что имеются определенные различия в динамике образования ядовитого секрета у рабочих пчел и маток, соответствующие их функциональному назначению. Установлено, что наиболее значимые белковые компоненты яда появляются в секрете рабочих пчел со 2-го дня жизни и интенсивно секретируются в течение 7-9 дней. Максимальное наполнение резервуара происходит между 11-16 днями жизни пчелы. После этого, ко времени перехода рабочей пчелы на сторожевую службу, резервуар полностью заполнен, и деятельность ядовитых желез прекращается. После месячного возраста железы приобретают желтоватую окраску, переходящую в коричневую. У осеннего поколения пчел деятельность ядовитых желез начинается позже — с 14-15 дня и заканчивается раньше, к 20 дню.

В отличие от рабочей пчелы, матка выходит из ячейки уже имея в резервуаре ядовитый секрет, который использует для борьбы со старой маткой и завоевания главенствующего положения в семье. Секрет интенсивно образуется в первые 3 дня жизни матки и уменьшается после 7 дня.

Подвержен динамическим временным изменениям и качественный состав яда. Главный компонент яда мелиттин в резервуаре рабочих пчел первые 1-2 дня представлен неактивной формой — промелиттин и активируется максимально после 20 дня. Наоборот, у матки превращение промелиттина в мелиттин происходит уже на 1-й день жизни. Гистамин и его предшественник гистидин дают пики максимального содержания соответственно на 35 и 20 дни жизни рабочей пчелы. Изменение содержания катехоламинов в яде совпадает с динамикой содержания гистамина. Содержание ферментов в яде относительно постоянно в течение всего периода секреции. Есть некоторые различия содержания фосфолипазы у рабочих пчел и маток — яд матки содержит значительно меньше этого фермента.

Из рассмотренного следует заключить, что последовательность образования компонентов яда, его количество и качественный состав отражают биологическое приспособление элементов пчелиной семьи к окружающей среде. Например, если в начале сторожевой жизни пчела отражает, в основном, нападения беспозвоночных животных, в том числе своих сородичей, она поражает их нервную систему (мелиттин) и не погибает, то в конце жизни пчела потенциально готова поразить крупное млекопитающее и даже погибнуть, а наличие гистамина обеспечивает при этом еще и болевой, отпугивающий эффект.

Свежеполученный от живых пчел секрет ядовитых желез представляет собой густую, прозрачную жидкость горько-жгучего вкуса, кислой реакции (рН водных растворов 4,5-5,5), плотностью 1,08-1,13, быстро высыхающую на воздухе. Летучие вещества пчелиного яда — это вода и сложные эфиры: изоамилацетат, изоамилпропионат, изоамилбутират и др. Считается, что в процессе ужаления выделяющиеся эфиры вызывают сигнальную реакцию "тревоги" в пчелиной семье и активируют других пчел к ужалению. Объем выделяющегося от одной пчелы секрета составляет около 1 мкл жидкости массой 0,5-1 мг. Секрет легко растворим в воде, включает 12% нерастворимых примесей. Высушенный яд имеет вид прозрачной массы, составляющей 30-40% от нативного секрета,

которая при размоле превращается в порошок от белого до желтоватого оттенка.

Высушенный пчелиный яд представляет собой многокомпонентную смесь из неорганических и органических веществ. Минеральные вещества, остающиеся после сжигания яда при температуре 500-800°C (зольность яда), составляют 2-4% сухой массы яда. В золе установлены кальций, фосфор, магний, медь, хлориды. Нет точных данных о присутствии в нативном без примесей яде таких распространенных в биологических тканях элементов, как калий и натрий.

Органические вещества яда представлены практически всеми группами соединений, встречающихся в животном организме — углеводы, жиры, белки, пептиды, аминокислоты, биогенные амины, ароматические и алифатические соединения и т.д. Установлено наличие в яде 2-6% сахаров (глюкоза, фруктоза). Однако чем меньше загрязняется секрет при получении, тем меньше содержание углеводов. Жироподобные вещества имеются в яде в еще меньших концентрациях и составляют 1-3%. Около 1% яда составляют свободные аминокислоты.

Основная часть сухого вещества яда представлена белками и пептидами — около 80%. Все они являются активными веществами. Благодаря современным методам выделения и анализа сегодня идентифицировано 98% компонентов пчелиного яда. Выделение отдельных компонентов яда является достаточно сложной и трудоемкой задачей. Это связано с тем, что яд состоит из сложной смеси высокомолекулярных белков, полипептидов и низкомолекулярных компонентов в различных количествах. Так, присутствие пептида мелиттина в яде в количестве 40-50% от всего секрета затрудняет выделение компонентов, имеющих примерно равную молекулярную массу, но присутствующих в количествах, менее 1%. Тем не менее, эти задачи успешно решаются с применением различных методических приемов разделения, основанных на разных физико-химических свойствах компонентов. Так, используя электрофорез, разделяют компоненты яда в электрическом поле, основываясь на величине и полярности зарядов молекул. Метод гель-фильтрации позволяет фракционировать яд по молекулярной массе. При этом используют пропускание раствора яда через колонки, наполненные высокогидрофильными декстранами (сефадексы) или полиакриламидными гелями. Они хорошо набухают в воде, образуя гели, которые действуют подобно молекулярному сити. Величину "ячеек

сита" подбирают, используя разные типы сефадексов и биогелей. Ионообменная хроматография позволяет разделить белки яда в соответствии с зарядами их функциональных групп, обладающих тем или иным сродством к полимерным смолам, через которые пропускается раствор яда.

В последние годы для разделения пептидов пчелиного яда широко применяется высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Разделение проводится с помощью специального жидкостного хроматографа, в комплект которого входят: колонки, заполненные специальным образом носителями — силикагелем или силикагелем с обращенной фазой; насос, позволяющий создавать давление до 200 атм., градиентный смеситель и высокочувствительный детектор. Проходящий через колонку под большим давлением раствор яда в определенных растворителях разделяется на фракции соответственно гидрофильности и гидрофобности молекул, т.е. их способности в той или иной степени удерживаться гидрофобными частицами носителя. Следует отметить, что для более детального анализа часто применяется не один, а несколько методов разделения, следующих последовательно. Например, фракцию, полученную после гель-фильтрации или ионообменной хроматографии, дальше анализируют методом ВЭЖХ. В таблице 1 приведен химический состав пчелиного яда.

Т а б л и ц а 1

Химический состав пчелиного яда

(по Habermann с соавт., 1967-1985; Banks, Shipolini, 1986; Шкендерову, Иванову, 1985)

Класс веществ	Вещества	Содержание в яде, %	Молекул. масса
Белки (ферменты)	Гиалуронидаза	1-3	41000
	Фосфолипаза A ₂	10-12	20000
	Кислая фосфатаза	1	55000
	Альфа-глюкозидаза	0,6	170000
	Лизофосфолипаза	1	22000
Пептиды (полипептиды)	Мелитгин	40-50	12000 (тетрамер)
	Мелитгин F	0,01	
	Апамии	1-3	2000
	МСД-пептид (401-пептид)	1-2	2500
	Секалии	0,5-2	3000
	Тертиалии	1	2500
	Прокамины	1-3	600
	Кардиопеп	?	1940
	Адопалин	?	11000

Класс веществ	Вещества	Содержание в яде	Молекул. масса
Пептиды (полипептиды)	Протеазные ингибиторы	?	5800,8500
	Другие пептиды	13-15	менее 600
Биологически активные амины	Гистамин	0,5-2	150
	Допамин	0,2-1	150
	Норадреналин	0,1-0,5	150
Сахара	Глюкоза, фруктоза	2	180
Фосфолипиды		5	700
Свободные аминокислоты		1	700
Летучие вещества		4-8	200

БЕЛКИ ПЧЕЛИНОГО ЯДА

Фосфолипаза А₂. Относится к группе ферментов, осуществляющих расщепление жиров (липидов). Вообще эти ферменты (липазы) являются неотъемлемой частью животных организмов и содержатся в их тканях повсеместно — в клетках, в кишечнике и т.д. Так, поступающие в организм жиры пищи расщепляются липазами в кишечнике до глицерина и жирных кислот и в таком виде всасываются в ворсинках кишечника. Другие липазы — фосфолипазы, осуществляют расщепление фосфолипидов (фосфоглицеридов). Важно отметить, что фосфолипиды — основное вещество, из которого состоит оболочка (мембрана) клеток. Примерно 80% всех липидов, составляющих бислойную структуру мембран, — это фосфолипиды. Содержащиеся в клеточных органеллах — вакуолях, лизосомах и др. — фосфолипазы участвуют в обновлении тканей по мере их износа — путем разрушения отработанных, старых мембран.

Именно это свойство — разрушение клеточных мембран и проявляется главным образом при действии на организм фосфолипазы пчелиного яда. При этом фосфолипаза А₂ яда, в отличие от фосфолипаз А₁, В и Д, расщепляет эфирную связь глицерина и жирной кислоты во 2-ом положении, возможно, наиболее труднодоступном. Во всяком случае, известно, что при расщеплении жиров липазами связи 1 и 3-триацилглицерида гидролизуются быстро, и лишь потом идет медленный гидролиз 2-моноглицерида. Поэтому можно предположить, что при высоком содержании в яде (на втором месте после мелиттина) фосфолипаза А₂ весьма эффективно справляется с функцией разрушения мембраны клетки.

Габерманн и Нейман (1952-1965), впервые выделившие активный фермент из пчелиного яда, определили его содержание около 14% в расчете на высушенный яд. Позднее Шаполини с сотр. (1967-1972) установили, что фосфолипаза яда состоит из разных "субформ", различающихся по содержанию в них углеводов. Поэтому трудно дать точное определение молекулярной массы фермента. Как видно из таблицы, она варьирует, видимо, в зависимости от степени очистки, от 14000 до 20000 единиц (дальтонов). Тем не менее, Шаполини с сотрудниками установили, что фермент состоит из 128 аминокислотных остатков и установили их последовательность.

Фосфолипаза пчелиного яда является наиболее устойчивой из его ферментов. Она сохраняет свою активность при длительном хранении высушенного яда. Оптимальная ферментативная активность фосфолипазы в отношении фосфолипидов куриного яйца проявляется при рН 8,0. У фермента высокий температурный оптимум — 60-65°C.

Биологические свойства фосфолипазы яда обусловлены ее биохимической активностью. Кроме эффекта расщепления фосфолипида, фосфолипаза производит еще и триггерный эффект. Дело в том, что при разрыве эфирной связи жирной кислоты и глицерина образуется лизолецитин (лизофосфатидилхолин), обладающий сильными поверхностно-активными свойствами. Указанные свойства лизолецитина обеспечивают дальнейшую деструкцию мембран еще в большей мере, чем самой фосфолипазы. Это отметил еще Лангер (1897), добавляя лецитин куриного яйца в систему: пчелиный яд — кровь и наблюдая усиление гемолитической активности яда. Исходя из механизма действия фермента, можно объяснить многие эффекты токсического действия пчелиного яда на разные органы и ткани организма: разрушение мембран эритроцитов — гемолитическое действие; разрушение мембран органелл клеток — так как все они состоят из аналогичных внешней оболочке клетки мембран, бислои которых выполнены фосфолипидами, — нарушение клеточных функций; — нарушение свертывания крови — так как в составе факторов свертывания имеются фосфолипидсодержащие компоненты и т.д. Соответственно, например, повреждение мембран митохондрий приведет к нарушению окислительно-восстановительных процессов выработки энергии, повреждение структуры нервных окончаний приведет к нарушению выработки

и переноса медиаторов, т.е. нарушению проведения нервного импульса и т.д.

Возникшие под действием фосфолипазы нарушения на клеточном и субклеточном уровне приведут соответственно к нарушениям функций организма. Так, введение фосфолипазы под кожу вызывает местное воспаление, а внутривенное введение приводит к падению кровяного давления, отеку легких, кровоизлияниям в тканях.

Ввиду того, что фосфолипаза является высокомолекулярным чужеродным белком для организма, подвергнувшегося воздействию яда, она является сильным антигеном и аллергеном. Отсюда весьма значительное число случаев анафилактического шока при пчелиных укусах. У большинства укушенных пчелами людей в крови обнаруживается большое количество IgE антител с соответствующим уменьшением IgC (Hoffman et al., 1977; Kemeny et al., 1983).

Считается, что фосфолипаза A₂ из пчелиного яда является самой активной из фосфолипаз этой группы: она существенно активнее аналогичных фосфолипаз из змеиных ядов, превосходит активность фосфолипазы A₂ кишечника человека. В молекуле имеется 12 остатков цистеина, взаимосвязанных дисульфидными мостиками. Предполагается, что сульфгидрильные группы, имеющиеся в белках мембран клеток, реагируют с сульфгидрильными группами фермента и, таким образом, обеспечивается воздействие фосфолипазы на фосфолипиды мембран. При этом наибольшей восприимчивостью обладает внешний, гидрофильный полюс молекул фосфолипидов. Поэтому разрушение бислоя мембраны начинается с наружной стороны. Далее разрушительную работу продолжают и усиливают как образующиеся продукты (лизолецитин и др.), так и другие компоненты яда. Установлено, что добавление мелиттина в таких условиях резко повышает скорость разрушения мембраны клетки (Nabermann, 1980).

Гиалуронидаза. Биологическое назначение этого фермента пчелиного яда сводится к организации путей для токсических компонентов в направлении функциональных структур клеток и органов укушенного организма. В связи с этим собственная токсическая активность гиалуронидазы незначительна, если не считать аллергентных свойств, присущих ей как высокомолекулярному чужеродному агенту. Однако для проявления общего эффекта яда указанное назначение фермента в яде незаменимо. Дело в том, что межклеточное связывающее вещество, соединяющее клетки органов

между собой в единый остов, представляет собой вязкий гель высокополимеризованной гиалуроновой кислоты и протеогликанов — также полимерных веществ большой молекулярной массы, содержащих полисахариды, связанные с полипептидами. Вещества, в норме транспортируемые из кровеносных капилляров в клетки ткани, должны диффундировать через этот гель, который не препятствует прохождению небольших ионов, воды, глюкозы, аминокислот и т.п., но служит непроницаемым барьером для больших молекул, таких, как белки, пептиды.

Этот высокоструктурированный гель межклеточного вещества может быть разрушен ферментами — гиалуронидазами, расщепляющими связи гиалуроновой кислоты и протеогликанов. Такие ферменты эволюционно присутствуют у разных организмов и структур, жизненной необходимостью которых является проникновение в ткани инородного организма. Поэтому гиалуронидазы присутствуют у сперматозоидов, патогенных микроорганизмов, пиявок, змей, насекомых и др. В этом плане гиалуронидаза пчелиного яда является наиболее активным из известных ферментов этой группы. Интересно отметить, что в яде пчелиной матки, которой нет необходимости жалить млекопитающих, количество этого "фактора распространения" яда существенно ниже, чем в яде рабочих пчел.

Впервые выделивший гиалуронидазу Габерманн (1965), получил фермент, в 40 раз более активный, чем в нативном пчелином яде. Оказалось, что гиалуронидаза пчелиного яда по своим свойствам сходна с аналогичными ферментами, полученными из других источников. Однако оптимум действия фермента лежит в более кислой среде: 4,0-5,0. Фермент термоллабилен и при нагревании теряет свою активность. Стабильность его также невысока и снижается при хранении в обычных условиях. Это один из самых высокополимерных компонентов яда. Его молекулярная масса составляет 35000-41000 дальтонов, в зависимости от степени очистки от присоединенных к пептидной цепи молекулы углеводов (Ivanov et al., 1972; Kemeny et al., 1984). От степени очистки, а также от методов получения пчелиного яда зависит также и количество фермента. Оно составляет 1-3% от массы высушенного яда.

Таким образом, при ужалении и попадании яда в ткани организма млекопитающих гиалуронидаза, расщепляя высокомолекулярные структуры гиалуроновой кислоты и других полимеров соединительной ткани, "разжижает" гель межклеточного вещества и

тем самым снимает барьер для проникновения токсических компонентов яда к функциональным группам клеток.

В силу указанных причин препараты некоторых гиалуронидаз с успехом используются в медицине для рассасывания шрамов, рубцов при заживлении ран и ожогов кожи и слизистых поверхностей, так как рубцы и шрамы формируются соединительной тканью. С другой стороны, необходимо учитывать существенные аллергические свойства фермента. Возможно, именно гиалуронидаза способствует выработке сверхчувствительности к пчелиному яду определенной группы людей.

Кислая фосфатаза (фосфомоноэстераза), выделенная Вентон (1967), присутствует в яде в количестве около 1% и способствует разрушению фосфолипидов фосфолипазой A_2 . Она не разрушает аденозиновых фосфатов, но активно отщепляет фосфаты с 1 и 2 позициями у глицериновых и с 1 места – сахарных фосфатов. Фермент термоллабилен, его масса лежит в пределах 45000-90000, оптимум рН составляет 4-3, проявляет высокие антигенные свойства.

Альфа-гликозидаза содержится в яде в еще меньших количествах — 0,5%. Представляет собой гликопротеид и имеет самую большую молекулярную массу — 170000 (Шкендеров, 1974). Проявляет альфа-гликозидазную активность при температурном оптимуме 46°C. Является антигеном, однако не проявляет токсических свойств.

Лизофосфолипаза — еще один фермент пчелиного яда, работающий комплексно с другими фосфолипазами. Охарактеризован Шкендеровым, Ивановой (1982). Авторы установили, что фермент является гликопротеидом с молекулярной массой 22000 дальтонов. В аминокислотном составе не обнаружено цистина, метионина и тирозина. Фермент расщепляет лизолецитин. Он отщепляет единственную жирную кислоту, находящуюся на первом месте молекулы токсичного лизолецитина, превращая его в нетоксичное соединение. В условиях, когда лизолецитин образуется под влиянием фосфолипазы пчелиного яда, это действие лизолецитина можно определить как защитное, антитоксическое. Биологический смысл такого эффекта непонятен.

ПЕПТИДЫ ПЧЕЛИНОГО ЯДА

Пептидами называют сравнительно небольшие молекулы белковой природы с молекулярной массой условно до 5000. Этим они отличаются от собственно белков, молекулярная масса которых

варьирует от 5000-10000 до 1 млн. и более. Соответственно количество аминокислотных звеньев, из которых построены белки и пептиды, будет различно. У пептидов оно исчисляется единицами и десятками, тогда как у белков счет идет на десятки и сотни аминокислот. К пептидам относятся многие природные вещества с важными биологическими функциями, а также продукты расщепления белков. Как видно из таблицы о составе пчелиного яда, содержание в нем класса пептидов представлено достаточно широко. При этом одни пептиды составляют основную массу яда (мелиттин), другие (минорные) пептиды содержатся в минимальных количествах.

Мелиттин. В 1952 году Нейман и Габерманн методом электрофореза разделили белки пчелиного яда на две фракции. В первой фракции, более подвижной в направлении анода, был выявлен полипептид, непосредственно разрушающий эритроциты и вызывающий сокращение гладких мышц, впоследствии названный мелиттином --от видового названия пчелы — меллифера (медоносная). Авторы установили его содержание в яде в количестве 40-55% и определили его первичную структуру. Молекула пептида содержит 26 аминокислотных остатков, С-концевая карбоксильная группа его амидирована: Гли-Иле-Гли-Ала-Вал-Лей-Лиз-Вал-Лей-Тре-Тре-Гли-Лей-Про-Ала-Лей-Иле-Сер-Три-Иле-Лиз-Арг-Лиз-Арг-Гли-Гли-NH₂.

Из аминокислот, обычно составляющих белки, в составе мелиттина нет тирозина, фенилаланина, аспаргиновой кислоты, метионина, цистина. Мелиттин содержит только один остаток триптофана в положении 19. Такие особенности кроме всего могут делать пептид очень удобным для изучения в молекулярной биологии белок-липидных взаимодействий методами флуоресценции.

Характерной особенностью молекул мелиттина является отсутствие дисульфидных мостиков. Пептид обладает выраженными основными свойствами. Это обусловлено преобладанием основных аминокислот (2 лизина и 2 аргинина) против двух остатков глутаминовой кислоты, при этом с блокированными путем амидирования карбоксильными группами. В нативном яде мелиттин присутствует в двух формах: со свободной NH₂-группой (90%) и с NH₂-группой, замещенной на радикал муравьиной кислоты (10%). Аминокислотный состав мелиттина определяет его минимальную молекулярную массу в 3000 Да. Характерной особенностью пептида является неравномерное распределение гидрофобных и гидрофильных аминокислот. Большая часть — остатки 1-20 преимущественно

но гидрофобны, но в С-концевой области (21-26) расположен кластер гидрофильных положительно заряженных остатков (Лиз-Арг-Лиз-Арг). Такое строение обуславливает свойства мелиттина как катионного детергента и его высокую поверхностную активность.

Основное биологическое действие мелиттина связано со способностью нарушать структуру мембран. В частности, он вызывает лизис различных клеток и является сильным гемолитиком. Биосинтез мелиттина включает образование соответствующих предшественников — препромелиттина и промелиттина. Синтез мелиттина был осуществлен Шредером в 1971 году. Ныне свойства пептида хорошо изучены. Установлено, что особенностью поведения мелиттина в растворе является его способность к агрегации и образованию тетрамеров с соответствующей массой 12000 Да. Агрегации способствуют высокие концентрации пептида, а также повышение ионной силы раствора и его рН.

Мелиттин разрушает различные природные и искусственные мембраны, однако, в отличие от других лизирующих веществ (лизолецитин, детергенты и др.), в небольших концентрациях не вызывает растворения мембран полностью. В клетках образуются поры, сквозь которые высвобождается их содержимое, а мембраны (тени клеток) могут сохранять целостность (Габерманн, 1972 и др.). Действует мелиттин уже в концентрации 10^{-6} м. При этом образуются поры, через которые может происходить утечка не только ионов, но и макромолекул типа гемоглобина. Клеточная мембрана может быть устойчива к действию низких концентраций пептида, тогда как внутриклеточные органеллы, которых достиг мелиттин, (лизосомы, митохондрии и др.) могут быть разрушены.

В связи с относительной легкостью выделения пептида из ядасырца и его достаточными количествами сегодня изучены многие механизмы взаимодействия мелиттина с мембранами клеток — его пространственная ориентация на поверхности мембран, места локализации на участках бислоя, каналообразующие свойства, соотношение в процессе взаимодействия с фосфолипидами системы мономер — тетрамер и т.д. (см. список литературы). Не все они бесспорны, но проявляют многие эффекты действия как цельного яда, так и самого пептида на организм.

Запасаясь в ядовитом резервуаре железы, мелиттин в большой концентрации находится в виде тетрамера, причем спиральная форма тетрамера обеспечивает защиту гидрофобной поверхности от воды, и сама молекула не активна. При попадании в ткань, растворении в жидкостях организма тетрамер диссоциирует на мо-

номеры, которые и обеспечивают взаимодействие с фосфолипидами мембран (рис. 2). Амфифильная молекула пептида "заякоривается" в наружном слое мембраны благодаря электростатическим взаимодействиям С-основного конца и анионов фосфата фосфолипидов и производит "клиновое" вторжение в бислой липидов мембраны (Dawson et al., 1978). В этот момент может проявиться и еще одно важное свойство мелиттина — активация фосфолипазы А яда. Возможно, именно для ее проникновения к внутренним слоям мембраны, выполненным преимущественно фосфатидилхолином и т.д., такой клин и необходимо иметь для эффективного лизирования бислоя.

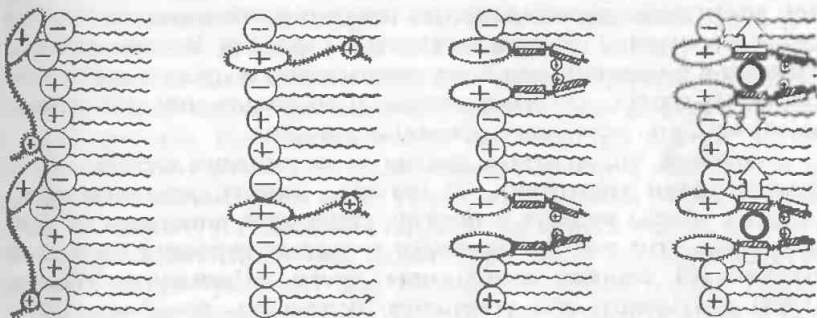


РИС. 2. Одна из моделей взаимодействия мелиттина с мембраной клетки.

В отличие от других литических агентов, мелиттин не вызывает полного растворения мембран: в клетках образуются поры, через которые высвобождается их содержимое, а мембраны (тени клеток) сохраняют свою целостность. "Клиновое" встраивание мелиттина в мембрану — ступенчатый процесс, основанный на взаимодействии электрически заряженных гидрофобных и гидрофильных группировок молекул мелиттина и участков мембраны

Физиологические и фармакологические эффекты мелиттина будут определяться теми субстратами, клетками, тканями, с которыми соприкасается этот пептид. Часть мелиттина, введенного под кожу, связывается с белками, липидами, мукополисахаридами подкожной клетчатки и соединительной ткани. С одной стороны, это существенно уменьшает токсичность пептида — установлено, что в этих условиях токсическая доза мелиттина в 15-20 раз выше, чем при внутривенном введении (Шкендеров, Иванов, 1985). Однако, с другой стороны, происходит лизис соединительнотканых клеток-фибробластов, тучных клеток. Это приводит к выбросу из клеток

лизосомальных ферментов, серотонина, гистамина. Активируется находящаяся во многих клетках собственная фосфолипаза А организма, которая запускает синтез простагландинов — производных полиеновых жирных кислот, содержащих циклические группы, являющихся мощными биологическими регуляторами. Установлено, что синтез простагландинов начинается с гидролиза фосфолипидов, содержащих арахидоновую кислоту, под действием клеточной фосфолипазы А₂. Кроме регуляторных свойств (тонус гладких мышц, иммунный статус и др.) простагландины являются факторами воспаления, пирогенами и т.д. Они же участвуют в развитии болевого эффекта. Все эти местные реакции, вызывающие воспалительную реакцию, приводят к расширению кровеносных сосудов, увеличению проницаемости капилляров, снижению кровяного давления, спазмам гладкой мускулатуры бронхов. Внешне это проявляется в возникновении боли, покраснения и отека в месте инъекции мелиттина. Антигистаминные и антисеротониновые средства значительно ослабляют указанные реакции.

Учитывая, что мелиттин реагирует со многими клеточными и неклеточными элементами, от которых зависят ферментативные реакции обмена веществ и энергии, становится понятным, почему нарушение этих реакций приводит к соответствующим эффектам. Нарушается процесс свертывания крови. Шкендеров, Иванов (1985) указывают, что угнетается активность тромбопластина, происходит денатурация фибриногена. Нарушение целостности структуры митохондрий и их связей с ферментами приводит к разобщению окислительного фосфорилирования — нарушается процесс использования и сохранения энергии клетки.

Выявлена способность мелиттина активировать гипофизарно-надпочечную систему. Эта активация проявляется гораздо позднее, чем при действии других стимуляторов этой системы. Учитывая, что гормоны надпочечников угнетают иммунные реакции, можно предполагать, что мелиттин будет угнетать иммунный ответ. Специальные исследования вышеупомянутых авторов показали, что клеточные суспензии селезенки мышей, обработанных мелиттином в дозе 100 мкг/кг, содержат в 4 раза меньше клеток, вырабатывающих иммунокомплемента по сравнению с суспензиями контрольных мышей. С этих позиций можно теоретически обосновать один из механизмов терапевтического эффекта пчелиного яда при лечении ревматических заболеваний. Считается, что в основе патогенеза подобных заболеваний лежат аутоиммунные процессы, и наиболее эффективны для их лечения противовоспалитель-

тельные и противоревматические средства, обладающие иммунодепрессивными свойствами.

Сам по себе мелиттин является слабым антигеном. Он может вызывать образование антител с низкой активностью, но это действие значительно слабее, чем действие ферментов яда. Однако есть данные, что мелиттин стимулирует иммунный ответ в отношении других антигенов.

Рассматривая противовоспалительные свойства мелиттина, как и другие терапевтические его качества, следует еще раз подчеркнуть, что большое значение имеет действующая доза или концентрация пептида. Так, Шкендеров, Иванов (1985) сообщают, что при лечении модельного воспаления, вызванного палочкой Коха, лучший терапевтический эффект был получен при небольших дозах мелиттина — 20 мкг/мл, чем при больших — 100 мкг/мл. Выясняя механизмы выявленного эффекта, авторы изучили устойчивость мембран клеточных лизосом к воздействию разных концентраций пептида. Было установлено, что мелиттин в дозах 0,05-2 мкг/мл повышал устойчивость лизосомных мембран лейкоцитов и печеночных клеток. Дозы выше 10 мкг/мл вызывали типичный для пептида эффект: устойчивость лизосом снижалась вплоть до полного их распада. Аналогично влиял мелиттин на тепловую денатурацию белков: усиливал при повышении концентрации (выше 30 мкг/мл), но уменьшал денатурацию при концентрациях ниже 5 мкг/мл. Таким образом, можно заключить, что в малых концентрациях и дозах мелиттин проявляет скорее мембраностабилизирующую активность, чем разрушительное действие. Возможно этим следует объяснять выраженное радиозащитное действие мелиттина, установленное в экспериментах на животных, подвергавшихся облучению в летальных дозах.

Другой аргумент в пользу малых доз может быть приведен при обсуждении вопроса об активации биосинтеза простагландинов под влиянием мелиттина, о чем говорилось выше. Установлено (Джонсон с соавт., 1981), что в результате стимулирования мелиттином системы, активирующей биосинтез простагландинов в артериальной стенке, там в несколько раз увеличивается количество простагландина--расширяющего кровеносные сосуды и понижающего свертываемость крови. По имеющимся сведениям, простагландины являются основными биологическими факторами, препятствующими атеросклеротическим изменениям кровеносных сосудов.

Из последних данных о физиологических эффектах мелиттина укажем на его влияние на эндотелийзависимые сосудистые реак-

ции. Показано, что мелиттин, взаимодействуя с мембраной клеток эндотелия кровеносных сосудов, может формировать проницаемые для ионов каналы и способствовать выделению из клеток эндотелия фактора расслабления гладкомышечных клеток сосудов (Busse et al., 1985).

Апамин. Как полагает Габерманн, впервые выделивший этот пептид (1964, 1965), несмотря на присутствие в яде в количестве не более 2%, апамин может обладать эффектами и скрытыми физиологическими возможностями в не меньшей мере, чем основной пептид — мелиттин, составляющий половину массы яда. Апамин — один из самых маленьких пептидов, он состоит всего из 18 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу 2039 Да. Сегодня структура апамина расшифрована (Haux et al. 1967; Shipolini et al., 1967; рис. 3).

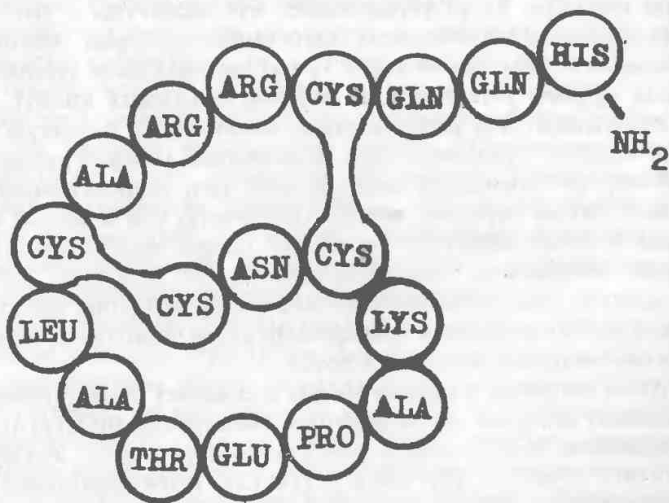


РИС. 3. Последовательность аминокислот и структура молекулы апамина

В отличие от мелиттина апамин имеет две дисульфидные связи, образованные цистеинами в положениях 3-15 и 1-11. В результате образуется достаточно жесткая структура, большая часть которой сформирована в L-спираль. В ряде лабораторий осуществлен синтез мелиттина, в том числе и в нашей стране (ин-т биоорганиче-

ской химии). В структуре апамина нет ничего характерного, что объясняло бы его специфические фармакологические свойства. Хотя можно предположить, что наличие свободных гуанидиновых групп остатков аргинина, специфически закрепленных в циклической структуре может влиять на эту специфичность.

Апамин не обладает гемолитическим действием, малоэффективен при воздействии на многие клетки млекопитающих. Однако обладает ярко выраженным действием на ряд постсинаптических мембран нервных клеток как в периферической, так и центральной нервной системе. Он обладает блокирующим эффектом на альфа-адренореактивные, холинэргические и пуриnergические рецепторы. Но наиболее ярко свойства пептида проявляются по отношению к кальцийзависимым калиевым проводимостям в мембранах клеток. Причем, если раньше это утверждалось только для нейронов (Lazdunski, 1983), то недавно показано и для других тканей (Владимирова, Шуба, 1978-1986).

В соответствии с названными свойствами апамин обладает способностью дезинтегрировать взаимосвязи между клетками, что приведет к нарушению их функций как ансамблей в организме. В наибольшей степени это проявляется в виде нарушения функции центральной нервной системы. При внутривенном введении животным в количестве 1-4 мг/кг у них появляются некоординированные движения конечностей, переходящие в судороги всего тела. Повышение двигательной активности у мышей продолжается, в зависимости от дозы пептида, 30-50 часов (Шкендеров, Иванов, 1985). Поражение ЦНС при введении животным в кровь облегчается тем, что пептид, имея малые размеры и своеобразную структуру, вполне свободно проникает через гематоэнцефалический барьер в мозговую ткань. Однако специфика апамина в отношении нейронов доказывается еще и тем, что только незначительная часть его попадает в мозг — большая же часть вместе с продуктами распада скапливается в почках. Габерманн, инъецируя апамин непосредственно в мозговые желудочки крыс, показал, что в этих условиях активность пептида возрастала в 1000-10000 раз! Таким образом, апамин является специфическим токсическим агентом для ЦНС, в ничтожно малых дозах вызывая возбуждение нейронов. При этом возбуждающая и судорожная активность в большей мере проявляется на уровне спинальных отделов ЦНС, чем на уровне головного мозга. Вышеупомянутый автор доказал сказанное, непосредственно вводя апамин в разные отделы ЦНС экспериментальных животных. Обсуждая пока малоизученный механизм ре-

акций организма на введение апамина, можно предположить, что инактивируя тормозные нейроны и синапсы в ЦНС, пептид опосредованно облегчает функции возбуждающих нейронов — повышается общая возбудимость, двигательная активность, вплоть до судорог.

Кроме того, опосредованное действие апамина на возбудимость ЦНС может быть обеспечено и другими агентами возбуждения. Так, Шкендеров, Иванов, измеряя уровень основных биогенных аминов, химических посредников передачи нейронной информации, показали, что после двухнедельного инъектирования крысам апамина в дозе 20 мкг/кг количество норадреналина, его предшественника дофамина и серотонина в мозгу увеличивалось в несколько раз. При исследовании влияния апамина на активность гипофизарно-надпочечниковой системы авторами обнаружено, что внутривенное введение кошкам 10 мкг/кг пептида приводило к быстрому увеличению в крови гормонов надпочечников — адреналина и кортизола. При этом уровень гормонов через час после введения увеличивался в 8-9 раз выше исходного.

Активация апамином функций ЦНС приводит к соответствующим изменениям вегетативных функций. Выброс в кровь биологически активных эндогенных агентов может существенно сдвигать целый ряд физиологических и патофизиологических процессов. Учитывая, что адреналин и кортизол, например, угнетают течение процесса воспаления, можно предположить, что апамин обеспечивает и противовоспалительную активность пчелиного яда. Последнее убедительно продемонстрировано вышеназванными авторами на моделях воспаления, вызванного подкожным инъектированием декстрина, серотонина, суспензии возбуждителя туберкулеза и др.

Изучение антигенных свойств апамина позволило заключить, что они выражены так же слабо, как и у мелиттина.

Обсуждая биологическое назначение в яде пчел апамина, следует еще раз обратить внимание на его специфическое блокирующее действие на кальцийактивируемые калиевые каналы мембран клеток, которые, как недавно выяснилось, широко распространены у беспозвоночных и позвоночных животных. Даже если распределение таких каналов равномерно в разных тканях, проникновение пептида в нервную ткань приведет к дезинтеграции регуляторных процессов в организме жертвы. Последними данными показано, что подобные каналы в большом количестве представлены в нервных клетках. Более того, оказалось, что некоторые рецепторы клеток в ЦНС не только имеют сродство к апамину, но и к нормально

существующему в организме апаминоподобному фактору (Fosset et al., 1984). Авторами показано, что апаминоподобный фактор, также как и апамин, разрушается ферментом трипсином, но не подвержен влиянию химотрипсина, блокирует следовую гиперполяризацию в культурах клеток, конкурирует с апамином за места связывания на синапсосомах мозга, взаимодействует с антителами к апамину. Таким образом, можно предположить, что структура пептида эволюционно настраивалась на известные места связывания с соответствующими рецепторами в ЦНС организма жертвы, конкурируя за них с имеющимися в организме посредниками и обеспечивая дезинтегрирующее действие.

МСД-пептид (пептид 401). Давно известно, что самым первым ответом организма на ужаление является выброс гистамина из клеток окружающей ткани. Это проявляется в виде покраснения, отека и боли. Сам по себе пчелиный яд содержит малое количество гистамина, и выброс эндогенного гистамина обеспечивается разрушением тучных клеток соединительной ткани известными литическими агентами яда — мелиттином и фосфолипазой А. В результате лизиса мембран клеток и цитоплазматических гранул секрет этих гранул, содержащий гистамин, гепарин, серотонин и другие вещества, выбрасывается в межклеточное пространство, приводя к названным эффектам. При изучении этих эффектов, а также выделения отдельных компонентов яда было установлено, что выброс секрета из тучных клеток может происходить и без их лизиса. Fredholm (1966) и Naberghann (1967) выделили и охарактеризовали такой компонент яда, назвав его МСД-пептидом (т.е. пептидом дегранулирующим тучные (мастоцитные) клетки). Позднее другие авторы и другими методами охарактеризовали пептид со сходными свойствами и структурой, дав ему порядковое название изученных в лаборатории пептидов — 401 (Vernon et al., 1969 и др.).

МСД-пептид состоит из 22 аминокислотных остатков с соответствующей молекулярной массой 2588. Проявляет ярко выраженные основные свойства (изоэлектрический оптимум рН 12), зависящие от наличия 9 основных аминокислот. С-конец молекулы амидирован. Обращает на себя внимание большое структурное свойство МСД-пептида с апамином. И в том и другом имеются две дисульфидные связи, их молекулы близки по своей длине, не содержат ароматических аминокислот, метионина, серина и треонина. Однако на этом сходство и кончается, так как физиологическая активность существенно различается. Так, апамин не оказывает действия на тучные клетки, а пептид 401 не влияет на нехолинергиче-

скую и неадренергическую нервную регуляцию гладких мышц и не дает нейротоксических эффектов при системном введении в организм. Его внутрижелудочковое введение крысам производит эффекты, если доза превышает таковые для апамина в 10 раз. Полагают, что различие в эффектах обеспечивается различием вторичной и третичной структуры пептидов.

По своей активности высвобождать биогенные амины из тучных клеток МСД-пептид значительно превосходит мелиттин и фосфолипазу А (в 10-100 раз). При этом механизм такой активности различен. Если фосфолипаза и мелиттин высвобождают секрет, разрушая клеточные и внутриклеточные мембраны, то МСД-пептид высвобождает гистамин из гранул тучных клеток посредством слияния гранул с клеточной мембраной, приводящего к экзоцитозу — содержимое гранул выбрасывается во внеклеточное пространство без лизиса тучных клеток. В этом плане пептид яда можно отнести к специфическим "гистамин-либераторам", типа синтетического соединения 4880.

Физиологические свойства пептида вытекают из его механизмов действия. Однако здесь много неясного. С одной стороны, понятны воспалительные реакции, возникающие сразу после ужаления: гистамин вызывает увеличение кровоснабжения в данном участке, увеличение проницаемости капилляров с соответствующим отеком и т.д. Здесь многое будет определяться тем, какие тучные клетки и каких тканей преимущественно будут вовлекаться в процесс. Например, показано, что мышцы нечувствительны к пептиду из-за того, что их тучные клетки не реагируют на него, в то же время, как у крыс симптомы интоксикации возникают уже при внутривенном введении 5 мг/кг из-за мощного выброса гистамина из тучных клеток. У человека дегрануляция тучных клеток во многом провоцирует аллергические реакции, такие как сенная лихорадка, астма, псориаз и др. Ясно, что действие пептида на организм человека может приводить к усилению указанных негативных реакций.

С другой стороны, открытие пептида 401 было установлено в условиях моделирования воспалительных реакций и угнетения этих реакций названным пептидом. То есть, воспалительное действие оказалось противоположным — противовоспалительным. Указанный парадокс трудно объяснить. Тем не менее, установлено, что на разных моделях воспаления пептид 401 обладает выраженным противовоспалительным действием. Billingham et al. (1969, 1973) установили, что на модели каррагининового воспаления лапы крыс пептид оказался в 100 раз активнее, чем известный проти-

скую и неадренергическую нервную регуляцию гладких мышц и не дает нейротоксических эффектов при системном введении в организм. Его внутрижелудочковое введение крысам производит эффекты, если доза превышает таковые для апамина в 10 раз. Полагают, что различие в эффектах обеспечивается различием вторичной и третичной структуры пептидов.

По своей активности высвобождать биогенные амины из тучных клеток МСД-пептид значительно превосходит мелиттин и фосфолипазу А (в 10-100 раз). При этом механизм такой активности различен. Если фосфолипаза и мелиттин высвобождают секрет, разрушая клеточные и внутриклеточные мембраны, то МСД-пептид высвобождает гистамин из гранул тучных клеток посредством слияния гранул с клеточной мембраной, приводящего к экзоцитозу — содержимое гранул выбрасывается во внеклеточное пространство без лизиса тучных клеток. В этом плане пептид яда можно отнести к специфическим "гистамин-либераторам", типа синтетического соединения 4880.

Физиологические свойства пептида вытекают из его механизмов действия. Однако здесь много неясного. С одной стороны, понятны воспалительные реакции, возникающие сразу после ужаления: гистамин вызывает увеличение кровоснабжения в данном участке, увеличение проницаемости капилляров с соответствующим отеком и т.д. Здесь многое будет определяться тем, какие тучные клетки и каких тканей преимущественно будут вовлекаться в процесс. Например, показано, что мышцы нечувствительны к пептиду из-за того, что их тучные клетки не реагируют на него, в то же время, как у крыс симптомы интоксикации возникают уже при внутривенном введении 5 мг/кг из-за мощного выброса гистамина из тучных клеток. У человека дегрануляция тучных клеток во многом провоцирует аллергические реакции, такие как сенная лихорадка, астма, псориаз и др. Ясно, что действие пептида на организм человека может приводить к усилению указанных негативных реакций.

С другой стороны, открытие пептида 401 было установлено в условиях моделирования воспалительных реакций и угнетения этих реакций названным пептидом. То есть, воспалительное действие оказалось противоположным — противовоспалительным. Указанный парадокс трудно объяснить. Тем не менее, установлено, что на разных моделях воспаления пептид 401 обладает выраженным противовоспалительным действием. Billingham et al. (1969, 1973) установили, что на модели каррагининового воспаления лапы крыс пептид оказался в 100 раз активнее, чем известный проти-

вовоспалительный агент гидрокортизон. При внутривенном введении пептида в дозе 200 мкг/кг он полностью снимал отек воспаленной лапы крыс, вызванный брадикинином, простагландином E, серотонином, каликреином и гистамином. Инъекцированный под кожу до моделирования воспаления, пептид 401 в дозе 3 мг/кг на 80% снижал воспалительный процесс в коленном суставе, вызванный введением скипидара.

Факты проявления противовоспалительной активности МСД-пептида интересны тем, что она не зависит от нейро-гормональной регуляции и проявляется на адреналэктомированных животных. Однако имеется определенная корреляция между проявлением противовоспалительной активности и дегрануляцией тучных клеток с высвобождением гистамина. Рядом авторов установлено, что при блокировании дегрануляции тучных клеток противовоспалительная активность МСД-пептида, впрочем, как и 48/80, уменьшается. В связи с этим Banks et al. (1985) полагают, что пептид не относится к естественным противовоспалительным агентам и не проявляет активности там, где нет высвобождения гистамина из тучных клеток. В соответствии с этим, вышеописанные эксперименты особенно хорошо воспроизводятся на крысах с их мощной реакцией гистаминоосвобождения на введение пептида и неэффективны на морских свинках, тучные клетки которых устойчивы к нему. Видимо, считают авторы, высвобождение гистамина под влиянием пептида является пусковым звеном пока еще неизвестного механизма противовоспалительного действия. Возможно, этот механизм работает на уровне эндотелия капилляров, препятствуя разрыхлению их стенки. Противоречие между воспалительным и противовоспалительным эффектами может быть разделено во времени и интенсивности воздействия пептида, определяемого вводимой дозой.

Оценивая участие МСД-пептида в суммарной картине противовоспалительного действия цельного яда, кроме известных цитолитиков — мелиттина и фосфолипазы, следует учесть, что в составе яда есть и другие компоненты, обладающие противовоспалительными свойствами. Кроме того, следует учитывать их потенцирующее друг друга действие. Так, Шкендеров, Иванов (1985), изучая МСД-пептид, загрязненный мелиттином, выявили, что для снятия воспалительной реакции крыс требовалась доза в 200 раз меньше, чем доза пептида 401.

Высокая противовоспалительная активность пептида, особенно при его комбинации с другими компонентами яда, своеобразный

механизм действия, отсутствие значимых аллергических реакций, делают МСД-пептид перспективным, научно обоснованным, лекарственным средством в ряду нестероидных противовоспалительных средств.

Другие пептиды пчелиного яда. Кроме вышеперечисленных в состав яда пчел входят и другие пептиды. Содержание их исчисляется долями процента и присутствие выявлено не у всех видов пчел. Один из них — *сексипин* — содержит, по данным разных авторов, от 22 до 25 аминокислотных остатков, с большим содержанием пролина и тирозином на N-конце, имеет один дисульфидный мостик. Неактивен в отношении млекопитающих. Другой — *тертиапин* — содержит 20 аминокислотных остатков с N-концевой группой аланином, подобно апамину имеет два дисульфидных мостика и, видимо, подобную структуру молекулы. Подобно секапину не обладает биологической активностью по отношению к млекопитающим, если не считать факта пресинаптического действия на нервно-мышечный препарат лягушки, где установлено его блокирующее нейромедиацию действие (Овчинников и др., 1980). Ряд небольших пептидов — *прокамины* — содержащих 5 аминокислотных остатков, выделен из яда канадской пчелы. Эти пептиды обладают уникальной особенностью — на C-конце к молекуле присоединен гистамин. Укажем, что такие гистаминсодержащие пептиды ранее в природных источниках не были известны, что может представлять большой интерес в плане использования таких агентов в физиологии и фармакологии. Ряд исследователей полагают, что именно такие пептиды могут опосредовать радиозащитный эффект пчелиного яда, установленный рядом авторов. Недавно выделено еще несколько пептидов с неустановленной еще структурой. Среди них — *минимин* — обладающий способностью тормозить нарастание массы тела личинок дрозофил, миниатюризируя их взрослые формы (отсюда — минимин), *кардиопен* — влияющий на препараты сердца животных и др. Сегодня считается, что указанный ряд пептидов присутствует в яде для поражения беспозвоночных животных, обычных врагов пчел и образуется из своих неактивных предшественников — протоксинов (Kreil, 1981). Автор полагает, что многие из указанных пептидов, включая мелитгин, секретируются ядовитой железой в неактивной форме в виде пептидов из 10-20 аминокислотных остатков и при активации разделяются

на небольшие активные пептиды. При этом, кроме перечисленных, образуются небольшие ди- и три- пептиды с невыявленной активностью.

При анализе противовоспалительных и обезболивающих свойств пчелиного яда Шкендеровым и др. (1982) был охарактеризован еще один пептид яда, названный авторами "адолапин" (от антидолор — противоболевой). Однако доказательство присутствия этого пептида проблематично. Во всяком случае, Banks с соавт. (1983), повторившие методики выделения болгарских исследователей, не обнаружили пептида, на основании чего предположили, что наблюдаемый противоболевой эффект принадлежал фосфолипазе А. Тем не менее, Шкендеров, Иванов (1985) указывают, что молекулярная масса адолапина составляет около 11000 Да, его полипептидная цепь состоит из 103 аминокислотных остатков, в ней нет цистеина, метионина, триптофана, а на N-конце находится глицин. Адолапин угнетает активность двух ключевых ферментов процесса воспаления — циклооксигеназу и липооксигеназу, тем самым угнетая синтез простагландинов. Адолапин снижает воспалительные свойства простагландинов E. Авторы указывают, что противовоспалительная активность различна в зависимости от моделируемого воспаления — лучшие эффекты достигаются при каррагениновом и простагландиновом, хуже при брадикининовом, серотониновом и гистаминовом воспалении. Выраженное болеутоляющее действие адолапина связывается с замедлением синтеза простагландинов E. Авторы делают заключение, что адолапин является новым классом фармакологически активных веществ — природных ингибиторов циклооксигеназы и липооксигеназы--пептидной природы с болеутоляющими свойствами.

Протеазные ингибиторы. Еще одна группа пептидов пчелиного яда, открытая сравнительно недавно (Шкендеров с соавт., 1973), принципиально отличается от вышеназванных пептидов по своему биологическому назначению. Дело в том, что в тканях животных организмов наряду с ферментами обычно присутствуют и ингибиторы этих ферментов — видимо, для авторегуляции активности ферментов в процессе обмена веществ (как сдерживающий фактор). Целесообразность присутствия протеазных ингибиторов в змеиных ядах, показанного Takachashi et al. (1972) также объяснима с позиции сохранения активности протеолитических ферментов ядов змей в ядовитых железах. Присутствие же таких ингибиторов в пчелином яде, в котором отсутствуют протеолитические фермен-

ты, заставляет предположить, что они предназначены для защиты белковых и пептидных компонентов яда при его попадании в ткани организма жертвы — от разрушительного действия тканевых протеаз. Болгарскими исследователями выделены два ингибитора, угнетающих активность трипсина, химотрипсина, плазмина, тромбина и др. протеолитических ферментов. Авторы указывают, что широкий спектр протеазного действия ингибиторов пчелиного яда делает их похожими на поливалентный ингибитор из органов крупного рогатого скота, применяемый в медицине как эффективное средство при лечении острых панкреатитов, фибринолиза, шоковых состояний.

Установлена противовоспалительная активность ингибиторов протеаз. Полагают, что такая активность может быть обусловлена угнетением активности ряда протеаз, участвующих в воспалительном процессе. Протеазные ингибиторы пчелиного яда также обладают выраженной противовоспалительной активностью, установленной авторами на разных моделях воспаления.

Один из ингибиторов представляет собой полипептидную цепь из 52 аминокислот с большим количеством аргинина и лизина, что определяет основные свойства пептида.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ АМИНЫ

Кроме белков и пептидов, составляющих основную массу секрета ядовитых желез пчел, в пчелином яде содержатся множество низкомолекулярных соединений. Наиболее значимые из них — биологически активные амины — гистамин, серотонин, допамин, норадrenalин. Эти вещества участвуют во многих процессах организма, но наиболее важная их функция — обеспечение межклеточного взаимодействия. Только благодаря такому взаимодействию возможны реакции возбуждения и торможения в нервной системе.

Гистамин. Один из наиболее важных и постоянных компонентов пчелиного яда. Как уже было отмечено, его содержание в ядовитом резервуаре железы увеличивается с возрастом пчелы. При попадании в организм млекопитающих гистамин вызывает болевой эффект ужаления. При этом необходимо суммировать эффекты не только гистамина яда, но и гистамина, выделяющегося из тучных клеток подкожной клетчатки под действием мелиттина, МСД-пептида и фосфолипазы А. Гистамин обладает свойством расширять кровеносные сосуды и увеличивать проницаемость их стенок. В соответствии с этим гистамин яда, также, как и МСД-пептид,

можно отнести к факторам распространения яда в организме. Вместе с тем, повышение уровня гистамина приводит к возрастанию других физиологических веществ организма — простагландинов, серотонина, адреналина и др., которые приводят к существенной перестройке состояния организма, в частности, его возбуждению, стрессовому состоянию. Возможно, именно эта совокупность реакций на ужаление — рефлекторная на боль и возрастание уровня ФАВ приводят к стойкому повышению активности гипофизарно-надпочечниковой системы.

Катехоламины яда — допамин и норадреналин содержатся в яде в очень незначительных количествах, чтобы производить эффекты на организм млекопитающих. Однако их уровень при попадании в гемолимфу (внутреннюю среду) повседневных врагов—членистоногих, видимо, достаточен, чтобы вызвать необходимые эффекты. Следует отметить, что и допамин, и норадреналин являются обычными посредниками в межклеточных взаимодействиях насекомых, межнейронной передачи информации. Таким образом может производиться дезинтеграция функции ЦНС членистоногих с нарушением важнейших функций организма. Показано, что сравнимое с ужалением повышение указанных катехоламинов в гемолимфе насекомых, приводит к повышению частоты сердечных сокращений (Owen, 1977). На этом примере видно, что, с одной стороны, компоненты яда, в данном случае катехоламины, производят непосредственный нейротоксический эффект, а с другой — опосредованно, за счет усиления лимфообращения (или кровообращения) способствуют распространению основных компонентов яда в организме.

Летучие вещества яда (аттрактанты, феромоны). Эти вещества, выделяющиеся в момент ужаления, не обнаруживаются в коммерческих препаратах яда. Таких соединений обнаружено в нативном яде около 20, часть из них охарактеризована (Collins et al., 1982). 4 летучих соединения обладают выраженной активностью в произведении реакции тревоги, видимо, из-за небольшой молекулярной массы, соответственно, высокой летучестью по сравнению с остальными — высокомолекулярными.

Фармакологические эффекты главных компонентов пчелиного яда
(по Haberhann, 1972)

Эффект	Гистамин	Мелитин	Апамин	МСД-пептид	Гиалуро-нидаза	Фосфолипаза А
Токсичность (мг/кг)*	192-445	4	4	40	0	7,5
Местная боль	++	++	н/и	н/и	0	н/и
Увеличение проницаемости	++	++	+	++	+	+
Повреждение клеточных мембран	0	++	н/и	+	0	+
"Прямой" гемолиз	0	++	0	0	0	0
"Непрямой" гемолиз	0	0	0	0	0	++
Высвобождение гистамина	0	++	0	++	0	+
Влияние на кровообращение	++	++	0	+	0	+
Влияние на центральную нервную систему	0	+	++	0	0	+
Влияние на гладкие мышцы	++	++	н/и	н/и	0	+
Влияние на свертываемость крови	0	+	н/и	н/и	0	+
Антигенная активность	0	0	0	0	++	++
Эффект распространения яда	0	0	0	0	++	0

Примечание: ++ — сильное действие; + — заметное действие; н/и — не изучено; 0 — не обнаружено.

* — общая токсичность для мышей при внутривенном введении вещества яда.

2. ДЕЙСТВИЕ ПЧЕЛИНОГО ЯДА НА ОРГАНИЗМ

2.1. ОБЩИЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА НА ВВЕДЕНИЕ ЯДА

Сначала рассмотрим действие яда по своему прямому назначению — отравляющее, токсическое. Сразу следует признать закономерным, что картина отравления животных или человека будет зависеть (исключая случаи сверхчувствительности — идиосинкразии, приводящей к анафилактическому шоку, описанной в дальнейшем) от введенной дозы яда, места и способа введения. Клиническая картина отравления человека при нападении пчел будет, соответственно, зависеть от количества одновременных ужалений, места внедрения яда, состояния потерпевшего.

Разными авторами и в разное время описаны наблюдения и исследования токсического воздействия яда на организм (Лангер, 1898, Арнос, 1919, Артемов, 1949, Пигулевский, 1961 и др.). Суммируя их данные, следует заключить, что общее действие яда можно описать как нейротоксическое, геморрагическое и гемолитическое (таб. 2). Разрушение клеток красной крови — гемолиз, можно легко воспроизвести в пробирке, добавляя в кровь ничтожное количество пчелиного яда. В целостном организме это проявляется резким падением содержания гемоглобина и его выделения почками — гемоглобинурией. Геморрагическое действие доказывается на вскрытии животных, подвергнувшихся токсическому действию яда — кровоизлияния в легких, слизистых оболочках кишечного тракта. Нейротоксический эффект проявляется в виде развивающихся во времени судорог скелетной мускулатуры с последующими параличами. При регистрации основных функций организма можно добавить к названной картине падение кровяного давления, изменение ритма сердечбиений с возникновением аритмий, затруднение дыхания из-за спазмов гладкой мускулатуры воздухоносных путей и угнетения дыхательного центра.

У человека в момент ужаления возникает жгучая боль, потом в месте ужаления возникает краснота и припухлость. Обычно местная реакция держится несколько часов или суток, после чего проходит бесследно. Прекращается болевое ощущение, затем проходит краснота и спадает отек. Иногда остается некроз эпидермиса в месте внедрения жала с последующим отторжением мертвой ткани. Наиболее тяжелые местные явления интоксикации возникают при ужалении в слизистые оболочки, кожу лица, глаза. В медицинской литературе имеется ряд сообщений об ужалениях пчелами в слизи-

стые рта, которые приводили к отску дыхательных путей и смерти из-за возникающего удушья.

Общие явления интоксикации возникают вследствие распространения яда в организме. При большом количестве укушений они проявляются в виде учащенного пульса, стеснения грудной клетки, спазмов гортани, 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. Анализируя клиническую симптоматику при множественных укушениях людей, Пигулевский (1975) приходит к выводу, что яд пчел поражает задний мозг, и в меньшей степени — премоторную зону и другие отделы центральной нервной системы. При этом автор считает, что чем короче путь достижения мозга по кровеносной системе, тем опасней действие яда. При патологоанатомическом анализе погибших от пчелиных укушений отмечается гипоксия мозговой ткани и нормальная структура сердечной мышцы.

Как указывалось выше, чувствительность организма человека к пчелиному яду сильно различается. Обычно 1-10 укушений одновременно человек переносит без проявления общих симптомов, отвечая лишь местной реакцией. При 200-400 укушениях люди уже серьезно поражаются ядом с развитием симптомов общей интоксикации. Считается, что 500 укушений одновременно приводят к смертельному исходу. Во всяком случае, описаны многочисленные случаи гибели людей, получивших 500-1000 укушений.

Кроме пчелиного яда, попавшего в организм, необходимо учитывать и ряд других факторов, определяющих конечную картину отравления. Так, можно предположить, что само количество яда и его состав будет зависеть от вида пчелы, ее возраста, времени года и др. С другой стороны, состояние организма человека в момент укушения 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 укушения лица, страдающие сердечно-сосудистыми расстройствами, расстройствами вегетативной нервной системы, почечными заболеваниями. Тяжелые инфекционные заболева-

ния, приводящие к ослаблению организма, повышают его чувствительность к пчелиному яду.

Имеются и другие факторы, ослабляющие сопротивляемость организма вообще, соответственно, повышающие чувствительность к укушениям пчел. Например, как справедливо считал Бек (1935), сильная жара обостряет действие пчелиного яда, т.к. ослабляет сердечную деятельность и ускоряет всасывание яда тканями.

Однако состояние организма человека может быть и таким, когда идущий патологический процесс может, наоборот, ослаблять чувствительность к пчелиному яду. Известно, что ревматики почти не реагируют на пчелиные укушения, так же как и люди в состоянии алкогольного опьянения. Не случайно алкоголь иногда оказывается хорошим лечебным средством при укушениях.

Развивая положение, что в некоторых случаях укушения не производят вреда для организма, можно теперь рассмотреть случаи, когда пчелоукушения, произведенные на фоне той или иной патологии, не только не наносят вреда, но и производят лечебное действие.

Ниже мы подробно рассмотрим примеры применения пчелиного яда для лечения тех или иных заболеваний. Сейчас же целесообразно принципиально ответить на вопрос, почему пчелиный яд из оружия поражения может стать средством, предупреждающим или снимающим течение ряда патофизиологических процессов в организме.

В этом плане мы должны отметить, что для терапии многих заболеваний человека используются и другие яды, и не только животные, а, например, растительные алкалоиды, антибиотики. Почему природные вещества в ряде случаев являются единственными эффективными лекарственными средствами? Полагают, что в процессе эволюции организм человека, постоянно сталкиваясь с ядовитыми веществами, попадающими в организм через рот или иным путем, выработал в результате естественного отбора эффективные защитные механизмы противодействия этим веществам. Именно на таком понимании взаимодействия организма человека и пчелиного яда строит свою теорию, объясняющую эффективность лечебного применения пчелиного яда, проф. Н.М. Артемов (1958). Укажем, что данная теория является продолжением и развитием теории адаптации организма к изменяющейся среде, вклад в которую внесли и Дарвин, и Павлов, и Кеннон и Селье, и принята многими практиками-апитерапевтами, т.к. вполне удовлетвори-

тельно объясняет действие пчелиного яда как лекарства. Остановимся на рассуждениях автора подробнее.

Как выше было выявлено, наиболее эффективное действие пчелиный яд оказывает на млекопитающих, и были вскрыты причины такой восприимчивости. Яд совершенствовался в плане наибольшей эффективности поражения интегрирующих систем и органов именно млекопитающих. Однако, с другой стороны, это привело к развитию в организме млекопитающих таких реакций, которые позволяли ему эффективно защищаться от токсического действия яда. В соответствии с теорией естественного отбора преимущество перед другими приобретали те организмы, которые в ответ на действие яда успешно справлялись с отравлением, мобилизуя свои защитные силы. Так, в процессе эволюции пчелиный яд превратился в естественный и специальный раздражитель, мобилизующий защитные реакции, выработанные организмом для борьбы с разнообразными повреждающими факторами внешней среды. Пчелиный яд — очень сильный специальный раздражитель, он в минимальном количестве вызывает развитие типичной защитной реакции, которую могут вызвать только такие мощные воздействия, как тяжелая травма, ожог, бактериальные токсины и др.

Вместе с тем, как указывал еще И.П. Павлов "... чрезвычайные раздражители, являющиеся в качестве болезнетворных причин, представляют собою специфические раздражители тех защитительных приборов организма, которые назначены для борьбы с соответствующими болезнетворными причинами. Мы думаем, что это представление должно быть обобщено на все случаи болезни, и в этом кроется общий механизм приспособлений организма вообще при встрече с патогенными условиями, совершенно подобно тому, как нормальный, сочетанный и приспособительный ход жизни имеет в своем основании специфическое раздражение того или другого аппарата". (И.П. Павлов. Полн. собр. трудов, т.2, 1946, с.350).

Сходные идеи развивали Кеннон (1946), Селье (1946). Из их мировоззрений следует, что в ответ на длительное воздействие любого повреждающего агента в организме развивается общий синдром адаптации, который формируется из трех основных стадий: реакции тревоги, стадии резистентности, в результате которых мобилизуются защитные силы организма и приобретает устойчивость к повреждающему действию, и стадия истощения защитных сил. При этом важнейшее значение мобилизации защитных сил организма Селье придает активации секреции гипофизарно-надпочечниковой системы.

Если проанализировать симптомы отравления пчелиным ядом, то можно прийти к выводу, что они практически совпадают с картиной общего синдрома адаптации. Суммируя данные разных исследователей, изучавших реакции животных при воздействии больших, но не смертельных доз пчелиного яда, можно описать симптомы, характеризующие первую стадию — реакцию тревоги: падение веса, гипотермия с последующим повышением температуры, снижение кровяного давления, геморрагии, спущение, а затем разжижение крови с характерными сдвигами в лейкоцитарной формуле, увеличение проницаемости капилляров, снижение, а потом увеличение диуреза, повышение уровня секретов надпочечников и т.д.

Вторая стадия общего синдрома адаптации — стадия резистентности, создающая устойчивость организма к повреждающему действию яда, складывается из многих составляющих мобилизации защитных сил организма. Эта реакция протекает на разных "этажах" организма и затрагивает изменение активности ряда органов и систем. Сюда вовлекается и нервная, и гуморальная, и сердечно-сосудистая, и иммунная система организма. Разумеется, повышение функциональной активности указанных систем повышает устойчивость организма к воздействию яда за счет многих компонентов: компоненты яда инактивируются путем связывания элементами крови, соединительной ткани, выведения из кровотока почками, усиленной выработкой ферментов, разрушающих яд или стимулирующих обменные процессы, направленные на восстановление нарушенных структур и функций пораженных элементов органов, тканей и т.д.

Если быть последовательным, то следует отметить, что выше названные реакции, в конце концов, истощаются и, если повреждающий фактор продолжает действовать, наступают деструктивные изменения систем с выключением жизненных функций. Чаще всего при смертельных отравлениях пчелиным ядом выключается важнейшая функция нервной системы — автоматия дыхательного центра.

Однако чаще всего организм справляется с повреждающим фактором в виде того или иного количества пчелиных укусов. Т.е. организм адаптируется к нему и в конечном итоге от самого фактора не остается и следа. Однако произведенная в организме перестройка систем не прошла бесследно. В результате эволюционно выработанных механизмов адаптации вышеописанные реакции активации защитных сил организма мобилизуются с большим за-

пасом, значительно большим, чем необходимо для защиты от повреждающего фактора. Можно предположить, что такой фактор, действуя в минимальных количествах, рождает в организме мощную "бурю" реакций, результаты деятельности которых будут проявляться еще долго после того, как повреждающий фактор полностью инактивирован.

Теперь вычленим главное. В результате воздействия малых доз пчелиного яда в организме мобилизован целый арсенал защитных сил, который активирован продолжительное время, независимо от того, исчез повреждающий агент или нет. Но как мы обосновали выше, эти защитные силы специфичны не только для защиты от пчелиного яда, но и от других повреждающих факторов, т.е. они могут быть неспецифичными. В соответствии с этим, при наличии в организме определенных заболеваний — повреждающих факторов, мобилизованные и неизрасходованные факторы защиты могут продолжать свою работу в том же направлении — защита организма, но уже от имеющихся в наличии тех или иных повреждающих факторов.

Таким образом, пчелиный яд запускает целую систему неспецифической защиты организма, которая может эффективно воздействовать на тот или иной патологический процесс, идущий в организме. Однако не следует делать вывод, что реакции настолько неспецифичны, что могут воздействовать на все болезнетворные причины. Пчелиный яд, являясь сильным раздражителем, в то же время несет определенную специфичность активирования защитных сил.

Такая специфичность определяется всем ходом многовекового приспособления реакций организма к столь же длительному подбору действующих компонентов яда, направленных на поражение определенных интегрирующих систем.

Чтобы ответить на вопросы, какие системы и как реагируют на внедрение пчелиного яда в организм, целесообразно рассмотреть эти процессы более детально.

2.2. ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ КРОВИ

Кровь как соединительная ткань одной из первых вступает в борьбу с внедрившимся ядом. В месте ужаления развивается типичная воспалительная реакция, направленная на инактивацию антигена — чужеродного для организма вещества. Укажем, что под кожей располагается многослойный комплекс из лимфоидных, туч-

ных и других соединительнотканых клеток — по выражению Петрова с соавт. (1991), "отряд передового базирования" иммунной системы, эволюционно сосредоточенный в пограничных областях, т.е. там, где имеют место постоянные попытки вторжения чужеродных веществ и организмов из окружающей среды.

В результате вокруг очага внедрившегося яда создается мощный защитный вал из подвижных клеточных элементов, перекрывающий распространение агента повреждения. Продукты, выделяющиеся из тучных клеток, лимфоцитов, базофильных лимфоцитов — гистамин, серотонин, брадикинин и др. организуют повышение кровоснабжения данного участка, его инфильтрации жидкостью из кровеносных сосудов с увеличенной проницаемостью стенок. В результате возникает отек с соответствующим разбавлением концентрации токсических начал яда и усиленным проникновением из кровотока новых элементов, способных инактивировать внедрившийся агент. Благодаря этим реакциям, с одной стороны, задерживается распространение яда в ткани, а с другой — интенсифицируется процесс инактивации токсина.

При одиночном или нескольких ужалениях, соответственно, при малых количествах попавшего в ткани яда, этих реакций обычно хватает, чтобы полностью локализовать и инактивировать активные начала. При этом яд может сохраняться в активном виде в полости, образованной разрушенными клеточными элементами, непосредственно соприкасающимися с жалом и окружающей непроницаемым барьером из лимфоидных элементов соединительной ткани. Так, еще Лангер (1898) описал, что ему удалось извлечь из канала, образованного жалом, активный пчелиный яд через несколько дней после ужаления.

Однако при увеличении количества введенного яда, благодаря факторам распространения яда — гиалуронидазе, МСД-пептиду и другим, активные компоненты проникают в кровоток и приходят в непосредственное соприкосновение с кровью. Анализ изменений картины крови при действии пчелиного яда проводился разными авторами — физиологами Нижегородского университета (Артемов, Калинина, Киреева, Конькова, Омаров, Дворцова и др., 1939-1991), а также зарубежными исследователями (Habermann, 1972 и др.). Суммируя результаты, полученные авторами, следует заключить, что на разных животных (крысы, мыши, хомяки, кролики, собаки и т.д.) и разных способах введения яда (ужаления, введение растворов подкожно, внутримышечно, внутривенно) пчелиный яд в широком диапазоне доз (кроме смертельных) оказывает, за не-

многими исключениями, однотипное воздействие. Со стороны красной крови это выражается в первоначальном эритроцитозе и повышении содержания гемоглобина, с последующим снижением этих показателей, а затем восстановлением до исходного уровня. Так, при подкожном введении мышам повышение содержания эритроцитов и гемоглобина крови регистрировалось через 2-5 часов после введения. Вторая, анемическая фаза продолжалась 2-4 суток с последующим восстановлением в течение 1-2 недель. Анализируя причины возникновения эритроцитоза в первую фазу действия яда, авторы приходят к выводу, что это может быть следствием уменьшения объема жидкой части крови, соответственно, сгущением крови из-за выхода плазмы из сосудистого русла. Последнее связано с повышением проницаемости капилляров, установленным разными методами. Предположение о том, что эритроцитоз связан с дополнительным выбросом кровяных клеток из депо — селезенки, не подтверждается, т.к. возникает и у животных с предварительно удаленной селезенкой. В то же время установлено, что в картине крови в этот период регистрируется повышенное содержание ретикулоцитов. Последний факт может быть свидетельством усиления эритропоэза — повышением функции кроветворения в костном мозге.

Вторая, анемическая фаза действия яда на кровь связана с прямым действием на эритроциты, т.е. их гемолизом с соответствующим разжижением крови. В эту фазу выявлена эритропения, снижение гематокрита. Одновременно снижается интенсивность гликолиза, проявляющаяся в уменьшении активности гексокиназы и понижении уровня органических фосфатов (2, 3-ДФГ, АТФ). Увеличивается кислородосвязывающая способность гемоглобина, уменьшается устойчивость эритроцитов к кислотному лизису. Все названные показатели свидетельствуют о существенном нарушении функциональной и структурной функции красной крови. Это неудивительно, т.к. выше мы уже отмечали, какое влияние оказывают мембраноактивные компоненты яда — мелиттин, фосфолипаза яда на эритроциты. При продолжающейся агрессии в кровеносное русло эти вещества, перфорируя мембраны эритроцитов, нарушают и структуру клеточных органелл и функции эритроцитов. Ясно, что вторая фаза отчетливо проявляется лишь при значительных действующих дозах яда и не выражена при единичных ужалениях, или введении аналогичных доз.

При анализе изменений белой крови выявлено, что она изменяется не так однотипно у разных животных, как красная кровь, но

преимущественно после кратковременного снижения общего количества лейкоцитов в дальнейшем их количество существенно возрастает. У мышей через 24 часа после введения умеренных доз яда лейкоцитоз составлял 138%, а у кроликов после введения пчелиного яда или мелиттина внутривенно через 3 суток количество лейкоцитов в 2 раза превышало их уровень до введения яда (Бажуткина, 1976). В этот период наблюдалось повышение относительного и абсолютного количества нейтрофилов. При этом происходил левый ядерный сдвиг, и в периферической крови появлялось значительное количество палочкоядерных нейтрофилов. В дальнейшем происходит снижение процента нейтрофилов, но одновременно возрастает число лимфоцитов. Что касается эозинофилов, то они практически исчезают из периферической крови и появляются вновь в конце фазы восстановления.

Относительно третьей группы клеточных элементов крови — тромбоцитов, показано, что после введения яда и на протяжении всего последующего времени отмечается падение их количества. Например, после введения кроликам мелиттина через 1-1,5 часа оставалось только 30% тромбоцитов по сравнению с исходным количеством. Из выявленной картины становится ясно, что резкое снижение количества тромбоцитов должно привести к изменениям свертывания крови, а, учитывая, что проницаемость сосудистой стенки в этот период повышена, то и к выходу жидкой части крови за пределы сосудов.

То, что проницаемость кровеносных капилляров при введении животным пчелиного яда повышается, следует из опытов, в которых установлено снижение белка в сыворотке крови крыс и кроликов (Киреева, 1961). Это понижение вполне коррелирует со скоростью рассасывания флюоресцина, введенного под кожу.

Таким образом, кровотоочимость капилляров объясняется, с одной стороны, структурными изменениями стенки сосудов. С другой стороны, сама кровь становится более текучей из-за нарушения функции свертывающей системы. Далее известно, что как внутривенное, так и подкожное введение пчелиного яда увеличивает общее время свертывания крови. Наиболее полно изучил вопросы свертывания крови экспериментальных животных Омаров (1969-1990). Автор установил, что общее время свертывания крови увеличивается под влиянием как цельного яда, так и основных компонентов — мелиттина и фосфолипазы А. Полученные автором данные свидетельствуют, что антикоагулянтный эффект пчелиного яда и его компонентов весьма многообразен. С одной сто-

роны, его можно рассматривать как антикоагулянт прямого действия, а с другой — он опосредованно влияет на процесс свертывания при участии физиологических инактиваторов гемостаза, выделяющихся из тканей под влиянием яда. Пчелиный яд принимает участие почти на всех этапах процесса гемостаза. Он нарушает процесс тромбоцитобразования путем инактивации факторов II, V, VII, IX, X, инактивирует образовавшийся тромбопластин, активирует систему фибринолиза на этапе превращения плазминогена в плазмин. Было обнаружено, что активный яд вызывает подавление процесса агрегации тромбоцитов. Интересно отметить, что в отличие от цельного яда, использование мелиттина или фосфолипазы А приводило к активации процесса агрегации кровяных пластинок при действии в высоких дозах. Артемовым (1969) установлено, что изменения в свертывании могут происходить и рефлекторным путем.

2.3. НЕЙРОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЯДА

Как видно из вышеприведенных данных о биологической эволюции пчел, нейротропные свойства пчелиного яда при воздействии на организм должны проявляться в первую очередь. Это показано на всех группах животных — от членистоногих до млекопитающих. В конечном итоге, при ужалении членистоногих или мелких позвоночных животных, у них развивается общий паралич с последующей гибелью в результате выпадения той или иной жизненно важной функции. У млекопитающих, как крупных и высокоорганизованных животных, нейротропное действие яда маскируется мощными адаптивными реакциями, направленными на устранение повреждающего фактора. Тем не менее, симптомы отравления пчелиным ядом достаточно четко характеризуют его нейротропное действие. Даже те вышеописанные реакции сердечно-сосудистой системы, системы крови и др. во многом развиваются опосредованно, за счет изменения регулирующих функций нервной системы. Рассмотрим действие пчелиного яда на нервную систему более подробно.

Из литературных и собственных данных следует постулировать, что все уровни нервной системы так или иначе подвержены воздействию яда. Это показано как при разных способах введения яда и методах анализа, так и при непосредственном воздействии на те или иные нервные структуры. При попадании яда в организм первыми реагируют на него наиболее возбудимые структуры пери-

ферической нервной системы — хеморецепторы. Экспериментальные материалы свидетельствуют о мощном рефлекторном действии пчелиного яда (Корнева, 1970). Показано, что попадая в организм, яд возбуждает хеморецепторы различных рефлексогенных зон (рефлексогенная зона сердца, синокаротидная и кишечная рефлексогенные зоны), что приводит к изменению потоков информации, направляющихся по соответствующим афферентным путям в центральную нервную систему. В результате этого в ЦНС формируются сложные цепи приспособительных реакций, направленных на противодействие токсическому фактору. Результаты таких реакций мы приводили выше в виде изменения состояния сердечно-сосудистой системы, системы свертывания крови, обмена веществ и самой нервной системы.

Следующими структурами вслед за хеморецепторами, реагирующими на пчелиный яд и его компоненты, являются, по всей видимости, синапсы — образования, в которых происходит межклеточная передача информации. При этом менее чувствительными являются, в отличие от действия змеиных ядов, синапсы нервно-мышечной передачи возбуждения. Установлен лишь слабый курареподобный эффект яда при действии токсических доз пчелиного яда (Артемов с соавт., 1964), мелиттина (Haber mann, 1972). Гораздо более чувствительными к действию яда оказываются синапсы вегетативной нервной системы — системы, обеспечивающей регуляцию функций внутренних органов. Установлено, что как при системном введении, так и при непосредственном воздействии пчелиный яд после кратковременного повышения возбудимости симпатических ганглиев в дальнейшем угнетает их функцию и приводит к блокированию передачи возбуждения по вегетативным нервным путям (Артемов с соавт., 1961; Сергеева, 1965, 1969; Neuman, Haber mann, 1952). Блокирование проведения возбуждения в вегетативных синапсах, — ганглиоблокирующий эффект яда происходит из-за непосредственного воздействия компонентов яда на пре- и постсинаптические мембраны нервных клеток (Сергеева, 1969). Установлено, что мелиттин сам по себе или потенцированный фосфолипазой А обладает деполаризующим действием на возбудимые мембраны (Schuan Lin et al., 1975). Вместе с функциональными изменениями нейроны подвергаются и морфологическим изменениям. В частности, воздействие цельного яда и мелиттина на изолированный нервный ствол лягушки приводит, согласно электроон-

но-микроскопическим исследованиям, к разрушению эпиневрия и миелиновой оболочки, шванновских клеток и безмиелиновых волокон (Орлов, Черепнов, 1972).

Учитывая, какое громадное количество синапсов содержится в центральной нервной системе (ЦНС), можно заранее предположить изменение ее функций при действии пчелиного яда. Здесь только необходимо уточнить, что не все компоненты пчелиного яда, попавшие в организм, в кровь, могут проникнуть через гемато-энцефалический барьер непосредственно в ткань мозга. Однако такие нейротоксические компоненты, как апамин яда, обладают этими возможностями (Vincent et al., 1975). С помощью радиоактивного меченного апамина авторы показали, что наибольшее связывание пептида происходит в поясничном отделе спинного мозга мышей. При непосредственном введении токсических доз пчелиного яда в мозговые желудочки, минуя гематоэнцефалический барьер, установлено, что при этом происходят дегенеративные изменения в нейронах коры головного мозга и мозжечка (Lhermitte et al., 1954).

Таким образом, изменение функций ЦНС под влиянием пчелиного яда может происходить как под влиянием приходящей с периферии информации, так и из-за непосредственного воздействия компонентов яда на нервную ткань мозга. Установлено возбуждающее действие на ЦНС апамина (Habermann, Reiz, 1964). Авторы указывают, что центральное действие пептида сопровождается повышенной двигательной активностью. При внутривенном введении апамина "спинальным" кошкам у животных резко увеличивались разгибательные и сгибательные рефлексы (Wellhoner, 1969). Сходные результаты были получены на ненаркотизированных кроликах (Артемов, 1969). В опытах было установлено, что малые дозы яда уменьшали латентный период рефлекса сгибания конечности и повышали суммационную способность спинальных центров. Повышение вводимой дозы яда приводило к противоположным эффектам.

Влияние пчелиного яда на высшие отделы ЦНС изучалось на животных путем регистрации электроэнцефалограммы (ЭЭГ) и поведенческих реакций. Показано, что изменения ЭЭГ и реакции животных зависят от вводимой дозы яда или присутствия в нем определенных компонентов. Так, при внутривенном введении кроликам цельного яда в дозе 0,25-0,5 мг/кг наблюдалось кратковременное двигательное возбуждение животных с последующим снижением всех ритмов ЭЭГ. Депрессию ЭЭГ в этот период связывают

с угнетением функционального состояния коры головного мозга и снижением лабильности корковых нейронов (Орлов, 1964, 1972). С другой стороны, показано, что лишенный ферментов препарат пчелиного яда апипит вызывал активацию ЭЭГ кошек (Вятчанинов, Сипка, 1973). При этом звуковое и световое раздражение животных приводило к усилению активации ЭЭГ. Полагают, что активация ЭЭГ обусловлена апамином, присутствующим в препарате. Аналогичные результаты были получены на обездвиженных дидактином кошках при введении им цельного яда (Орлов, Гелашвили, 1976). Авторы считают, что активация ЭЭГ связана с возбуждающим действием яда на стволовую ретикулярную формацию.

Интересные результаты при исследовании действия пчелиного яда на функции ЦНС были получены с применением методики получения аудиогенных судорог у крыс (Орлов, 1967). Известно, что некоторые крысы в ответ на сильное звуковое раздражение реагируют бурным двигательным возбуждением с характерным судорожным припадком. В опытах на таких отобранных животных было установлено, что пчелиный яд, вводимый предварительно подкожно в дозе 0,2-0,5 от минимальной смертельной дозы, полностью снимал судорожную реакцию или вызывал увеличение ее латентного периода, ослаблял интенсивность припадка.

При изучении влияния пчелиного яда на высшую нервную деятельность установлено, что под влиянием яда происходит торможение условно-рефлекторной деятельности животных — наблюдается исчезновение условных рефлексов или возрастание их латентного периода (Артемов, 1969). При этом наблюдалось растормаживание дифференцировки, что свидетельствовало об ослаблении внутреннего торможения. Автор полагает, что описанные изменения высшей нервной деятельности под влиянием пчелиного яда свидетельствуют о развитии защитного (охранительного) торможения в высших отделах ЦНС животных. Такое торможение можно рассматривать как часть вызываемой ядом неспецифической защиты и приспособительной реакции организма.

Таким образом, нервная система как основная интегрирующая система организма энергично реагирует на проникший в организм токсический агент — пчелиный яд. Разумеется, необходимо учитывать и опосредованные другими системами реакции ЦНС — в частности, угнетение электрофизиологических характеристик коры головного мозга происходит на фоне падения артериального давления и падения объема сердечного выброса. Однако независимо от того, первичны или вторичны реакции ЦНС на пчелиный яд,

они являются главенствующими для организации организмов системы защиты и приспособления функционирования систем в изменившихся условиях. Укажем, что нейротропный эффект яда проявляется очень быстро. Уже через несколько секунд после попадания токсина в ткань изменяется функциональное состояние нервной системы на всех уровнях — периферическом и центральном. Эффекты изменения функционирования ЦНС в этих условиях, как мы уже указывали, будут определяться как количеством попавшего в организм яда, так и реактивностью, состоянием самого организма.

Описывая действие яда на нервную систему, мы до сих пор рассматривали в основном сугубо физиологические реакции, полученные в экспериментах на животных. Тождественность аналогичных реакций у человека не вызывает сомнений. Однако когда мы говорим о человеке, сложность реагирования его организма на действие пчелиного яда во многом усложняется. В первую очередь это касается реагирования нервной системы. И первая реакция, которая возникает на ужаление пчелой — это боль, т.е., согласно классическому определению, — неприятное сенсорное и эмоциональное состояние, обусловленное повреждающим воздействием или иным патологическим процессом. Болевую реакцию организма человека, возникающую на действие пчелиного яда, целесообразно рассмотреть более подробно в связи с парадоксальным на первый взгляд последующим эффектом обезболивания организма или отдельных его частей.

Вообще боль, как сказал много лет назад знаменитый исследователь в этой области профессор В.Ф. Чиж, — "является самой первой реакцией на убивающее живую ткань раздражение, и самое ничтожное раздражение, например укол булавки, капля уксусной кислоты, вызывает боль". Оценивая болевую реакцию как эволюционное приспособление организмов к выживанию, автор далее пишет: "Боль необходимо рассматривать как предупреждение об опасности, она сообщает организму, что если раздражение будет продолжено и будет интенсивнее, живая ткань, составляющая организм, превратится в мертвую ткань". Пчелиный яд, попавший в организм, несомненно, должен привести к болевой реакции. Это обеспечивает своеобразная композиция веществ яда. Боль возникает вследствие раздражения специальных болевых (ноцицептивных) рецепторов и поступления от них импульсов и импульсов различной интенсивности с других периферических рецепторов в центральную нервную систему (ЦНС).

Согласно современным положениям, болевые рецепторы в большом количестве содержатся в различных тканях и органах и имеют множество концевых разветвлений неинкапсулированных (свободных) нервных окончаний, которые и являются структурами, активизируемыми болевым воздействием. Отличительной особенностью таких свободных немиелинизированных нервных окончаний является их высокая хемочувствительность. Полагают даже, что болевой рецептор по своей природе не ноцицептивен, а "хемочептивен", поскольку любое воздействие, приводящее к повреждению тканей и являющееся адекватным для ноцицептора (болевого рецептора), сопровождается высвобождением аллогенных (вызывающих боль) химических агентов (Игнатов, Зайцев, 1990). Выделяют несколько типов таких веществ: тканевые (гистамин, серотонин, ацетилхолин, простагландины, некоторые ионы), плазматические (брадикинин, каллидин) и выделяющиеся из самих нервных окончаний (субстанция Р). При этом одни (тканевые) непосредственно активируют концевые разветвления немиелинизированных нервных волокон и вызывают импульсную активность, приводящую к возникновению боли. Другие, сами не вызывающие боли, усиливают эффект ноцицептивного воздействия. Например, субстанция Р выделяется непосредственно из нервных терминалей и, взаимодействуя с рецепторами, локализованными на их мембране — деполаризуя ее, стимулирует генерацию импульсного болевого потока.

Следует указать, что боль возникает не только вследствие раздражения вышеописанных специальных "ноцицепторов", а и вследствие избыточной активации вообще всех типов рецепторов тканей, которые в норме реагируют только на неболевые стимулы. В формировании ощущения головной боли в этих случаях главное значение имеет интенсивность воздействия, закодированная в характере импульсной активности, направляющейся в ЦНС.

Боль, выполняющая сигнальную функцию, определяет ответные реакции организма, направленные на мобилизацию регулирующих систем организма для устранения болевого воздействия или его последствий. Наряду с включением механизмов, определяющих эмоционально-аффективные проявления боли, которые в функциональном плане являются одновременно стимулом к активному предостережению чрезвычайного вредоносного раздражителя, также активируются процессы вегетативного реагирования. Например, гемодинамические реакции, возникающие сразу после ощущения боли, направлены прежде всего на обеспечение возросших потребностей скелетной мускулатуры, необходимое для реали-

зации комплекса поведенчески-моторных актов активной обороны или избегания. Таким образом, боль является наиболее важным звеном, запускающим цепь адаптивных реакций организма к изменившимся условиям среды.

Из вышесказанного очевидно, что пчелиный яд, обладающий целым набором готовых аллогенных веществ, должен вызывать мощную болевую реакцию сразу после попадания в организм. При этом компоненты яда могут обладать как непосредственными аллогенными свойствами, так и активировать другие типы эндогенных, вызывающих боль веществ. Наличие больших количеств гистамина (1-3%) в яде, других биогенных аминов, гистаминсодержащих пептидов (прокамин) приводит к прямому активированию ими ноцицепторов. Вместе с тем, эта активация на гистамин усугубляется мощным гистаминвысвобождающим действием из тучных клеток самого организма других компонентов яда — мелиттина, МСД-пептида и др., в результате чего концентрация гистамина в пораженном участке резко повышается.

Установлено, что после введения яда в организме повышается содержание простагландинов, обладающих аллогенными свойствами. Это неудивительно, если учесть, что пчелиный яд содержит большое количество фосфолипазы A_2 . Известно, что при повреждении ткани или ее раздражении в ней усиливается синтез простагландинов (Лоуренс, Беннит, 1991). Простагландины обладают двумя основными свойствами: служат медиаторами воспаления и повышают чувствительность нервных окончаний, снижая порог их реакции на раздражитель, как на механический (например, отек ткани), так и химический. В результате все другие медиаторы воспалительной реакции — гистамин, серотонин, брадикинин и др., вызывают более сильные импульсы чувствительных окончаний. Простагландины являются производными арахидоновой кислоты, которая в эстерифицированной форме входит в состав фосфолипидов клеточных мембран большинства животных клеток. Превращение же арахидоновой кислоты в простагландины, ее высвобождение из клеточных мембран происходит под влиянием фосфолипазы A_2 .

Вышеприведенные данные достаточно полно и исчерпывающе объясняют болевой эффект пчелиного яда, попавшего в организм. Однако парадоксальность ситуации заключается в том, что введя за болью при ужалении наступает потеря чувствительности окружающих тканей. Более того, практически все лекарственные средства на основе пчелиного яда обладают общим свойством — способ-

ностью уменьшать болевые ощущения организма на разные болевые раздражения, т.е. имеют обезболивающие свойства. Эта способность пчелиного яда была замечена очень давно и активно использовалась и используется как в народной, так и официальной медицине. Однако механизм этого эффекта практически не изучен и был непонятен до недавнего времени.

Анализ механизмов обезболивающего действия пчелиного яда осложнялся тем, что почти сто лет царил полная неизвестность в той области физиологии, которая занималась проблемами боли и обезболивания. Лишь совсем недавно нейробиология обогатилась целой серией открытий в этой области.

Давно было известно, что из сока опийного, или лекарственного мака можно выделить целую группу веществ, обладающих обезболивающим действием. Сегодня самым мощным обезболивающим из этих веществ является морфин — алкалоид, широко применяющийся в медицине для обезболивания и наркоза. В 1973 году одновременно несколькими группами исследователей было обнаружено, что некоторые нервные клетки мозга человека и животных имеют на своей поверхности участки, способные с особой активностью ("высоким сродством") связывать молекулы морфина. Оказалось, что такие нейроны расположены именно в тех областях мозга, стимуляция которых вызывает у животных ярко выраженное обезболивание. Естественно было предположить, а потом и доказать, что болеутоляющий эффект морфина и подобных ему препаратов реализуется через активацию указанных нейронов, обладающих высокой чувствительностью к морфину.

Одновременно возник также естественный вопрос: зачем природе создавать нейроны, ответственные исключительно за взаимодействие с наркотическим алкалоидом опийного мака? С очевидностью напрашивалась идея, что сам мозг должен вырабатывать какие-то вещества, обладающие сходным с морфином качеством. Целенаправленный поиск таких веществ в 1975 году привел к успеху: вновь несколькими исследователями независимо друг от друга было сообщено об обнаружении нескольких пептидов с малой молекулярной массой, обладающих четким морфиноподобным действием и связывающихся с теми же участками мембраны, что и морфин.

Обнаруженные морфиноподобные пептиды организма получили название эндорфинов (т.е. эндогенные, внутренние морфины) и энкефалинов (т.е. мозговые). За два последующих десятилетия были открыты еще несколько десятков подобных пептидов, выраба-

тивасмых организмом человека и животных. Все они сегодня объединяются в общий класс опиоидных (т.е. подобных опио) пептидов.

Далее выяснилось, что опиоидные пептиды влияют на многие системы организма. При их непосредственном участии, в частности, возникает естественное, эндогенное обезболивание при тяжелых переживаниях, травмах и т.д. Оказалось, что эту способность опиоидных пептидов к самообезболиванию можно стимулировать искусственно. Именно этот механизм лежит в основе акупунктурного (при иглоукалывании) обезболивания, через него реализуется действие многих болеутоляющих лекарственных средств — анальгетиков.

Вышеизложенные достижения в области альгологии позволили по-новому взглянуть на механизмы болеутоляющего действия пчелиного яда и лекарственных средств на его основе. Работами нашей кафедры доказано, что эффект обезболивания пчелиного яда в значительной мере связан с его способностью активировать систему опиоидных пептидов, вызывая повышение их уровня в крови. Этот факт подтверждается и тем, что морфин и подобные ему препараты усиливают вызванное пчелиным ядом обезболивание, и, наоборот, пчелиный яд усиливает обезболивающий эффект морфина. С другой стороны, показано (Парин и др., 1976), что препараты, подавляющие активность системы опиоидных пептидов (наллоксон, налорфин и др.), полностью или частично устраняют болеутоляющее действие пчелиного яда.

Таким образом, обезболивание, наступающее при воздействии пчелиного яда на организм, связано, в первую очередь, с активацией системы опиоидных пептидов. Признание этого положения имеет большое значение не только для теоретических представлений о механизмах действия пчелиного яда на организм человека, но и для направленной разработки эффективных лекарственных средств широкого спектра действия.

Однако не следует рассматривать вышеизложенный механизм обезболивающего действия пчелиного яда как единственный. Как указывалось ранее, при попадании яда пчел в организм резко активизируется симпатно-адреналовая система, давая в частности, гипертензивные и тахикардические реакции. Сравнительно недавно было показано, что аналогичные реакции гемодинамики сами по себе могут активизировать противоболевые (антиноцицептивные) системы организма (Игнатов, Зайцев, 1990). Авторы показали, что анальгезия может быть вызвана повышением артериального дав-

ления животных адреномиметическим средством — мезатоном. При этом обезболивание причинно связано с гипертензией, поскольку проявлялось только в период подъема артериального давления и прогрессировало при дальнейшем его повышении при повторном введении мезатона. Характерно, что налоксон в этих условиях не влиял на выраженность анальгезии, свидетельствуя о неучастии в данной реакции обезболивания опиоидной системы.

В связи с изложенным интересно отметить, что ноцицептивные (болевые) стимулы различной природы вызывают, как правило, гипертензивные и тахикардические реакции, сопровождающиеся разнонаправленными изменениями органичного кровотока и биохимическими проявлениями симпатно-адреналовой активации. Так, мощный болевой агент гистамин стимулирует высвобождение прессорных агентов — адреналина и параадреналина из надпочечников (Лоуренс, 1990), то есть получается, что боль, вызывая эту активацию висцеральных систем, кроме того, запускает и систему обезболивания. Соответственно, можно предположить, что обезболивание, наступающее при введении пчелиного яда вслед за болевым эффектом, вполне естественный процесс, реализующийся через известные механизмы. При этом усиление анальгезии может опосредоваться и не опиоидными, а адренергическими механизмами, одновременно обеспечивающими гемодинамические предпосылки для избегания или уменьшения раздражения.

2.4. РЕАКЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Влияние пчелиного яда на функции системы кровообращения отчетливо проявляется в симптомокомплексе отравления людей при ужалении пчелами (см. обзор Сулганова, 1977). Отмечается падение кровяного давления, нарушение сердечного ритма и изменение зубцов ЭКГ на достаточно продолжительное время.

Экспериментальный анализ изменений деятельности сердечно-сосудистой системы при действии пчелиного яда подтвердил его непосредственное влияние на названную систему. В работах, проведенных на изолированном сердце лягушек, было установлено, что пчелиный яд в зависимости от концентрации может угнетать или усиливать сердечные сокращения (Артемов, 1962). В этих условиях пчелиный яд способен блокировать передачу нервных импульсов в холинореактивных структурах изолированного сердца, предотвращая эффект ацетилхолина и эффект раздражения блуждающего нерва (Сергеева, 1967). Названные эффекты были под-

тверждены нами в опытах на изолированном сердце теплокровных животных — кошек. Было установлено, что при добавлении в перфузионный раствор пчелиный яд, в основном, приводит к ослаблению сердечной деятельности. При этом развитие угнетающего действия сопровождается появлением нарушений ритма сердечной деятельности — аритмий, асистолических ритмов и т.д. Вместе с тем, можно подобрать такие концентрации яда, которые, напротив, приводили к усилению функциональной активности сердца. Учащался ритм сердечной деятельности, усиливался сердечный выброс. Эти эффекты были характерны для небольших концентраций яда, и, в большей части опытов — при использовании мелиттина (рис. 4).

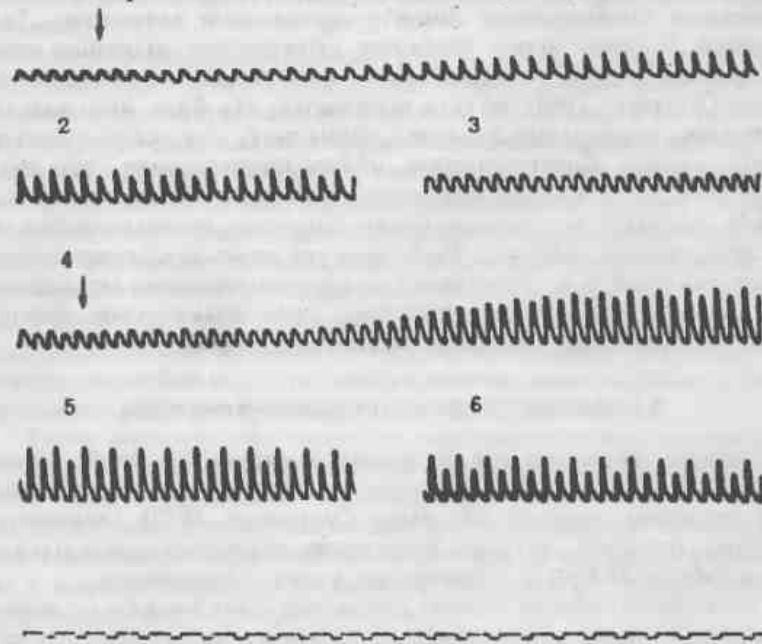


РИС. 4. Влияние мелиттина на функциональную активность изолированного сердца кошки. 1 - 6 — запись механикардиограммы изолированного сердца кошки в моменты добавления мелиттина (0,01 мг, обозначено стрелками) в перфузионный раствор и через 5-ти минутные интервалы после добавления. Первое и повторное добавление мелиттина вызывает обратимое повышение амплитуды сокращений сердца.

При дальнейшем анализе влияния пчелиного яда на сердце было установлено, что функциональное изменение сердечной деятель-

ности при непосредственном действии пчелиного яда, так же, как и мелиттина, связано с мембраноактивными их влиянием на клетки миокарда (Асафова с соавт., 1985). В опытах на трабекулах предсердия лягушки авторы показали, что яд и мелиттин вызывают снижение амплитуды и длительности потенциала действия кардиомиоцитов в результате уменьшения натриевого и кальциевого мембранных токов и резкого возрастания выходящего тока мембран.

При внутривенном введении пчелиного яда в целостный организм животных кардиотропное действие обычно не проявляется так четко, как на изолированном сердце — оно маскируется изменениями гемодинамики, возникающими в этих условиях. Основной гемодинамический эффект пчелиного яда при внутривенном введении животным, так же, как и мелиттина, апамина, фосфолипазы А — падение артериального давления. Степень понижения давления и его продолжительность определяются как дозой яда, так и условиями эксперимента: вид животных, условия наркоза и т.д. Так, введение кроликам без наркоза 0,5-1 мг/кг яда не вызывало существенных изменений в кардиогемодинамике, за исключением умеренной брадикардии. В то же время введение кошкам под наркозом тех же доз яда приводило к снижению артериального давления на 40-60 мм рт. ст. с последующим восстановлением через 0,5-3 мин (Крылов, 1974).

Анализируя реакции сердечно-сосудистой системы на введение яда, еще Feldberg, Kellaway (1937) показали, что существенным фактором, обеспечивающим падение кровяного давления, является массивный выброс в кровоток эндогенного гистамина. Позже было установлено, что антигистаминные препараты — димедрол, пипольфен и др. могут снижать или полностью предотвращать падение давления на введение яда (Миرون, 1972; Крылов, 1990). Артемов, Зевеке (1967) установили, что в развитии гипотензивного эффекта важную роль играет способность яда блокировать передачу возбуждения в узлах вегетативной нервной системы. Корневой (1970) было показано, что в формировании реакции системного давления крови в ответ на введение яда принимают участие рефлексы с различных рефлексогенных зон системы кровообращения. Автором было показано, что гипотензия существенно углубляется после перерезки нервов, отходящих от синокаротидной рефлексогенной зоны, но ослабляется после перерезки блуждающих нервов. Введение яда в область изолированного в гуморальном отношении каротидного клубочка, наоборот, приводило к повышению артериального давления и возбуждению дыхания животных. Реакции

сосудов могут быть связаны и с непосредственным влиянием компонентов яда на гладкомышечные стенки кровеносных сосудов. Однако, здесь не получено однозначных результатов. Если Артемов (1951) и Haber mann (1954) указывают, что при непосредственном контакте с гладкомышечной тканью возникает повышение тонуса мышц вплоть до контрактуры, то недавние исследования Busse et al. (1985) показали, что мелиттин вызывает прямые эндотелийзависимые сосудорасширяющие реакции сосудов человека и животных. А Кузина с соавт. (1988) показали, что при введении мелиттина кошкам в стенках сосудов уменьшается содержание катехоламинов — адреналина и норадреналина.

Реакции системы кровообращения на пчелиный яд могут быть опосредованы нарушением функции дыхания. Однако в наших опытах на кошках с искусственным дыханием было установлено, что величины падения давления и урежения ритма сердца не отличались от таковых, регистрируемых на животных с естественным дыханием. Было показано, что в период брадикардии и гипотензии уменьшаются показатели сократимости сердца — внутрижелудочковое давление, скоростные характеристики сокращения и расслабления миокарда. Укажем, что эти изменения происходили на фоне расширения периферических кровеносных сосудов, оцениваемого по увеличению амплитуды периферической реограммы. По мере возвращения давления крови к исходному уровню восстанавливались и показатели сократимости сердца.

Таким образом, из результатов собственных исследований и данных литературы следует, что внутривенное введение пчелиного яда животным — как наркотизированным, так и без наркоза, как при естественном дыхании, так и при искусственной вентиляции легких, приводит к качественно однозначным реакциям системы кровообращения. Эти реакции характеризуются возникновением замедления частоты сердечбиений и отсутствием других изменений кардиогемодинамики при действии малых доз яда, наступлением на фоне брадикардии реакции гипотензии и ослабления сердечной деятельности при действии средних доз и возникновением нарушений ритмики и угнетению дыхания при действии высоких доз яда, то есть развивается целый комплекс реакций системы кровообращения, затрагивающий как сердечную деятельность, так и системную гемодинамику.

Уменьшение сократительной активности сердца вполне согласуется с установленным на изолированном сердце прямым угнетающим эффектом яда. Вместе с тем, в целостном организме к это-

му эффекту присоединяется и нейрорефлекторное действие яда. В частности, возникающая брадикардия опосредуется рефлексом с сосудистых хеморецепторов и предотвращается ваготомией. Гипотензия имеет, в основном, гистаминергический механизм и блокируется антигистаминными агентами. В дальнейшем она может поддерживаться за счет уменьшения массы крови вследствие выхода плазмы из кровеносного русла.

Однако было бы преждевременным делать вывод о кардио- и вазодепрессивном действии пчелиного яда при попадании его в организм, несмотря на общепризнанные факты и приведенный выше анализ этих фактов. Дело в том, что они входят в некоторое противоречие с другими наблюдениями. В частности, как было описано выше, пчелиный яд и мелиттин могут оказывать и стимулирующее действие на сердце и гладкую мускулатуру сосудов. Кроме того, ввиду выброса массивных концентраций сосудосуживающих медиаторов и гормонов в кровоток при действии пчелиного яда можно предположить, что артериальное давление и сердечная деятельность должны повышаться. Имеются и единичные наблюдения на этот счет. Так, Kaplinsky et al. (1977), вводя собакам малые дозы яда (0,1-0,2 мг/кг), наблюдали повышение давления в аорте и левом желудочке сердца. Кроме того, нами и рядом других авторов при анализе гипотензивных реакций отмечалось, что иногда вслед за восстановлением исходного артериального давления после реакции гипотензии на пчелиный яд возникала гипертензивная реакция.

Учитывая вышеизложенное, мы провели специальные исследования по анализу этих реакций. Прежде всего, мы попытались исключить рефлекторный компонент, основанный, по нашему мнению, на попадании больших концентраций яда в кровоток при одномоментном введении. Это подтверждается данными Корневой (1970), показавшей, что при введении яда через катетер непосредственно в правое предсердие реакция гипотензии резко усиливалась. Поэтому для достижения указанной цели пчелиный яд вводился нами наркотизированным кошкам капельно, со скоростью 1 мл/мин, при достижении токсических концентраций в крови через 55-60 мин. В этих условиях реакция гипотензии на малые и средние дозы яда полностью отсутствовала. Было установлено, что через 5-10 минут после начала титрования появлялась незначительная брадикардия, но увеличивалась амплитуда электрокардиограммы и возрастало пульсовое давление. В дальнейшем, по мере поступления яда в кровоток, на фоне практически неизменных уровней ар-

териального давления и дыхания, возникали нарушения сердечной ритмики в виде экстрасистол и аритмий. Следующим проявлением токсического действия яда было внезапно наступающее прекращение дыхательных движений. И лишь только после этого прогрессивно падало артериальное давление и развивались гипоксические изменения сердечной деятельности (рис. 5).

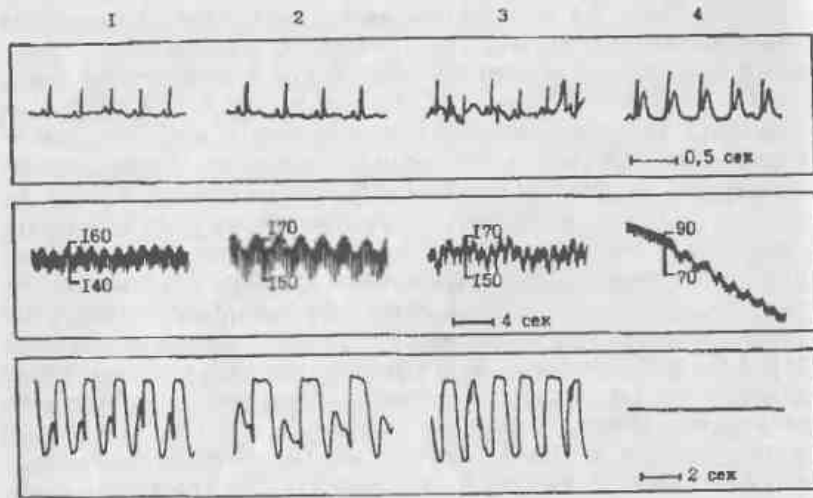


РИС. 5. Влияние капельного внутривенного введения раствора пчелиного яда на (сверху вниз): электрокардиограмму, артериальное давление и дыхание наркотизированной кошки. По мере увеличения концентрации яда в организме урежается ритм сердечбиений и дыхания вместе с ростом артериального и пульсового давления, амплитуды ЭКГ (1,2), с последующим ухудшением параметров — уменьшением амплитуды ЭКГ, пульсового и артериального давления (3) и остановкой дыхания (4).

Таким образом, при отсутствии рефлекторных реакций на введение яда малые дозы яда вызывали кардиостимулирующий эффект и не снижали артериального давления животных.

В ходе экспериментов было отмечено, что у животных, у которых исходное кровяное давление было снижено, малые и средние дозы пчелиного яда одновременно с кардиостимуляцией приводили к возрастанию артериального давления по сравнению с исходным, причем гипертензия поддерживалась на протяжении всего периода титрования вплоть до нарушения дыхания. Поэтому в дальнейших опытах мы изучали введение яда в условиях искусственной

гипотензии, вызываемой кровопусканием или большими дозами наркоза. В этих опытах было установлено, что пчелиный яд как при одномоментном, так и при капельном введении вызывает четко выраженную гипертензивную реакцию. В табл. 3 приведены количественные данные величины системного артериального давления (САД) у животных с исходным уровнем выше или ниже нормального при капельном введении яда.

Таблица 3
Изменение САД при внутривенном капельном введении пчелиного яда кошке

Уровень исходного давления	Исходное САД, %	САД при введении пчелиного яда, в % от исходного уровня, мин		
		1	3	15
Нормотензия (выше 100 мм рт. ст.)	100	73,1±7,5 <0,05	96,2±6,8 >0,05	100,1±9,0 >0,05
Гипотензия (ниже 100 мм рт. ст.)	100	95,6±10,5 >0,05	142,4±10,4 <0,05	139,4±8,6 <0,05

Обсуждая полученные результаты, следует указать, что все сосудистые реакции осуществляются гладкомышечными клетками стенок сосудов. При этом основными эффекторами клеток являются адренореактивные структуры мембран — адренорецепторы. Показано, что в системных сосудах относительно больше α -адренорецепторов, возбуждение которых приводит к сокращению мышц, соответственно сужению просвета сосудов — подъему артериального давления. Наоборот, возбуждение β -адренорецепторов приводит к расслаблению мышц — расширению сосудов — падению кровяного давления. Показано также, что β -адренорецепторы более чувствительны к катехоламинам, и поэтому малые дозы, например, адреналина будут вызывать падение давления, а большие — его увеличение. В связи с указанными механизмами можно объяснить сосудистые реакции на пчелиный яд с этих позиций.

При относительно высоком сосудистом тоне (нормотензия) введение яда и выбрасываемые эндогенные адреналин, кортизол и др. приведут к возбуждению более чувствительных β -адренорецепторов и, соответственно, падению давления. Вслед за этим в возбуждение вовлекутся α -адренорецепторы и реакция сосудов окажется суммированной. В случае нормотензии — это может проявиться в виде гипертензии последствия или вообще не проявиться. В случае же исходно пониженного артериального давления и, соответственно, настроенной на восстановление нормотензии высокой чувствительности α -адренорецепторов, они возбуждаются в пер-

вую очередь, приводя к подъему артериального давления после введения пчелиного яда.

Высказанное предположение было подтверждено нами в опытах на животных, у которых посредством предварительного введения резерпина или удаления надпочечников истощали эндогенные катехоламины. В этих случаях существенного подъема артериального давления в ответ на введение пчелиного яда зарегистрировано не было. С другой стороны, первоначальная гипотензивная реакция предотвращалась в опытах предварительным введением β -адреноблокаторов — пропранолола.

Таким образом, можно заключить, что сосудистые реакции на введение пчелиного яда являются результирующими многих процессов, и конечный результат будет зависеть как от соотношения гистаминэргических и катехоламинэргических реакций, так и от исходного состояния сосудистого тонуса. Ясно, что исходное состояние уровня кровяного давления будет определять чувствительность гладкомышечных эффекторов сосудистых стенок — альфа- и бета-адренорецепторов, гистаминорецепторов и т.д. С другой стороны, попадание в кровоток локальных концентраций при одномоментном введении или пчелоужалении может вызвать возбуждение хемореактивных сосудистых зон, направленное на защиту организма от распространения токсина к важнейшим органам. Например, установленное Артемовым, Зевеке (1967) сужение легочных сосудов кошек при внутривенном введении яда, приводящее к рефлекторному падению давления в большом круге кровообращения, — это типичная реакция защиты. При этом токсический агент задерживается в венозной части и не проходит через малый круг кровообращения в систему мозговых, коронарных и других сосудов важнейших органов. Соответственно, поступление в кровоток малых концентраций яда, не приводит к рефлекторным реакциям защиты, и результирующий эффект будет обеспечиваться соотношением чувствительности и развития во времени реакций гладкомышечных эффекторов к токсинам яда и эндогенно выбрасываемым в кровоток биогенным аминам и т.д.

С современных позиций, рассматривающих сосудистые реакции как результат активации или торможения эффекторов гладких мышц сосудов, можно объяснить и другие важные факты влияния на кровообращение пчелиного яда. Установлено, что на фоне реакции гипотензии после введения яда резко увеличивается кровоток в мозговых и коронарных сосудах. Это можно было предполо-

жить теоретически, так как в указанных сосудистых зонах эффекторы гладких мышц стенок сосудов представлены преимущественно бета-адренорецепторами. Их концентрация и более высокая чувствительность по сравнению с альфа-адренорецепторами, предполагают, что при попадании в такие зоны пчелиного яда произойдет снижение сосудистого тонуса коронарных и мозговых сосудов. Опыты, проведенные на кошках с применением метода электроэнцефалографии, показали, что при внутривенном введении пчелиного яда интенсивность мозгового кровотока может возрастать до 400% (Орлов с соавт., 1975).

Аналогично увеличивается кровоток и в коронарных сосудах сердца (Крылов, 1974). Учитывая, что для практических целей важно обосновать лечебное действие пчелиного яда на сердце (о чем хорошо известно из практической медицины), рассмотрим влияние пчелиного яда на коронарное кровообращение экспериментальных животных более подробно. Кроме того, на примере коронарного кровообращения хорошо иллюстрируются вышеописанные положения о сложных реакциях системы кровообращения на пчелиный яд.

В опытах на изолированном сердце кошек нами было установлено, что яд пчел оказывает сильное влияние на отток перфузионного раствора из коронарных сосудов. Добавление в перфузат яда в разведениях 1:10000 — 1:1000 г/мл вызывало уменьшение оттока из сосудов сердца на 30-50% по сравнению с исходным. Это было показано как на работающих сердцах, так и на сердцах, остановленных метаболическими ядами.

В отличие от опытов на изолированном сердце, в условиях целостного организма применение пчелиного яда вызывало противоположный эффект. Внутривенное введение яда в дозе, уменьшающей отток перфузата изолированного сердца (0,1 мг), не оказывало влияния на объемную скорость коронарного кровотока кошек. Это объяснимо, т. к. при системном введении указанное количество яда разбавляется жидкими средами организма и действующая на сердце концентрация яда существенно уменьшается. Однако применение более высоких доз яда, таких как 0,1 - 1 мг/кг, приводило к хорошо выраженным изменениям коронарного кровообращения. Было установлено, что, в отличие от результатов опытов на изолированном сердце, сразу после внутривенной инъекции яда регистрировалось значительное увеличение объемной скорости коронарного кровотока. Коронарный кровоток повышался с $5,6 \pm 0,2$ мл/мин до $9,5 \pm 0,6$ мл/мин. Указанная реакция резкого увеличения

оттока крови из коронарного синуса продолжалась 1 - 3 мин, после чего наблюдалось полное или частичное восстановление кровотока до исходного уровня. В среднем, к 15 мин действия яда в дозе 0,1 - 0,5 мг/кг коронарный кровоток оставался увеличенным на $17 \pm 3,8\%$ по сравнению с исходным уровнем (рис. 6).

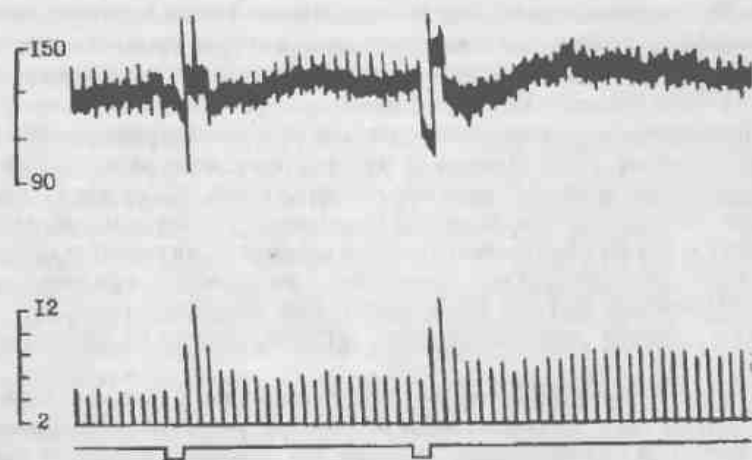


РИС. 6. Влияние пчелиного яда на коронарное кровообращение кошки. Сверху вниз: артериальное давление (мм рт. ст.), отток крови из коронарного синуса сердца (мл/мин), отметки введения яда (0,05 мг/кг, внутривенно). Регистрация параметров с интервалом (вертикальные линии) 15 с. Введение пчелиного яда вызывает увеличение оттока крови из коронарного синуса на фоне 2-х фазного колебания артериального давления. Повторное введение увеличивает эффект повышения коронарного кровотока.

Повторные введения яда в одинаковых дозах вызывали сходные реакции. Отметим, что повторная инъекция яда, произведенная на фоне уже увеличенной реакции в результате 1-го введения яда, вызывала дальнейшее и более продолжительное увеличение коронарного кровотока (рис. 6).

Применение высоких доз яда (1 мг/кг) приводило к сходным с вышеприведенными эффектам. Однако при этом реакция резкого увеличения оттока крови из коронарного синуса, наблюдающаяся сразу после введения яда, была более продолжительной — 3-5 мин.

Регистрация системного артериального давления, проводимая параллельно с изменением коронарного кровотока, показала, что

одновременно с повышением объемной скорости коронарного кровотока в ответ на внутривенное введение пчелиного яда наблюдалось понижение САД. Как видно из графика, гипотензивная реакция на яд продолжалась 1-3 мин, после чего восстанавливался исходный уровень САД. Для более высоких доз яда была характерна и более продолжительная гипотензивная реакция. В части опытов после периода гипотензии кровяное давление повышалось на 3-5 мин и уже после этого восстанавливался исходный уровень САД.

Интересно отметить, что одновременно с повышением коронарного кровотока и снижения САД происходило изменение пульсового давления. Оно увеличивалось сразу после введения яда в кровоток.

Таким образом, при внутривенном введении нетоксических доз пчелиного яда кошке у животных одновременно изменялось три регистрируемых параметра — увеличение коронарного кровотока происходило на фоне гипотензивной реакции и увеличенного пульсового давления.

Опыты с использованием очищенного препарата пчелиного яда — мелиттина показали, что полипептид оказывает гораздо менее значительное влияние на коронарный кровоток при внутривенном введении животным. Достаточно сказать, что применение доз 0,2-0,5 мг/кг не приводило к видимым изменениям в оттоке крови из коронарного синуса. Лишь использование более высоких доз (0,5-1 мг/кг) приводило к незначительному увеличению коронарного кровотока с $4,8 \pm 0,3$ мл/мин исходного уровня до $5,8 \pm 0,4$ мл/мин максимально. Эта реакция развивалась, начиная с 2-5 мин после введения яда, и была кратковременной. Важно отметить, что в опытах не было зарегистрировано реакции гипотензии, характерной для пчелиного яда. Наоборот, тотчас после инъекции мелиттина наблюдалось развитие гипертензивной реакции. Лишь в некоторых опытах прессорной реакции предшествовало небольшое и кратковременное снижение САД.

Указанное наблюдение позволяет предположить, что гипотензивное и кардиодепрессорное действие яда, установленное нами выше, обусловлено не мелиттином, а другими компонентами яда — фосфолипазой, гиалуронидазой и др. На это указывают также и результаты опытов на изолированном сердце, где было выявлено кардиостимулирующее действие мелиттина.

Из вышеприведенных результатов исследований следует, что при введении в целостный организм пчелиный яд обладает выраженной антиангиальной активностью. С другой стороны, это дей-

ствие резко отличается от непосредственного влияния яда на венозные сосуды, выявленного в экспериментах на изолированном сердце. Поэтому представляло интерес исследовать механизмы, через которые в одних условиях яд увеличивает, а в других уменьшает проток перфузионных растворов по коронарным сосудам.

Уменьшение оттока из сосудов изолированного сердца можно объяснить активной реакцией сосудов в ответ на яд из-за его влияния на альфа-адренореактивные структуры гладкомышечных клеток, играющих определенную роль в констрикторных реакциях коронарных сосудов (Гкаченко с соавт., 1971). Однако эксперименты с предварительным введением блокатора альфа-адренорецепторов дигидроэрготоксина (10^{-3} г/мл), показали, что сосудосуживающий эффект пчелиного яда оставался неизменным (табл. 4).

Т а б л и ц а 4

Влияние пчелиного яда (0,1 мг/кг) на отток перфузата из изолированного сердца кошки

Серия опытов	Исходный отток перфузата, мл/мин	Отток перфузата (мл/мин) после добавления вещества в раствор		
		Дигидроэрготоксин	Пчелиный яд	Папаверин
Яд вводился после инъекции дигидроэрготоксина	12,0±0,6	10,1±0,4 P>0,05	6,3±0,3 P<0,001	
Яд вводился до инъекции папаверина	12,2±0,9		4,8±0,9 P<0,001	9,7±0,6 P>0,05

Вазоконстрикторный эффект яда частично снимался папаверином — вазодилататором миотропного действия (Машковский, 1985; Зарудий, 1987). Этот препарат вводился на фоне развившейся реакции вазоконстрикции и в определенной мере ослаблял сосудосуживающий эффект пчелиного яда на изолированном сердце (табл. 4).

Рассмотренные эксперименты позволяют заключить, что вазоконстрикторное действие пчелиного яда на изолированное сердце не опосредовано через альфа-адренореактивные структуры гладких мышц сосудов. По-видимому, здесь имеет место прямое миотропное действие яда. Определенное восстановление оттока перфузата папаверином свидетельствует в пользу этого предположения. Отметим, что сосудосуживающее действие яда показано на изолированном ухе кроликов и препарате легких (Н.В. Артемов, А.В. Зевеке, 1967). Местные вазоконстрикторные эффекты целесообразно

связать с присутствием в яде основного его компонента — мелитина, контрактильная активность которого на гладкую мускулатуру установлена экспериментально (Neumann, Habermann, 1954).

Как следует из экспериментов на целостном организме, внутривенное введение яда пчел приводит к увеличению коронарного кровотока, что позволяет говорить о влиянии яда на коронарное кровообращение опосредовано — через активацию экстракардиальных систем, превышающую прямой констрикторный эффект яда на сосуды сердца.

Нами была выявлена роль парасимпатической иннервации сердца в реализации вышеописанных эффектов пчелиного яда, поскольку им отводится важная роль в коронарной вазодилатации (Трубецкой, 1984). Опыты показали, что перерезка блуждающих нервов перед инъекцией яда существенно не повлияла на реакцию увеличения коронарного кровотока, не повлияло на этот эффект яда и предварительное введение атропина.

Роль симпатической регуляции коронарного кровотока при действии пчелиного яда была проанализирована как с использованием блокаторов бета-адреноргических рецепторов, так и с истощением катехоламинов из депо. В первой части этой серии опытов животным перед введением яда вводился пропранолол (обидан 0,5-0,75 мг/кг), который существенно уменьшал коронарный кровоток, не изменяя САД, но увеличивая пульсовое давление. Введение на этом фоне пчелиного яда в эффективных дозах приводило к значительно меньшему увеличению коронарного кровотока. Если при введении яда в дозе 0,2 мг/кг у "интактных" животных величина оттока из коронарного синуса достигала $190,2 \pm 12,2\%$, то на фоне действия бета-адреноблокатора — лишь $124,3 \pm 10,7\%$ ($P < 0,001$) по отношению к 100% исходного уровня кровотока. При этом важно отметить, что реакции артериального и пульсового давления на введение яда оставались таким же, что и у "интактных" животных.

С целью более детального анализа полученного эффекта следующая часть исследований была проведена на предварительно резерпинизированных животных, а также кошках с удаленными надпочечниками. Эксперименты показали, что предварительная резерпинизация приводила к значительному уменьшению антиангинального эффекта пчелиного яда. Еще более значительно уменьшалась реакция коронарного кровообращения в ответ на введение пчелиного яда в опытах на животных с предварительной резерпинизацией в сочетании с удалением обоих надпочечников.

При анализе вышеприведенных результатов прежде всего следует обратить внимание на факты, показывающие, что в условиях целостного организма пчелиный яд вызывает увеличение объемной скорости коронарного кровотока, в то время, как на изолированном сердце под влиянием яда происходит уменьшение объема оттекающего от сердца перфузата. Опыты с применением дигидроэрготоксина показали, что возникающее под действием яда затруднение оттока перфузата из сосудов изолированного сердца не опосредовано через альфа-адренорецепторы, а обусловлено прямым мнотропным действием яда. Частичное восстановление оттока перфузата папаверином свидетельствует в пользу этого утверждения.

Однако в условиях целостного организма развитие органических сосудосуживающих реакций коронарных сосудов на введение пчелиного яда, как видно из экспериментов, перекрывается действием других, более мощных факторов экстр- и интракардиального происхождения — нервных и гуморальных влияний.

Как показали опыты на ваготомированных животных, а также эксперименты с предварительным введением атропина, холинэргические влияния через систему блуждающего нерва, которые могут оказывать коронарорасширяющее действие (Каверина, 1963; Трубецкой, 1984), не играют видимой роли в проявлении антиангинальных свойств пчелиного яда. В противоположность этому, как было установлено, большую роль в проявлении коронарорасширяющего эффекта яда имеют симпатические влияния. По мнению многих исследователей, эти влияния (нервные и гуморальные) выполняют основную функцию экстракардиальной регуляции коронарного кровообращения (Каверин, 1968; Ткаченко с соавт., 1971; Теплов, 1980 и др.).

Известно, что и нервные и гуморальные симпатические влияния на тонус коронарных сосудов опосредуются через адренорецепторы сердца. При этом основную роль в вазодилататорных реакциях венечных сосудов играют β_2 -адренорецепторы (Манухин, 1968; Трубецкой, 1984). При этом важно подчеркнуть, что бета-адренорецепторы расположены преимущественно в мелких коронарных артериях, которых в миокарде подавляющее большинство по сравнению с крупными — "проводниковыми" артериями (Parrat, 1981).

Из результатов опытов с применением блокатора бета-адренорецепторов пропранолола следует, что эти структуры во многом опосредуют антиангинальный эффект пчелиного яда. Пчелиный

яд, введенный внутривенно на фоне действия пропранолола, вызывал гораздо меньшее повышение объемной скорости коронарного кровотока.

В составе пчелиного яда имеется достаточно много компонентов, имеющих потенциальную способность воздействия на рецепторы гладкомышечных клеток коронарных сосудов — апамин, МСД-пептид, гистамин и др. Однако проведенные эксперименты дают основание полагать, что указанный эффект яда на коронарное кровообращение развивается за счет адаптивных реакций, приводящих к изменению нейрогуморальной регуляции коронарных сосудов. Известно, что при внутривенном введении животным пчелиного яда резко увеличивается выброс в кровь катехоламинов (Vick, Brooks, 1972), гистамина (Habermann, 1972) и других эндогенных физиологически активных веществ. Как показано в наших опытах, введение резерпина за 4-5 часов до начала эксперимента, существенно уменьшало коронарорасширяющий эффект пчелиного яда. Еще более четко это было прослежено в экспериментах, где наряду с резерпинизацией, у животных была проведена сюррениалэктомия. В этих условиях пчелиный яд оказывал еще меньшее влияние на коронарный кровоток. Из указанных экспериментов можно заключить, что истощенное депо катехоламинов, так же, как и блокада бета-адренорецепторов сердца, существенно влияют на реализацию рассмотренного эффекта пчелиного яда. Отсюда логично заключить, что одним из основных механизмов в реализации увеличения коронарного кровотока при внутривенном введении пчелиного яда является активация симпато-адреналовой системы. Это согласуется с данными Н.М. Артемова (1972), где было показано стимулирующее влияние яда пчел на гипофизарно-надпочечную систему.

Другим важным механизмом в организации увеличения коронарного кровотока в ответ на введение пчелиного яда, является, по нашему мнению, рефлекторные влияния на тонус коронарных сосудов. Важное значение для объяснения антиангинальных свойств яда могут иметь рефлексы с легочных сосудов и правого сердца. Как известно, повышение давления и в той и другой рефлексогенных зонах приводят к расширению коронарных сосудов (Овсянников В.И., 1967; Теплов С.И., 1980). Авторами отмечено, что указанная реакция развивается одновременно с падением АД. В связи с этим следует отметить, что пчелиный яд вызывает резкое повышение давления в легочных сосудах и правом предсердии (Feldberg, 1937; Артемов Н.М., Зевеке А.В., 1967). Учитывая, что

пчелиный яд одновременно с увеличением коронарного кровотока уменьшает САД, можно сделать вывод, что увеличение коронарного кровотока может происходить за счет рефлекса с легочных сосудов и полостей правого сердца. Нельзя исключить также и участия в описанных реакциях внутрисердечной нервной системы (Косицкий Г.И., 1968; Удельнов М.Г., 1975), рефлексы которой носят, как правило, коронарорасширительный характер (Трубецкой А.В., 1984). Благодаря такой авторегуляции, как отмечают Коиради Г.И. (1973), Теплов С.И., Балуева Т.В. (1972), увеличение коронарного кровотока не всегда пропорционально реакции артериального давления, и при снижении давления в аорте уменьшение перфузионного давления в известной мере компенсируется расширением коронарных сосудов.

На основании изложенного можно заключить, что пчелиный яд оказывает сложное действие на коронарное кровообращение. Мы полагаем, что реакцию увеличения коронарного кровотока под влиянием пчелиного яда следует рассматривать как одно из звеньев в общей цепи компенсаторных процессов, направленных на поддержание гомеостаза. Такие компенсаторные реакции организма, часто противоположные по отношению к изолированным системам, показаны и для других веществ. Так, сердечные гликозиды при действии на изолированное сердце также обладают сосудосуживающим действием. Однако в условиях целостного организма прямое сосудосуживающее действие их устраняется сосудорасширяющими рефлексами с рецепторов сердца и аортально-каротидной зоны, возникающими вследствие повышения внутрисердечного давления (Меерсон Ф.З. с соавт., 1968).

Интересно отметить, что препарат яда — мелиттин, обладающий меньшей токсичностью и "стрессовой" активностью (Артемов Н.М., Солодухо И.Г., 1967), вызвал значительно меньшее увеличение оттока крови из коронарного синуса кошек, по сравнению с нативным ядом. Это является дополнительным свидетельством в пользу того, что основным механизмом действия яда на коронарное кровообращение является развитие "стрессовой" реакции с соответствующей мобилизацией компенсаторных реакций систем организма.

На основании изложенного можно предположить следующую схему развития реакций, приводящих к увеличению коронарного кровотока при внутривенном введении пчелиного яда: действие яда на хеморецепторы сосудов и высвобождение эндогенных веществ типа гистамина и др. — сужение легочных сосудов и соот-

ветствующее повышение давления в правом сердце, снижение САД — рефлекторное расширение коронарных сосудов, — усиление сократительной активности сердца как за счет нервных влияний, так и за счет выброса катехоламинов из лепо.

2.5. ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ПЧЕЛИНОГО ЯДА

Указанные свойства яда определяют два крайних состояния чувствительности организма человека к этому токсину — сверхчувствительность с аллергическими проявлениями, и наоборот, нечувствительность пчеловодов к его действию, их устойчивость. Обе эти реакции, как и промежуточные, сегодня достаточно полно объясняются с позиций иммунологии.

Иммунная система человеческого организма так же жизненно необходима, как и пищеварительная, нервная, сердечно-сосудистая и т.д. Это основная система, защищающая организм как от внешних опасностей, так и от угрозы внутренних повреждений его целостности, чужеродности. К иммунной системе относятся клетки нескольких типов — лейкоциты, лимфоциты и др., образующиеся в костном мозге, селезенке и некоторых других органах. В процессе своего развития клетки разносятся в разные ткани организма, где и осуществляют иммунологический надзор, т.е. распознают и уничтожают любой чужеродный агент, несущий опасность для организма. При этом клетки системы могут или непосредственно поглощать чужеродный материал (фагоцитоз), или выбрасывать вещества (антитела), связывающие и нейтрализующие этот материал (антиген). Распознавание "не-своего" происходит благодаря наличию в чужеродном материале специфических участков молекулы — детерминант. Соответственно, чем больше молекула, тем более целый микроорганизм, тем больше они имеют антигенных детерминант, — тем сильнее и быстрее пройдет реакция узнавания и уничтожения (первичный иммунный ответ). В дальнейшем память об этих детерминантах остается в некоторых клетках системы — лимфоцитах, и при новой (повторной) встрече с такими "не-своими" лимфоциты способны быстро воспроизводить дочерние клетки с нужными антителами. Ясно, что повторная встреча протекает гораздо быстрее и эффективнее, чем первая (вторичный иммунный ответ). Совокупность перечисленных реакций обычно объединяют понятием иммунитет, который и защищает организм от проникновения и разрушительного действия токсинов или микроорганизмов, различных антигенов, аллергенов.

В некоторых случаях повторное попадание в организм антигена вызывает очень бурную реакцию связывания с антителами, которая затрагивает весь организм и приводит к разрушительному эффекту (организм не справляется с такой реакцией адекватно) — клиническому заболеванию аллергии (анафилаксия). В связи с особенностями действия таких антигенов их называют аллергенами.

Из вышесказанного следует, что пчелиный яд, имеющий компонентами ряд разновеликих цепей белков и полипептидов, является типичным аллергеном (антигеном). Разумеется, разные компоненты обладают разной аллергентной (антигенной) активностью. Считается, что наибольшее количество антигенных детерминант несет фосфолипаза А яда, гиалуронидаза. По некоторым данным мелиттин несет 1/9 часть аллергентной активности цельного яда, а апамин имеет всего одну антигенную детерминанту, что делает его удобным объектом — инструментом в иммунологических исследованиях (Гушин с соавт., 1990; Василенко, 1985).

При попадании в организм человека пчелиного яда развиваются типичные иммунологические реакции — первичный и вторичный ответы с соответствующей выработкой антител на компоненты яда. Характеризуя антитела вообще, следует указать, что они представляют собой белки, называемые иммуноглобулинами. Организм способен производить тысячи видов антител различной специфичности, в соответствии со "спецификой" чужеродного материала. Сегодня иммуноглобулины объединены в 5 классов, в зависимости от молекулярной массы и общих свойств: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD. Считается, что IgG — основной класс антител (около 75% всех иммуноглобулинов), именно он осуществляет вторичный иммунный ответ. Из других классов отметим IgE, так как полагают, что это основной участник аллергических реакций организма. В частности, установлено, что связав аллерген, IgE одновременно взаимодействует с лейкоцитами, тучными клетками, увеличивая проницаемость их мембран. В результате происходит выброс из клеток гистамина, серотонина, гепарина и других физиологически активных веществ, приводящий к аллергической реакции всего организма — анафилаксии.

В связи с изложенным следует ожидать, что основную роль в реагировании на пчелиный яд будут играть иммуноглобулины IgG и IgE. Действительно, было установлено, что в ответ на курсовое введение как цельного яда, так и его фракций, в сыворотке крови человека нарастает титр антител того и другого класса. При этом увеличение количества IgE-антител обычно предшествует нараста-

нию количества IgG-антител. С течением времени титр IgE-антител, специфичных к пчелиному яду, убывал, тогда как количество IgG-антител удерживалось на максимально высоких значениях около года (Шкендеров и др., 1976).

Для объяснения сверхчувствительности к пчелиному яду одних людей и устойчивости других важное значение имеют исследования содержания указанных антител к яду в крови аллергиков и пчеловодов, мало восприимчивых к нему. Шкендеров, Иванов (1985) указывают, что у пчеловодов уровень содержания IgG и IgE был выше, чем у местных жителей, не занимающихся пчеловодством. При этом установлено, что чем выше уровень IgG, тем легче пчеловоды переносят укушения. В то же время, сыворотка крови аллергиков на пчелиный яд содержит существенно меньше антител IgG, чем у нормальных людей (соответственно, в среднем 7,6 ед/мл и 59 ед/мл).

Урбанек с соавт. (1980) отмечают, что уровень антител класса IgG у пчеловодов был наиболее высоким осенью, в конце пчеловодческого сезона. Пчелоукушения в это время вызывали у них самые слабые изменения кожи. Делается вывод, что для поддержания иммунитета к пчелиному яду необходимо его систематическое поступление в организм. Именно на этом и основано современное лечение аллергии к пчелиному яду: в организм вводятся медленно нарастающие дозы пчелиного яда. Показано, что при таком лечении можно снизить содержание антител IgE в крови и одновременно повысить титр антител IgG. В дальнейшем пролеченные таким образом больные переносят пчелиные укушения без аллергических проявлений.

Вышеуказанный метод лечения аллергиков сегодня широко разрабатывается. Изучается возможность использования не только цельного яда, но и отдельных его компонентов и приготовленных из них готовых лекарственных форм аллергенов (Гушин с соавт., 1984, 1985; Титова, Романова, 1989). Кроме того, оказалось, что и диагностировать аллергиков так же эффективно, если используются отдельные аллергены из пчелиного яда. Более того, таким путем — делая пробы с введением аллергенов пчелиного яда — можно диагностировать аллергиков к широкому спектру аллергенов, а не только к пчелиному яду. То есть повышенная чувствительность человека к укушению пчелами — это естественная модель наиболее остро и тяжело протекающих аллергических реакций, возникающих в ответ на введение чужеродного материала в организм (Гушин с соавт., 1984). При этом не обязательно определять уровень

антител в крови, достаточно оценить уровень физиологически активных веществ, высвобождаемых из тучных клеток, лейкоцитов и др., например, гистамина.

Выявленное увеличение содержания в организме под влиянием пчелиного яда антител, в том числе и чисто защитных (IgG), приводит к идее стимулирования ядом общего иммунитета человека. Известно, что по формированию и степени выраженности антителообразования судят о состоянии иммунной системы организма (Здродовский, 1969). Укажем, что поиск эффективных иммуностимуляторов в настоящее время является чрезвычайно важной задачей иммунологов. Так может ли пчелиный яд защитить организм от инфекций или других токсинов?

Еще в 1932 году Физалис показала, что иммунитет, выработанный у мышей и морских свинок путем многократного введения пчелиного яда, предохраняет их от смертельной дозы яда гадюки (перекрестный иммунитет). Савчук и др. (1960) установили, что при определенной дозировке (до 10 укушений) у больных пчелиный яд стимулировал выработку агглютининов (один из видов антител) и увеличивал фагоцитарную активность лейкоцитов.

В дальнейших исследованиях, уже при моделировании инфекций или инъекций чужеродного материала, было установлено, что иммунотропные свойства пчелиного яда зависят от вводимой его дозы. Так, Солодуха, Нестерова (1970, 1974) при иммунизации животных протеом условно патогенный микроорганизм установили, что пчелиный яд в дозе 0,35 мг/кг тормозил фагоцитарную активность лейкоцитов к протею, так же как и выработку специфических антител к нему. Аналогичные результаты были получены в опытах Романовой (1980-1987). Автор на модели первичного иммунного ответа на введение эритроцитов барана мышам, установила, что пчелиный яд в дозах 2-5 мг/кг проявлял иммунодепрессивный эффект, уменьшая количество антителообразующих клеток (АОК) к чужеродным эритроцитам и снижая титр антител. Вместе с тем, в опытах было установлено, что малые дозы яда 0,1 мг/кг, (т.е. обычные терапевтические для животных), наоборот, стимулировали антителообразование, увеличивая количество АОК на 20%.

Из анализа литературных данных следует, что угнетение иммунного ответа при введении пчелиного яда животным происходит, если используются высокие дозы яда (0,5-5 мг/кг). Между тем, при апитерпии пчелужалениями соответствующая инструкция МЗ СССР 1959 года рекомендует максимальное задействование в

процедуре не более 20 пчел. Учитывая, что ядовитый резервуар одной пчелы содержит 0,1-0,2 мг сухого вещества, можно рассчитать, что суммарная терапевтическая доза яда для человека составит не более 0,05 мг/кг. Как видно, это на порядок и более меньше доз и концентраций, которые используются в экспериментах, где анализировались аллергические и иммунологические свойства пчелиного яда.

В связи с изложенным мы изучили иммунотропные свойства малых доз пчелиного яда, сопоставимых с рекомендуемыми терапевтическими. В первой серии опытов на клеточном уровне — на апробированной системе выделенных иммунокомпетентных клеток (лимфоциты) крови практически здоровых людей (доноры) оценивалась по тесту с трипановым синим физиологическая и цитотоксическая концентрация яда. Было установлено, что минимальная концентрация, обладающая цитотоксическим действием, составляет 15 мкг/мл. Физиологическая концентрация, не влияющая на жизнеспособность лимфоцитов человека при непосредственном контакте, но обладающая иммунотропным действием, оказалась 6-10 мкг/мл. Было показано, что применение этих концентраций на модельной системе комплемента сыворотки морской свинки (Мотавкина, 1980) приводило к повышению комплементарной активности на $112 \pm 1,7\%$ (Добротина и др., 1994).

Далее в экспериментах на крысах оценивали фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови (Лебедев, Понякина, 1990). Было установлено, что пчелиный яд уже в концентрации 0,02 мкг/мл при введении в исследуемую пробу приводил к тенденции повышения фагоцитарной активности, а при использовании концентрации 0,2 мкг/мл существенно ($P < 0,05$) повышал фагоцитоз нейтрофилов.

С другой стороны, было выявлено, что указанные минимальные концентрации яда (0,02-0,2 мкг/мл) уменьшают способность Т-клеток к розеткообразованию с эритроцитами барана (Ляпон, 1980). При этом наблюдалась не только количественные, но и качественные изменения классической реакции — уменьшалось число эритроцитов, составляющих розетку.

С целью оценки адекватной иммунореактивности клеток исследовали также реакцию торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ). Указанная реакция основана на феномене подавления миграции фактором, который выделяют сенсibilизированные лимфоциты при взаимодействии со специфическим антигеном (фактор, ингибирующий миграцию лейкоцитов — МИФ). Данный фактор не яв-

ляется видоспецифичным. Постановка опытов с ядом или ФГА осуществлялась следующим образом: гепаринизированную кровь крысы инкубировали с ядом или ФГА в стеклянных капиллярах в течение 18 часов при 37° С, после предварительного центрифугирования. За это время лейкоциты мигрируют, образуя визуальную наруживаемую зону помутнения — зону миграции, которую вычисляли, измеряя под микроскопом в условных единицах. Было установлено, что применение вышеназванных минимальных концентрация яда приводило к существенному снижению скорости миграции лейкоцитов. Так, если в контроле она составила $78 \pm 11,8$ усл. ед.; с ФГА — $61,6 \pm 5$ усл. ед., то при добавлении пчелиного яда в концентрации 0,02 мкг/мл — 45 ± 3 усл. ед. ($P < 0,05$).

Оценивая полученные результаты, можно заключить, что пчелиный яд уже в малых концентрациях, сопоставимых с терапевтическими дозами яда, обладает иммуномодулирующим действием. Указанное действие многокомпонентно и разнонаправленно: с одной стороны, стимулируется фагоцитоз и комплементарная активность, а с другой — тормозится реакция розеткообразования и скорость миграции лейкоцитов.

Из приведенного материала следует сделать вывод, что стимулиция иммунной системы обеспечивается постепенным поступлением в организм пчелиного яда в малых дозах. Более эффективны в этом плане отдельные компоненты яда, которые можно легко дозировать в соответствии с их аллергенной активностью. Так, Шкендеров с соавт. (1974, 1985) указывает, что введение высокомолекулярной фракции яда приводило к увеличению в два раза числа гемолизинсинтезирующих клеток, а мелиттин в дозах 20 мкг/мл оказался эффективен при лечении воспалений при инфицировании палочки Коха. Авторы ссылаются также на канадских исследователей, установивших, что мелиттин эффективно стимулирует иммунный ответ в отношении ряда других антигенов.

Обсуждая вопрос о возможности стимулирования защитных сил организма пчелиным ядом, следует указать, что кроме иммунных специфических реакций в ответ на введение "не своего" в нем активируются и неспецифические защитные механизмы. Они защищают организм от чужеродного материала как непосредственно, так и оказывая влияние на формирование специфического иммунного ответа. В связи с этим интересно отметить представления Артемова Н.М. (1962) об отсутствии специфического иммунитета на пчелиный яд или мелиттин вообще — есть только сложные

процессы адаптации и повышение резистентности организма к пчелиному яду, что и наблюдается у пчеловодов. Хотя с современных позиций это предположение устарело, однако его можно принять с позиций неспецифического иммунитета.

Было установлено, что пчелиный яд при введении в организм человека или животных вызывает активацию неспецифических защитных механизмов — фагоцитарную активность лейкоцитов, увеличение "естественных" антител — белков типа лизоцима, пропердина и др. Романова, Курило (1984) установили, что введение крысам пчелиного яда в дозе 2 мг/кг после первоначального снижения, к 7-м суткам увеличивало содержание в крови таких факторов неспецифической защиты как комплемент, лизоцим, бактерицидная активность сыворотки крови. Другие исследователи показали, что при лечении пчелиным ядом больных туберкулезом, в крови повышалось содержание титра пропердина (Hazzenga, Reginato, 1959).

Как указывалось выше, развитие специфических и неспецифических защитных реакций в организме взаимосвязано, и зависит от степени чужеродности попавшего в организм материала. Соответственно, в одних случаях в большей степени проявляются реакции неспецифической защиты, в других — специфического иммунного ответа. Пчелиный яд в этом плане, в силу своей гетерогенности, вполне может вызвать разнонаправленные ответы организма. Это доказывают наши эксперименты, в которых изучалось влияние яда на динамику одновременно текущих в организме крыс иммунных процессов: регуляцию численности кожного стафилококка и инактивацию инфицированного в глаза патогенного золотистого стафилококка. Крысам в течение 8 суток внутривентриально вводился пчелиный яд в дозе 0,2 мг/кг, после чего производилось моделирование инфекционного конъюнктивита. При этом оказалось, что на 6-8 день опытов в коже уменьшалась численность постоянно присутствующего здесь эпителиального стафилококка. В противоположность этому, течение инфекционного конъюнктивита у животных, которым профилактически вводился пчелиный яд, было более выражено и длилось дольше, чем у контрольных животных, которым яд не вводился.

Угнетение пчелиным ядом специфических иммунных реакций против инфекции золотистого стафилококка, установленное в опытах, согласуется с приведенными выше данными других авторов, и объясняется применением высоких доз яда. Мы полагаем, что основные механизмы угнетения иммунного ответа в этих слу-

чаях развиваются в результате активации пчелиным ядом гипофизарно-надпочечниковой системы с соответствующим выбросом в кровь стресс-агентов: катехоламинов, кортикостероидов. Известно, что при повышении в организме таких стресс-агентов иммунный специфический ответ угнетается (Лоуренс, 1991). Поэтому при лечении людей кортикостероидами всегда оговаривается опасность инфекций и рекомендуется одновременное назначение антибиотиков. Полагают, что одним из механизмов такого торможения может быть блокирование катехоламинами соответствующих рецепторов антигено-антиген (Landmann, 1984). Кортикостерониды как противовоспалительные агенты, тормозят развитие иммунных реакций на многих этапах: размножение лимфоцитов, их активация, передвижение к очагу инфекции и т.д. (Горизонтов, 1980). Следует полагать, что применение малых доз яда, оказывающее иммуностимулирующее действие, не приводит к вышеописанной стресс-реакции.

Наоборот, именно с позиций развития стрессовой реакции у животных следует объяснять установленный в наших опытах эффект уменьшения численности эпителиального стафилококка в коже крыс, которым вводился пчелиный яд. Дело в том, что кожный стафилококк — постоянно присутствующий микроорганизм, на который организм-хозяин в силу длительного сосуществования выработал оптимальную защиту в виде регулирования его численности неспецифическими факторами: присутствующими в коже лейкоцитами, выделяемыми ими веществами неспецифической защиты — лизоцим, и др. Как было показано выше, именно на 6-8 день после введения пчелиного яда количество таких веществ в организме животных существенно возрастает. Кроме того, установлено, что это возрастание может быть запущено именно стрессовой реакцией, так как известно, что при таких реакциях резко активируется лейкопоэз с увеличением в крови и тканях лейкоцитов с их фагоцитирующей активностью (Горизонтов, 1980). Лейкоциты же — основной поставщик указанных выше факторов неспецифической защиты: лизоцима, бактериальной активности сыворотки и др.

Из приведенных данных следует заключить, что проявление иммуномодулирующих свойств пчелиного яда будет зависеть как от действующей дозы, так и от специфичности или не специфичности патологического агента, являющегося объектом апитерапии.

Из обзора данных об иммунологических свойствах пчелиного яда становится понятно также, почему он противопоказан при ин-

фекционных заболеваниях. Во всяком случае, при апитерапии, так же, как и при гормонотерапии, следует учитывать опасность инфекционных осложнений и рекомендовать в таких случаях антибиотики. Вместе с тем, нельзя не отметить, что в малых дозах, обычно используемых при апитерапии, пчелиный яд может проявлять и иммуностимулирующие свойства. Можно даже предположить, что успешное лечение ядом ряда ревматоидных заболеваний опосредовано не только его противовоспалительным, но и иммуностимулирующим действием (если принять теорию о ревматоидном процессе как аутоиммунном процессе).

Механизмы иммуностимуляции пчелиным ядом, видимо, разнообразны. Один из них может быть связан с фосфолипазой А яда (ФЛА₂), которой в нем 10-12%. Известно, что синтез антител в лимфоците может быть опосредован через активацию ФЛА₂ митогеном. В дальнейшем ФЛА₂ мембраны лимфоцита вступает в реакцию с арахидоновой кислотой, образуя спектр веществ (простагландин, тромбоксаны, медленно реагирующие вещества и т.д.). В свою очередь, простагландины активируют циклические нуклеотиды ядра с последующей активацией синтеза РНК и белков-антител (Пол и др., 1987). Несомненно, экзогенная фосфолипаза из яда пчел может непосредственно участвовать в указанных процессах.

3. ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПЧЕЛИНОГО ЯДА НА МОДЕЛЯХ ПАТОЛОГИИ

Выявленные лечебные свойства пчелиного яда, позволяющие с успехом применять его при апитерапии разных заболеваний, описанных в предыдущей главе, не исчерпывают возможности использования яда при многих других заболеваниях. Так, описаны случаи успешного лечения пчелужалениями и препаратами простатита (Янигров, 1988), малярии (Христя, 1983), психиатрических и геронтологических заболеваний (Лудянский, 1993) и др. Еще более обширный спектр потенциальных терапевтических свойств пчелиного яда можно представить по материалам экспериментальных исследований. Чернов (1966) доказывает лечебное действие яда при экспериментальном, вызванном у животных миокардите, Киричек (1962) — о благотворном влиянии на секреторную и эвакуаторную функции желудка, Жданова с соавт. (1985) — о репаративной генерации резектированной печени животных. Ниже мы приводим результаты исследований лечебного действия пчелиного яда на моделях наиболее распространенных заболеваний и патологических состояний организма. В основном, это работы нашей кафедры, частично опубликованные в печати.

3.1. ПРОТИВОАРИТМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ 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 — ишемия, стенокардия, инфаркт и т.д. Из нижеприведенных 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 (Vick, Chipmann, 1970). В наших опытах мы изучили влияние пчелиного яда и его препарата сола-

пивен на разных моделях аритмий, вызываемых у животных. Использовали 5 экспериментальных моделей сердечных аритмий. В первой серии опытов на белых крысах и кошках исследовали течение аритмий смешанного типа, вызываемых введением аконитина или строфангина, и желудочковых аритмий, вызываемых введением адреналина. Во второй серии — на кошках изучали фибрилляцию желудочков, возникающую при прямом электрическом раздражении сердца прямоугольными стимулами: 50 Гц, 1 мс, 6 В, серия по 4 с, через электроды, наложенные на правое ушко предсердия и верхушку левого желудочка в условиях вскрытия грудной клетки и искусственной вентиляции легких. В третьей серии изучали влияние антиаритмических факторов в опытах на кошках, обездвигнутых дитилином и наркотизированных хлоралозой, на нейрогенные аритмии и гипертензивные реакции, возникающие при локальной стимуляции коры больших полушарий, промежуточного и среднего мозга. Кроме того, определяли влияние этих факторов на рефрактерный период сердца кошек по разработанному нами методу (Крылов, Синицын, 1981).

С целью сравнения эффективности пчелиного яда использовали лекарственные средства, основным фармакологическим свойством которых является антиаритмическая активность — новокаинамид, этmozин, этацизин в дозах, рекомендуемых для экспериментальных животных. Выбор указанных антиаритмиков 1-й группы обусловлен также тем, что лежащие в основе их антиаритмического действия общие свойства уменьшать быстрый входящий (натриевый) ток мембран кардиомиоцитов установлены и для пчелиного яда (Асафова с соавт., 1983).

В исследованиях было 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. В опытах на белых крысах ЭД₅₀ составила 0,2 мг/кг, ЛД₅₀ — 4 мг/кг, что свидетельствует о высоком антиаритмическом индексе (ЛД₅₀/ЭД₅₀) пчелиного яда.

В опытах с введением аконитина было установлено, что этот аритмик в дозе 0,1 мг/кг (внутривенно), определенной предварительно методом титрования, вызывает у белых крыс тяжелые аритмии смешанного типа, проявляющиеся в исчезновении зубца Р, неравномерности интервалов между желудочковыми комплексами,

появлении единичных и групповых экстрасистол, фибрилляции желудочков и остановке сердца.

Внутривенное введение пчелиного яда и препарата "Солапивен" в дозе 0,3 мг/кг на фоне развившихся аконитиновых аритмий приводит у 70% животных к восстановлению правильного синусового ритма. Этот эффект может быть полным или частичным, что выражается в кратковременном появлении синусового ритма, прерывающегося бигеминией или тригеминией. Предварительное введение Солапивена в тех же дозах задерживает появление нарушенного ритма сердечбиений, но не предупреждает их полностью. В контрольных опытах аконитин вызывает полигональные аритмии через 0,5-2 мин, тогда как на фоне действия пчелиного яда нарушения ритма возникают через 7-8 мин.

При моделировании строфагиновой аритмии было показано, что в контрольных опытах строфагин-К, вводимый кошкам внутривенно дробно в суммарной дозе 0,08-0,1 мг/кг, вызывал нарушение сердечного ритма, которое выражалось в виде полигональной экстрасистолы с пароксизмами желудочковой тахисистолы. Указанные аритмии были стойкими и продолжались 1-1,5 час. Введение на этом фоне Солапивена в дозе 0,2 мг/кг приводит к кратковременному восстановлению нормального ритма работы сердца, который, однако, через 2-3 минуты вновь переходит в неправильный — полигональный. Повторные введения препарата в тех же дозах также вызывают преходящее восстановление синусового ритма.

На адреналиновой модели аритмий, которая, в отличие от вышеописанных, имитирует перевозбуждение симпатического отдела вегетативной нервной системы, в опытах на кошках было установлено, что пчелиный яд предупреждает нарушения деятельности сердца. Внутривенное введение адреналина в дозе 20-50 мкг/кг вызывает через 5-15 с появление желудочковой экстрасистолы, продолжающейся 3-5 минут. Предварительное введение препарата яда в дозе 0,2 мг/кг у 50% животных полностью предупреждает аритмии, уменьшает их продолжительность и увеличивает скрытый период возникновения в остальных случаях. Аналогичный эффект оказывает новокаиномид (5 мг/кг) и этапизин (1 мг/кг). Однако антиаритмическое действие пчелиного яда отличается тем, что он не вызывает снижения биоэлектрической активности сердца, оцениваемой по ЭКГ.

В экспериментах с электрическим раздражением сердца возникала фибрилляция желудочков длительностью 25-30 с, приводящая к резкому падению артериального давления, которое восстанавли-

валось до исходного уровня сразу после выхода сердца из фибрилляции и появления первых эффективных сокращений сердца. Введение препарата пчелиного яда в дозе 0,1-0,2 мг/кг за 1-2 минуты до раздражения резко уменьшало длительность фибрилляции, а в 4 опытах из 10 полностью предотвращало ее появление. При этом падения АД не наступило. Новокаиномид и этмозин оказывали аналогичное действие (табл. 5, рис. 7).

В опытах с изучением нейрогенных аритмий было установлено, что при раздражении ретикулярной формации среднего мозга, структур промежуточного мозга и моторной зоны коры больших полушарий кошек прямоугольными импульсами амплитудой 5В, длительностью 1 мс, частотой 200 Гц при длительности стимуляции 5-15 с возникали нарушения ритма по типу желудочковой экстрасистолы различной длительности, в зависимости от раздражаемой структуры мозга.

Введение пчелиного яда и Солапивена в дозах 0,1-0,4 мг/кг за 3-5 минут до нанесения раздражения не блокировало нейрогенные аритмии при стимуляции указанных структур головного мозга, однако их длительность в 40% опытов существенно уменьшалась. Аналогичный эффект наблюдался после введения этмозина в дозе 3 мг/кг.

Влияние пчелиного яда на нейрогенные аритмии было неоднозначным. В указанных 40% опытов введение яда приводило к уменьшению длительности нарушений ритма сердца в среднем в 2 раза. Так, если в контрольных экспериментах длительность аритмий составила при раздражении ретикулярной формации среднего мозга 52 ± 8 с, а при стимуляции таламуса — 28 ± 3 с, то на фоне действия яда длительность аритмий уменьшалась соответственно до 24 ± 5 с и 15 ± 4 с ($P < 0,05$). В остальных опытах длительность нейрогенных аритмий после введения яда оставалась без изменений или даже увеличивалась.

Таблица 5

Влияние антиаритмиков на длительность фибрилляции сердца кошек после прямого электрического раздражения (M±m)

Вещества	Длительность фибрилляции, с
1. Физиологический раствор	$25,1 \pm 3,2$
2. Пчелиный яд, 0,2 мг/кг	$5,2 \pm 0,8$
3. Этмозин, 3 мг/кг	$6,5 \pm 1,0$
4. Новокаиномид, 5 мг/кг	$5,3 \pm 0,2$
	$P < 0,001$

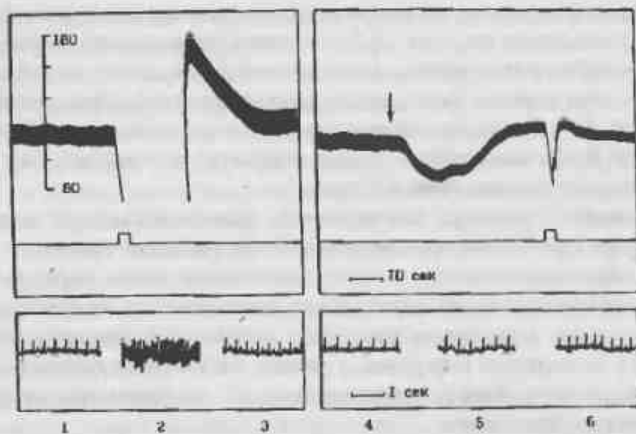


РИС. 7. Влияние пчелиного яда на экспериментальные аритмии сердца кошки, вызванные электрическим раздражением. Сверху вниз: артериальное давление (мм рт. ст.), отметки раздражения, электрокардиограмма. Нанесение на сердце электрического раздражения приводит к фибрилляции миокарда и падению артериального давления до 0, длительностью 20 с (2). Предварительное введение пчелиного яда (0,65 мг/кг, внутривенно, указано стрелкой) предотвращает возникновение фибрилляции (6) и уменьшает реакцию падения давления.

В основе антиаритмического действия ряда лекарственных средств лежит их способность удлинять рефрактерный период сердца. В связи с этим было исследовано влияние пчелиного яда на рефрактерность сердца в сравнении с этагидином. В результате исследований было установлено, что пчелиный яд в первую минуту после введения укорачивает рефрактерный период сердца, а затем несколько увеличивает его, но этот эффект выражен в меньшей степени, чем у этагидина (табл. 6).

Таблица 6
Влияние пчелиного яда и этагидина на рефрактерный период сердца кошек (исходный уровень — 100%, M±m)

Вещества	Время после введения		
	1-я мин	3-я мин	10-я мин
Пчелиный яд, 0,2 мг/кг	83,3±4,1	107,0±1,2	105,1±2,0
Этагидин, 1 мг/кг	115,7±5,8	122,9±5,5	96,7±5,5

Вышеприведенные данные свидетельствуют о том, что механизм антиаритмического действия пчелиного яда не связан с изменением эффективного рефрактерного периода, как это, например, характерно для антиаритмиков 3-й группы. В этом плане результа-

ты согласуются с данными Асафовой с соавт. (1983), где было установлено, что пчелиный яд уменьшает длительность потенциала действия трабекул предсердия лягушки. В то же время из наших экспериментов следует, 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, приводящие 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.

Дефибриллирующая активность пчелиного яда, по-видимому, обусловлена его антикоагулирующим (Омаров, 1977) и дезагрегационным (Корнева, Данилова, 1986) влиянием, так как фибрилляция желудочков сердца сопровождается увеличением агрегационной способности крови и повышением ее вязкости. Вместе с тем известно, что применение дезагрегационных средств предупреждает развитие тяжелых аритмий за счет повышения порога фибрилляции (Льюсов с соавт., 1979).

Таким образом, полученные нами экспериментальные и имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что пчелиный яд и Соплапивен обладают выраженным антиаритмическим действием на моделях суправентрикулярных и желудочковых аритмий сердца, развивающихся как по типу ре-энтри, 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 ре-энтри. По некоторым данным указанные антиаритмические средства в 30% случаев сами усиливают желудочковые аритмии. Другим преимуществом яда является его способность вызывать активацию гипофизарно-надпочечниковой системы на фоне умеренной гипотензии и повышения давления в желудочках сердца, что ведет к стабилизации ритма сердечной деятельности.

Проблема повышения устойчивости организма к действию ионизирующей радиации и к злокачественным новообразованиям в последнее время становится все более актуальной. Использование пчелиного яда в качестве радиопротектора, так же, как и в качестве противоопухолевого препарата, может иметь преимущества перед известными средствами в силу его естественности. При этом можно предположить, что указанные свойства яда будут основаны на его общем свойстве — повышении общей устойчивости (резистентности) организма к общеорганизменным патологическим процессам.

Первые исследования, проведенные на моделях радиационного поражения животных, которым предварительно вводился пчелиный яд, дали противоречивые результаты. Так, Lang (1970) было установлено, что яд в дозе 6 мкг/г при его введении за 24 часа до облучения в дозе 825 Р увеличивал выживаемость животных до 80% при 100% гибели мышей контрольной группы. Однако другими авторами примерно в тех же методических условиях не удалось выявить противолучевого действия яда (Петков, Овчаров, 1969; Артемов, Конькова, Сергеева, 1973). Артемов, Конькова (1968) показали также, что эффект отсутствует при действии малых доз яда, но при увеличении доз (ужалений) яда имеется тенденция к проявлению противолучевого эффекта.

Указанная зависимость была подтверждена позже, когда выяснилось, что эффективность радиозащиты зависит как от действующей дозы яда, так и от мощности лучевого воздействия (Канно, Ивао и др., 1970; Lang, 1970). Авторы показали, что малые дозы яда (1-3 мкг/г) оказывают слабое радиозащитное действие: выживаемость животных составляла в этих случаях 10-64% при 78-100% гибели животных контрольной группы. Дозы яда 5-6 мкг/г способствовали более высокой выживаемости (до 80%) даже при дозах облучения в 825-959 Р. При этом радиозащитный эффект пчелиного яда зависел от сроков его введения перед облучением. Оптимальные результаты радиопротекторного действия были получены, если яд вводился за 24 часа до облучения (Артемов с соавт., 1970; Shipman, Cole, 1967; Lang, 1970). В то же время, если яд вводился за 30 минут или за 6-12 часов, радиозащитный эффект был слабо выражен или отсутствовал.

Установлена зависимость радиопротекторного действия пчелиного яда от мощности радиационного поражения. Установлено, что пчелиный яд неэффективен при облучении животных смертельными дозами (выше 800 Р) (Артемов, 1968, 1973; Lang, 1970). Вместе с тем, при снижении дозы облучения до 500-600 Р (сублетальные) выживаемость животных существенно увеличивается. Так, выживаемость крыс, получивших пчелиный яд за 24 часа до облучения, через 30 дней после поражения была в 1,5-2 раза выше, чем выживаемость контрольных животных (Артемов с соавт., 1974; Ginsberg et al., 1968).

Показано, что за радиозащитный эффект яда отвечает в основном мелиттин (Садьков с соавт., 1974 и др.). Во всяком случае, именно работы с мелиттином показали более высокую выживаемость животных, подвергнувшихся облучению, по сравнению с цельным ядом. Так, при подкожном введении мелиттина выживаемость мышей через 30 суток после облучения составила 90-100%, в то время, как в контроле погибло около 60% животных (Конькова, Сергеева, 1974). При внутрибрюшинном введении мелиттина за 30 минут до облучения даже в смертельной дозе (1000 Р) выжило 42% животных, тогда как в контроле все мыши погибли (Ильющенок, 1974).

Более важные доказательства радиозащитного действия пчелиного яда и его компонентов, на наш взгляд, могут быть получены при терапии уже развившейся лучевой болезни препаратами яда. На этот счет имеются данные, полученные в нашей лаборатории (Орлов, Конькова, 1978), где после лучевого поражения животных применялся препарат яда апицит. Как однократное, введение в дозе 6 мкг/г апицита сразу после облучения, так и многократное введение малых доз через день после облучения, повышало выживаемость животных до 95%, приводило к более высокой средней продолжительности жизни и легкой форме лучевой болезни.

Недавно нами были проведены эксперименты по возможности терапии крыс после моделируемого лучевого воздействия. Животные облучались γ -лучами в дозах, вызывающих лучевую болезнь средней (3 Гр) и тяжелой (5 Гр) степеней тяжести, с характерными поражениями системы крови и кроветворения (костно-мозговой синдром). Через час после облучения и ежедневно в течение недели животным вводили пчелиный яд в терапевтических дозах (0,1-0,2 мг/кг). Животным контрольной группы вводился физиологический раствор. Динамику выздоровления животных оценивали в течение

месяца после облучения и начала лечения, анализируя состояние животных, показатели кроветворных органов, некоторые биохимические и морфологические параметры крови. Результаты анализа элементов периферической крови животных приведены в таблице 7. Как видно, апитерапия лучевой болезни приводила к более быстрому восстановлению сниженного количества как красной, так и белой крови. Вместе с тем было установлено, что при лечении животных пчелиным ядом, у них существенно быстрее уменьшалась повышенная после облучения активность перекисного окисления липидов с соответствующим изменением активности антиоксидантной системы. По сравнению с контрольными животными у опытных более быстро восстанавливались гемолитическая и кислотная резистентность эритроцитов (Корягин и др., 1994).

Таким образом, можно заключить, что пчелиный яд может быть не только эффективным радиопротектором, но и способствовать более эффективному лечению лучевой болезни. Обсуждая возможные механизмы радиозащитного эффекта пчелиного яда, кроме повышения общей резистентности организма за счет активации нейро-гуморальной системы, можно предположить, что компоненты яда участвуют во многих процессах на уровне клеток и органов, направленных на восстановление нарушенных функций в результате радиационного воздействия.

Таблица 7
Изменение количества лейкоцитов (тыс/мкл) и эритроцитов (млн/мкл) в крови крыс (М±m) при лечении лучевой болезни пчелиным ядом

Этапы	До облучения	После облучения (сутки)		
		7	14	21
Серия опытов				
Лейкоциты, доза облучения 3 Гр				
Контроль	11,7±0,4	5,1±0,5*	4,0±0,5*	8,1±0,6*
Пчелиный яд (0,1 мг/кг, 7 дней)	11,7±0,4	8,4±0,4	5,6±0,4*	9,2±0,7
Эритроциты, доза облучения 5 Гр				
Контроль	4,5±0,1	4,0±0,2	3,8±0,1*	3,9±0,1
Пчелиный яд (0,5 мг/кг, 7 дней)	4,5±0,1	4,5±0,2	4,3±0,1	4,3±0,2

Примечание: * - отмечены показатели, существенно ($P < 0,05$) отличающиеся от контроля

Так, из наших данных следует, что на фоне радиационного воздействия пчелиный яд продолжает проявлять эффект, установленный на интактных животных — стимулирует гемопоэз. Следует учитывать факт угнетения мелитином окислительных процессов в тканях облученного организма (Конькова, Сергеева, 1974;

Shipman et al., 1977). Известно предположение о вкладе в противолучевой эффект апамина, который может проникать в центральную нервную систему и изменять регуляторные процессы, направленные на восстановление нарушенных процессов (Тиунов с соавт., 1977), гистамина, серотонина и других агентов, высвобождающихся в тканях при воздействии пчелиного яда и являющихся непосредственными эндогенными радиопротекторами (Гончаренко, 1971). Указанные радиопротекторы могут существенно изменить биохимический фон организма и тем самым снизить уровень активности эндогенных сенсibilизаторов (Бак, 1968).

Механизмы профилактического воздействия пчелиного яда перед радиационным поражением, видимо, опосредованы теми же свойствами яда. Как видно из приведенных данных литературы и собственных исследований, радиопротекторный и радиозащитный эффекты проявляются при действии высоких доз яда, т.е. таких, которые угнетают многие функции организма — биохимические процессы энергообразования, рефлекторные ответы, тормозят воспалительные и иммунные процессы, способствуют развитию умеренной гипоксии на разных уровнях и т.д. Возможно, эта тенденция организма к анабиозу под влиянием больших доз яда служит защитную службу при радиационных воздействиях на органы и ткани. В этом плане следует отметить выраженное и широко известное радиопротекторное действие змеиных ядов (Орлов, Конькова, 1978 и др.; Халиков и др., 1977). В соответствии с этим можно предположить, что профилактика пчелиным ядом лучевого поражения может протекать по следующей цепи: активация нейроэндокринной системы — увеличение содержания глюкокортикоидных гормонов — временное умеренное угнетение эритро- и лейкопоэза в костном мозге — лучевое воздействие на фоне временного торможения гемопоэза — последующая адаптационная активация гемопоэза и других процессов организма. В этой цепи наиболее важным является нанесение радиационного поражения в период, когда наиболее динамичные процессы (гемопоэз и т.д.) находятся в стадии своеобразного охранительного торможения и не воспринимают ионизирующее излучение в полной мере.

На удивление мало работ, посвященных исследованию противоопухолевого действия пчелиного яда, в то время, как широко изучены подобные свойства многих змеиных ядов и фракций, выделенных из них (см. обзор Орлова, Коньковой, 1982). Теоретически можно предвидеть, что пчелиный яд содержит ряд пептидов, обладающих выраженным цитотоксическим действием, ответст-

вешным за противоопухолевый эффект подобно фракциям змеиных ядов. Вместе с тем известно, что люди, постоянно контактирующие с пчелами (в основном, пчеловоды), в меньшей степени подвержены заболеваниям злокачественными новообразованиями. Н.М. Артемов (1941) ссылается на работу Yoannovitch, Chakovitch (1932), которые описали регрессию опухоли уха кролика, превращавшуюся детем, при инъекции яда пчел. Было показано, что опухоли сначала размягчались, а потом исчезали. Единичные данные (Navas, 1950; Алпатов, 1951) указывают на противоопухолевое действие пчелиного яда при других видах опухолей. Напротив, Лобачев (1958) с соавт. не получили положительного эффекта при лечении пчелиным ядом злокачественных опухолей.

Стоит отметить промелькнувшее недавно в печати сообщение о создании в одной из лабораторий нового лекарственного средства из пчелиного яда против злокачественных новообразований. Несмотря на большие сомнения, основанные на примерах таких сообщений, выдающих желаемое за действительное и не подтвердившееся потом на практике, хочется верить, что пчелиный яд, обладая рядом свойств (цитотоксическое, противовоспалительное, и т.п. действие), направленных на торможение нерегулируемых процессов в организме, может оказаться ценным природным средством против раковых заболеваний.

3.3. ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ПЧЕЛИНОГО ЯДА ПРИ ПЕРЕГРЕВАНИИ ОРГАНИЗМА

Гипертермия (перегревание) организма может возникать не только при заболеваниях человека типа лихорадки, но и во многих других ситуациях. Работа или просто нахождение людей в районах с жарким климатом (аридных зонах) могут приводить к нарушениям терморегуляции соответствующим перегреванию. Работа в различных замкнутых помещениях, скафандрах (гермообъемах) космонавтов, подводников и т.п. Наконец, лечение различных заболеваний высокими температурами (например, онкологических, что сегодня практикуется). Во всех перечисленных ситуациях было бы существенно повысить сопротивляемость организма к повышенным и высоким температурам.

В нашей лаборатории недавно были получены интересные результаты, свидетельствующие о том, что пчелиный яд может оказывать защитное действие на организм в условиях искусственного перегревания. В работах Ягина с сотр. (1986, 1989) было установ-

лено, что при выдерживании крыс в климатической камере при температуре 50°C продолжительность жизни животных составила 45±0,5 минут. Другая группа животных, которым предварительно внутривентриально вводился пчелиный яд в дозе 2 мг/кг (0,3 от средней смертельной дозы), в аналогичных условиях жила 69±3 минуты, т.е. в 1,5 раз дольше контрольной группы крыс. Анализируя полученные результаты, авторы показали, что, если в контроле в крови животных происходило снижение количества эритроцитов и гемоглобина, то у опытных животных, которым предварительно вводился пчелиный яд, отмечался существенный эритроцитоз и ретикулоцитоз. Так, если в середине срока пребывания в климатической камере (20-30 минут) содержание эритроцитов у контрольных животных составило 8 млн/мкл, то у опытных — 9,5 млн/мкл. Соответствующее увеличение содержания гемоглобина составило 193 г/л против 165 г/л в контроле (Хомутов и др., 1990).

Меньшие изменения были выявлены со стороны белой крови. Картина (лейкоцитарная формула) менялась однонаправленно и в опыте (с ядом) и в контроле (без яда) при нагревании животных при 50°C: уменьшалось количество лейкоцитов, но в процентном отношении увеличивалось количество эозинофилов и снижалось число лимфоцитов. Однако эти изменения белой крови были не так существенны, как изменения красной крови и гемоглобина.

Полученные результаты пока трудно объяснимы и нуждаются в дальнейшем анализе. Однако уже по приведенным данным можно предположить, что при действии пчелиного яда в условиях перегревания организма проявляются его свойства активизировать неспецифическую защитную реакцию организма. Об этом свидетельствуют и повышенный гематокрит, т.е. содержание эритроцитов и гемоглобина, и ускорение обновления крови (повышение числа ретикулоцитов — молодых форм эритроцитов). В свою очередь, это позволяет повысить кислородную емкость крови, а, соответственно, и энергетический обмен организма, с целевым направлением на адаптацию организма к повышенной температуре.

Приведенные фактические материалы свидетельствуют, что пчелиный яд может быть использован не только как лекарственное средство, но и как эффективный адаптоген и актопротектор в экстремальных условиях существования деятельности человека.

Рассуждая о возможных механизмах защитного действия пчелиного яда в условиях перегревания организма, следует предположить участие в выявленном эффекте так называемых белков тепло-

вого шока, открытых сравнительно недавно. Показано, что при резких температурных перепадах в организме животных и растений образуются белки с иными, чем в норме свойствами — белки теплового шока. Сделано предположение, что это — адаптивная реакция организма, которая реализуется в ответ на тепловой стресс на уровне генетической программы синтеза ферментов, устойчивых к повышенной температуре. В соответствии с этим логично допустить возможность активации пчелиным ядом такой генетической программы организма с соответствующим насыщением тканей определенными белками, способствующими переживанию клеток и органов в гипертермических условиях.

В связи с вышеприведенным предположением укажем на установленный факт защиты мелиттином яда тепловой коагуляции альбумина и гамма-глобулина сыворотки крови (Шкендеров, Иванов, 1975). Авторы показали, что такой защитный эффект мелиттина в отношении устойчивости белков крови проявляется только при минимальных концентрациях пептида и пропадает при увеличении концентрации. Такие же малые концентрации мелиттина (0,05-2 мкг/мл) защищали внутриклеточные лизосомы от разрушения их мембран, в то время, как большие концентрации вызывали типичный для мелиттина эффект: разрушали мембраны лизосом.

Сопоставляя указанные свойства мелиттина и литературные данные о белках теплового шока, можно допустить, что пчелиный яд в условиях перегревания организма животных, с одной стороны, активирует генетическую программу синтеза устойчивых к температуре белков, а с другой — возможно непосредственно изменяет их свойства в том же направлении — устойчивости к температуре. Кроме того, устойчивость к гипертермии может быть опосредована стабилизацией пчелиным ядом лизосомальных ферментов, их удержанию в лизосомах и, соответственно, предотвращению их деструктивной активности в организме при температурном стрессе.

4. ПОЛУЧЕНИЕ ПЧЕЛИНОГО ЯДА НА ПАСЕКАХ*

4.1. ПРИНЦИПЫ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЯДА

Самый чистый пчелиный яд без примесей может быть получен простым и давно известным способом — от индивидуальных пчел. Для этого живая пчела берется пальцами или пинцетом, другим тонким пинцетом жало извлекается из брюшка, после чего начинается автоматическое выделение ядовитого секрета. Прикасаясь кончиком жала к краю стекла, на него можно получить быстро высыхающую каплю яда. После этого берется следующая пчела и процесс повторяется. Со стекла теряется лишь вода и летучие соединения ядовитого секрета. Такой яд применяется в основном для тонких аналитических реакций или физиологических исследований. Однако указанный способ получения яда неприемлем для получения больших количеств яда из-за низкой производительности и большой трудоемкости.

По мере возникновения необходимости получения яда пчел в больших, промышленных количествах, совершенствовались методы и способы его отбора у пчел. Еще Флури (1920) предложил получать яд, помещая большое количество пчел в банки и давая наркоз. Пчелы при этом жалили стенки банки или различные волокнистые материалы, помещенные туда. Затем пчел и банку ополаскивали водой, в которую переходили вещества яда. Если упарить полученный раствор, то можно получить сухой яд, разумеется, с большим количеством грязи. В дальнейшем этот метод, особенно на стадии очистки яда, усовершенствовался. Так, сегодня раствор можно профильтровать, затем заморозить очищенный раствор, а воду из него выпарить в вакууме. Оставшийся после такой процедуры — лиофилизационный, лиофилизированный яд чистый, белый, однако лишен ряда биологических свойств: при растворе-

* Разделы 4 - 6 написаны в соавторстве с ассистентом Л.В. Ошевенским.

нии и заморозке-разморозке инактивировались некоторые неустойчивые его компоненты.

Лиофилизированный яд из раствора можно получить, заставляя массу пчел жалить различные подложки — вату, волокна, пленки и т.д., а затем растворяя содержащийся в них высохший яд. Проблема заключается в выборе средств, методов принуждения массы пчел к ужаливанию. Этот следующий этап развития технологии промышленного получения пчелиного яда характеризуется применением различных механических и химических методов раздражения пчел. Однако такие методы также оказались малорентабельными.

Подлинный переворот в технологии промышленного получения пчелиного яда произошел, когда в качестве раздражителя был применен электрический ток. Дело в том, что в основе всех рефлекторных физиологических реакций организма человека и животных лежат электрические, точнее — биоэлектрические процессы, то есть метод электрического раздражения удобен тем, что электрический импульс, наносимый на живую ткань извне, будет адекватным, физиологическим раздражителем. Можно подобрать сигнал такой величины и формы, чтобы он вызвал раздражение, приводящее к ужалению, но не был бы опасен для жизнедеятельности пчелы. Впервые указанный метод раздражения пчел для получения яда был описан Марковичем и др. из Чехословакии в 1954 году. Болгарские авторы отдают первенство в применении электрического раздражения пчел Лазову (1960), также как американцы — Бентону с сотрудниками (1963). Возможно, это связано с конструктивными особенностями их электрических стимуляторов и аппаратов для сбора в целом. Здесь необходимо отметить, что в основе ядоприемников, т.е. подложек, куда попадает выделившийся из жала яд, идеальным оказалось, как и при других способах, стекло — жало не застревает, а высохший секрет легко счищается резакон. В отличие от Марковича и Лазова, Бентон с сотрудниками, предложили покрывать стекло нейлоновой тканью, сквозь которую проходит жало, но не попадают на стекло различные механические примеси с тела пчел и окружающей среды.

Первые отечественные разработки электрической стимуляции пчел для получения яда появились в нашей лаборатории под руководством Н.М. Артемова в 1965 году. Тогда же было получено авторское свидетельство на изобретение соответствующего аппарата. В отличие от зарубежных разработок в нашей стране было предусмотрено повышение производительности за счет более полного

опорожнения ядовитого резервуара пчел при раздражении электрическим током. Это было решено путем сочетания принципа одновременного раздражения большого числа пчел электрическим током с ужалением через специальную волокнистую пленку животного происхождения, в которой жало плотно застревало и могло быть оторвано от пчелы, что обеспечивало полноту выделения яда от каждой пчелы. Вместе с тем эта пленка полностью исключала загрязнение яда. Наиболее эффективной оказалась пленка, полученная из серозной оболочки кишечника крупного рогатого скота, специально обработанная и высушенная. Она дешева и может производиться в массовых количествах, легко прокалывается жалом пчелы и в то же время пчела не может выдернуть жало обратно, поэтому яд из резервуара пчелы выделяется полностью. Разумеется, такой метод предусматривает гибель пчел и может быть распространен в тех случаях, когда пчел уничтожают, как это делают осенью при пакетном пчеловодстве или специализированных пасеках.

Современный комплекс аппаратуры для получения промышленных количеств пчелиного яда на пасеках включает два основных компонента — электрический стимулятор и ядоприемник. Электрический стимулятор представляет собой генератор импульсов тока определенной величины и формы, достаточных для того, чтобы при подведении к телу (конечностям) пчелы вызвать у нее раздражение, рефлекторной реакцией на которое будет реакция ужаления. При этом величина тока значительно меньше той, при которой пчела может погибнуть.

Ядоприемник является вторым неотъемлемым компонентом комплекса и в принципе представляет собой систему близко расположенных между собой проводов-электродов, через которые импульсы со стимулятора доводятся до тела (конечностей) пчелы. Под проводами-электродами обычно находится стекло — собственно ядоприемник. Пчела, находящаяся на проводах-электродах, замыкает их в цепь и принимает удар импульсного тока. Возникающая при этом реакция ужаления приводит к тому, что скользящего по стеклу выдвинутого из брюшка пчелы жала стекает ядовитый секрет, который при высыхании и представляет собой сухой пчелиный яд. Ниже мы более детально рассматриваем элементы технологии промышленного получения яда пчел.

4.2. ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯТОРЫ

В настоящее время существует большое количество разнообразных конструкций электрических стимуляторов пчелоужаления. Однако все они в принципе сходны и удовлетворяют основным условиям промышленного получения пчелиного яда: наличие возможности одновременного отбора яда у большого количества пчел при сохранении их живыми. Анализ выпускающихся сегодня разнообразных конструкций таких электростимуляторов позволяет сделать вывод, что все они однотипны и так или иначе повторяют схему серии НИИХ (НИИ химии при университете), опубликованную нами около 20 лет назад (Солодухо с соавт., 1977, 1978) и в дальнейшем усовершенствованную (Ошевенский с соавт., 1985). Отличие же всех разнообразных приборов сегодня заключается в основном, в сервисе аппарата: предусматриваются автоматические или ручные режимы управления формой, частотой, амплитудой выходного сигнала, его временем работы, включения и выключения; световая и звуковая индикация работы и т.д. Соответственно, усложнение сервиса ничего принципиально нового, кроме уменьшения надежности, в принцип работы не вносит. В связи с этим, на наш взгляд, дальнейшая оптимизация электрического стимулятора для пчел может быть достигнута за счет упрощения, удешевления и унификации элементной базы, позволяющей собрать такой прибор самостоятельно. В качестве примера такой оптимизированной схемы электростимулятора, разработанного и апробированного нами на пасеках, ниже мы приводим схему прибора, позволяющего обрабатывать небольшую приусадебную пасеку в 5-15 пчелосемей (рис. 8). На рис. 8 приведена схема, апробированная в лаборатории и на пасеках, выполненная на недефицитных элементах, выпускающихся промышленностью. Основным элементом схемы является задающий генератор электрического сигнала, выполненный по схеме мультивибратора на микросхемах (элементы Д1.3, Д1.4, R₃, C₂). Генератор вырабатывает сигнал прямоугольной формы частотой 1000 Гц ± 200 Гц при скважности 2. Элементы R₃, C₂ являются времязадающими и определяют конкретную частоту генерации. Для формирования пакетов (пачек) импульсов и пауз между ними задающий генератор управляется вторым генератором, выполненным по той же схеме (элементы Д1.1, Д1.2, VD1, R₁, R₂, C₁). Этот генератор вырабатывает импульсы длительностью 0,5-1 с с частотой следования 0,5-0,3 Гц. Регулировка длительности пачки импульсов осуществляется резистором R1, регулировка пауз между

пачками — резистором R_2 . Сформированный на генераторах сигнал усиливается на транзисторах VT_1 , VT_2 , VT_3 , VT_4 с высоким КПД. Для согласования усилителя мощности с электродами ядоприемников на его выход подключен автотрансформатор T_1 (Ш 16x16; I-50 витков ПЭВ-2, d 0,44; II — 300 витков), повышающий выходное напряжение до требующихся 25-35 В. Дополнительные элементы R_4 , VD_2 , P_1 обеспечивают световой и звуковой контроль работы устройства. Испытания показали, что в режиме паузы потребляемый ток составляет 1 мА, при максимальной нагрузке — 150 мА, ток короткого замыкания — 300 мА, нагрузочная способность без потери мощности — 1000 Ом. Питание прибора осуществляется аккумулятором (12 В), или любым стабилизированным источником постоянного тока указанного напряжения.

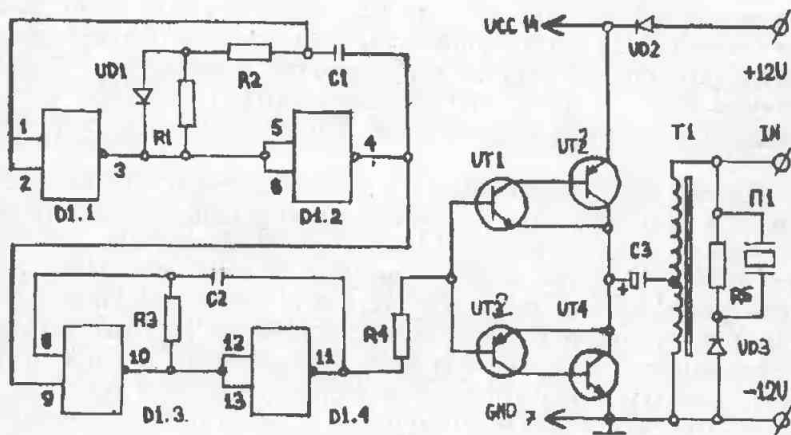


РИС. 8. Принципиальная схема электростимулятора "ЖАЛЮ" для получения пчелиного яда

R_1 1,5 мОм МЛТ 0,125

R_2 2,0 мОм - -

R_3 62 кОм - -

R_4 5,1 кОм - -

R_5 53 кОм - -

C_1 0,47 мкФ КМ-5

C_2 10 нФ - -

C_3 50 мкФ К50-6

VD_1 КД 521

VD_2 КД 212

VD_3 КД 307

VT_1 КТ 315

VT_2 КТ 361

VT_3 КТ 814

VT_4 КТ 815

D_1 К 561ЛA7

P_1 ЗП-3

Трансформатор Ш 16x16

I - 50 витков ПЭВ-2 d 0,44

II - 300 витков - -

Как видно из приведенного описания и схемы, принцип действия такого оптимизированного электростимулятора для получе-

ния пчелиного яда, так же, как и всех известных сегодня разновидностей, заключается в выработке импульсного электрического сигнала определенной частоты, причем импульсы сгруппированы в пачки, между которыми имеются паузы молчания. Соответственно, можно варьировать все указанные параметры — величину и форму импульсов, их частоту, длительность пачек и пауз между ними — в широких пределах. Каких? В приведенном стимуляторе "Жало" эти параметры подобраны и зафиксированы. В других приборах они могут регулироваться как самим оператором, так и автоматически. Почему мы считаем выбранные уровни параметров оптимальными? Во-первых, потому, что в течение двух десятков лет нами и другими исследователями производился опытный подбор указанных параметров раздражения, который оценивался, с одной стороны, по количеству получаемого яда, а с другой — по падающему воздействию на пчелу. Во-вторых, что нами было сделано сравнительно недавно, получены теоретические подтверждения оптимальности выбранных характеристик раздражения. Подобранные опытным путем, они оказались соответствующими физиологическим характеристикам пчелы. Рассмотрим это более детально.

Прежде всего, необходимо принять к сведению, что организм пчелы в анатомическом, биохимическом и функциональном (поведенческом) аспектах не отличается от других организмов. Поэтому все физиологические законы, присущие живому организму, распространяются и на пчелу. Так же, как и другие животные, пчела имеет центральную и периферическую нервную системы, мышцы, которыми эти системы управляют. Управляющие команды нервной системы регулируются в свою очередь сигналами, приходящими по чувствительным нервным путям от рецепторов, находящихся повсеместно — внутри и на поверхности организма. В связи с этим управляющие команды будут приводить к действию, адекватному изменению условий внешней или внутренней среды, направленному на поддержание или обретение "комфортного" состояния организма.

Рассмотрим пример. Если несильно каким-либо предметом надавить на тело пчелы, она будет поднимать лапки, крылья. Если давление усилить — пчела попытается улететь. Наконец, сильное надавливание приведет к высовыванию жала и попытке ужалить. Все эти реакции — инстинктивные сложные рефлексy, вроде того, когда после удара молоточком терапевта по коленному сухожилию у человека отдергивается голень. Из примера следует, что дан-

ные рефлексы и соответствующие реакции градуальны и зависят от силы раздражающего действия, то есть пчела будет жалить только при достижении определенной, пороговой силы раздражителя.

Кроме того, для более четкого ответного рефлекса важна и природа самого раздражителя. Выше мы уже отмечали, что при получении яда наиболее эффективным оказалось не механическое или химическое, а электрическое раздражение, поскольку и нервы и мышцы (возбудимые ткани) функционируют благодаря биоэлектрическим процессам, протекающим в них. При этом активность носит импульсный характер! Если эти импульсы нервных волокон усилить и подать на экран осциллографа, то можно увидеть весь спектр этой активности — от полного молчания, до низкоамплитудной фоновой (дежурной) активности и высокоамплитудных импульсов, сформированных в пачки при возбуждении нерва.

В связи с вышерассмотренным становится понятным, почему не получил распространения в качестве раздражителя постоянный ток, изучавшийся ранее. Установлено, что постоянный ток, т.е. ток, величина и направление которого постоянны (например, от аккумулятора), будет вызывать ответ возбудимых тканей только в момент включения и выключения. Кроме того, проходя по тканям, он вызывает их разогрев, различные электрохимические процессы (перенос заряда), соответственно, разрушение тканей. В экспериментальных условиях показано, что при получении пчелиного яда с помощью постоянного тока наблюдается большая гибель пчел: у погибших пчел отмечаются характерные позы — челюстями они сжимают проволочные электроды ядоприемников, крылья расправлены в стороны, хоботки расправлены. Это регистрировалось, когда постоянный ток достигал значительной величины — при малой же (до 20 В) он был неэффективен, ужаления не происходят.

Логично предположить, что более адекватной будет раздражение, наносимое в режиме импульсов, причем частота этих импульсов также должна соответствовать физиологической частоте. Установлено, что нервная цепочка насекомых обладает фоновой биоэлектрической активностью, т.е. некоторым постоянным фоном низкоамплитудных потенциалов (импульсов), имеющим частоту 500-700 импульсов в секунду (Верецагин, Лапицкий, 1982 и др.). Более того, такая фоновая активность наиболее выражена в грудных и последнем брюшном ганглии насекомых, где сосредоточены локомоторные центры, обслуживающие половые органы, и, следовательно, жалящий аппарат пчел. Из этих данных следует, что оп-

тимальная частота электрических импульсов раздражения пчел должна лежать в интервале 500-1000 Гц. Опытным путем мы показали, что наиболее эффективна частота в 1000 ± 200 Гц.

При возбуждении фоновая активность усиливается, появляются пачки высокоамплитудных импульсов, что в конечном итоге приведет к ответу иннервируемой ткани или органа. Эти законы хорошо изучены у человека и животных, они же характерны и для пчел. Переход ткани или органа из состояния физиологического покоя в состояние физиологической активности под влиянием раздражителя произойдет, если последний будет иметь некоторую минимальную пороговую силу — порог раздражения. Стимулы, сила которых ниже пороговой, не вызывает реакции организма.

Порог раздражения находится в зависимости от длительности стимула и крутизны его нарастания. Чем медленнее нарастает величина электрического раздражителя, тем выше становится порог, при котором возникает реакция на раздражение (явление аккомодации). Наоборот, мгновенно нарастающий стимул вызовет реакцию ткани при меньшей величине. Поэтому наиболее эффективными оказались электростимуляторы, у которых передний фронт (крутизна) импульса наиболее короток — генераторы прямоугольных импульсов. Длительность такого прямоугольного стимула (импульса) обычно составляет 0,5-1 мс, что также соответствует длительности биоэлектрических импульсов возбудимых тканей животных — у насекомых она не превышает 4 мс.

Выше мы указывали, что при возбуждении импульсная активность нервных волокон становится залповой — появляются пачки высокоамплитудных импульсов. Это свойство — одиночные и залповые импульсы, — становится особенно важным, когда объект раздражения — мышцы. Дело в том, что при одиночном стимуле даже большой силы мышца отвечает одиночным сокращением. Однако, если на мышцу подать пачку импульсов определенной частоты, то мышца отвечает суммированным, слитным сокращением, гораздо большим по величине, чем одиночное сокращение. Только благодаря таким тетаническим сокращениям и происходит целенаправленное локомоторное действие мышечного аппарата организма — поднимается или опускается конечность, удерживается в необходимой позе часть тела и т.д. Соответственно, более полно и мощно сократятся мышцы, опорожняющие ядовитый резервуар пчелы при ужалывании. Такое тетаническое сокращение произойдет, если частота следования импульсов в пачках составляет не менее 500 Гц.

С другой стороны, для более полного выброса яда из мышечного резервуара, мышцы его стенок должны работать в режиме насоса — периодическом сокращении и ослаблении. Соответственно, должны быть предусмотрены интервалы молчания (паузы) между пачками импульсов. Пауза между пакетами импульсов должна быть не менее времени полного расслабления мышечных структур — только в этом случае мышцы избавятся от остаточной тетанической контрактуры и сократятся более мощно при следующих стимулах. В соответствии с расчетными данными и экспериментальными результатами длительность пачек стимулов и пауз между ними примерно одинакова и составляет 0,5-1 с. Именно такая продолжительность достаточна для того, чтобы вызвать полноценное тетаническое сокращение и последующее полное расслабление мышц жалящего аппарата пчел.

В соответствии с выбранной оптимальной длительностью отдельных стимулов, оказалась оптимизированной и амплитудная, пороговая характеристика их. При вышеуказанных параметрах длительности и формы импульсов оптимальная амплитуда их составила 25-35 В. Эта величина оказалась вполне достаточной для полного опорожнения ядовитого резервуара пчел. Вместе с тем при указанных режимах стимуляции существует достаточный диапазон амплитуды, не наносящий ущерба жизни пчел: лишь при достижении величины в 80 В возникает паралич конечностей, сопровождающийся гибелью пчел на электродах.

В условиях пасеки нами было подтверждено, что повышение амплитуды импульсного тока выше 35 В не приводило к дальнейшему увеличению ядоотдачи. Не было также выявлено отличия между действием импульсов однополярной или биполярной направленности. Одинаковый выход продукта как по количеству, так и по качеству был показан при стимуляции прямоугольными импульсами и монополярного и биполярного направления.

Исследования по оптимизации раздражения пчел при отборе яда привели нас к тому, что, кроме учета физиологических особенностей возбудимых тканей насекомых, необходимо учитывать и общеповеденческие реакции организма, как условно-рефлекторные, так и инстинктивные. Дело в том, что выявленные выше амплитудные, частотные и временные характеристики электростимуляторов имеют ритмический (периодический) характер, т.е. имеют повторяемость эффективных значений раздражающего тока, временных интервалов пакетов и пауз раздражающих импульсов. Такая ритмичность приводит к появлению у пчел эффекта привычка-

ния к раздражителю, следствием чего является снижение эффективного значения тока в цепи электродов ядоприемника во времени (пчелы уходят с ядоприемников). Экспериментально нами было показано, что такое привыкание появляется на 40-60 минутах работы электростимуляторов. В таблице 9 приводятся результаты измерения эффективного тока в цепи электродов во времени одного из применяемых электростимуляторов "Апис-50" (Новоросийск) при ядоотборе у пчел.

Т а б л и ц а 9

Время, мин	Ток, мкА "Сполох"	Ток, мкА "Апис-50"
5	60	30
10	60	30
20	30	30
30	30	30
40	30	15
60	30	10
120	30	10

Таким образом, как следует из таблицы, при работе стандартного электростимулятора уже на 40 минуте, в результате привыкания и ухода пчел с электродов, в 2 раза снижается производительность ядоотбора.

С учетом приведенных результатов нами был разработан электростимулятор, повышающий при прочих равных условиях производительность ядоотбора у пчел за счет нарушения ритмичности раздражителя, получивший название "Сполох" (Авт. свидетельство СССР № 1566523, 1990, ДСП).

В данном приборе генератор импульсов выполнен в виде генератора шума, первый выход которого соединен с двоично-десятичным счетчиком, подключенным через регистр памяти и цифроаналоговый преобразователь к интегратору со сбросом, причем выход интегратора соединен с регистром памяти, а выходы регистра памяти, через элемент 4И-НЕ — с первым входом ключевого элемента, а второй вход соединен со вторым выходом генератора электрического шума, а выход (ключающего элемента) — через усилитель мощности, с электродами ядоприемников.

В результате в электростимуляторе "Сполох" вырабатывается сигнал, имеющий сложную аperiodическую форму. Соответственно, диапазон такого спонтанно изменяющегося раздражающего электрического сигнала составляет по частоте от 50 до 2000 Гц, по амплитуде — от 0 до 30 В, длительности пакетов импульсов от 0,1 до 1 с, длительности пауз между пакетами — от 0,5 до 2 с.

При испытании разработанного устройства в сравнении со стандартными было установлено, что время активной ядоотдачи пчелами увеличивалось и составило 1,5-2 часа, тогда как в известных случаях оно было 30-40 минут (табл. 9). Это преимущество

разработанного устройства было подтверждено и оценкой полученного яда. При одинаковом качестве (по ФС "Яд пчелиный") от пчелиной семьи массой 4 кг "Сполохом" было получено за 2 часа 480 мг яда, тогда как при использовании НИИХ-5 — 320 мг, а при использовании "Апис-50" — 308 мг яда. Кроме того, оказалось, что максимальный ток в цепи устанавливался уже при 15 В (вольтметр на базе М4248,2) и дальнейшее увеличение амплитуды сигнала не приводило к значимому увеличению количества получаемого яда. То есть оптимизация аperiodическим сигналом создает и более щадящий режим раздражения за счет уменьшения амплитуды раздражителя.

Мощность электростимулятора "Сполох", питающегося от автомобильного аккумулятора, позволяет получать яд одновременно от 50-100 пчелосемей. Зачастую при практическом использовании пчеловодом-любителем такой необходимости нет. В этих случаях мы рекомендуем следующую модификацию отбора яда по принципу "Сполоха". За основу берется обыкновенный магнитофон. Нами испытан на пасеках магнитофон "Легенда-404" со скоростью лентопротяжки 2,38 см/с. Магнитофон подключают к электростимулятору "Сполох" через RC фильтр низких частот (частота среза 5 кГц) по радиотрансляционному входу. Производят запись сигнала электростимулятора на компакт-кассету. При воспроизведении записанного сигнала на выходе магнитофона получают сигнал, соответствующий записанному. Для согласования выхода магнитофона с электродными рамками-ядоприемниками (до 20 рамок) вместо громкоговорителя магнитофона подключают вторичную обмотку трансформатора ТАГ-III, обычно используемого в абонентских громкоговорителях. К первичной обмотке трансформатора подключают кассеты ядоприемников. Амплитуду сигнала на ядоприемниках, равную 25-35 В по вольтметру при частоте 1000 Гц, устанавливают регулятором громкости магнитофона. Таким устройством можно успешно получать яд одновременно от 5-10 пчелосемей. Кассету с записью сигнала "Сполоха" можно приобрести по месту разработки прибора — в Нижегородском университете. Укажем, что аналогичным образом можно записать сигнал раздражения от любого стандартного электростимулятора для получения пчелиного яда.

Вообще говоря, маломощные электростимуляторы хороши тем, что за счет миниатюризации их можно размещать непосредственно на рамке-ядоприемнике или кассете, устанавливаемые в улье или на улье. В свою очередь, это позволяет оптимизировать полу-

чение яда путем автоматизации раздражения. В качестве примера такого стимулятора приведем наше устройство, защищенное авторским свидетельством № 1409172, 1988 (рис. 9).

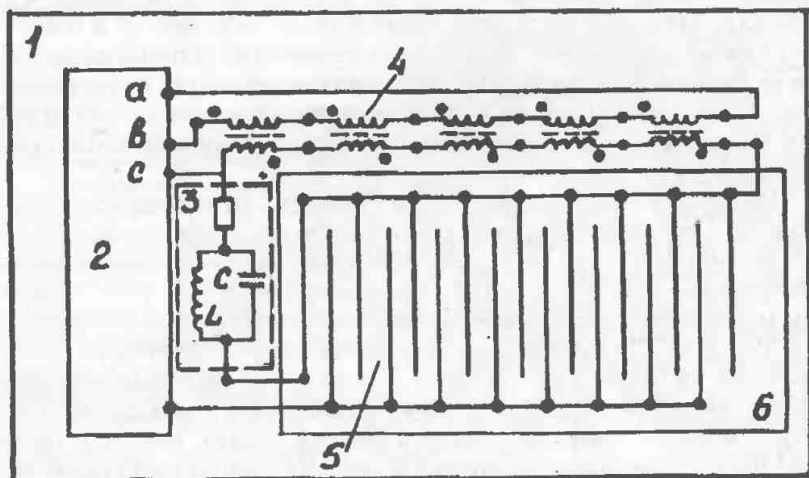


РИС. 9. Устройство для массового получения пчелиного яда у пчел.

1 - кассета ядоприемника; 2 - генератор импульсов с перестраиваемой частотой; 3 - колебательный контур; 4 - трансформатор; 5 - электроды ядоприемника; 6 - ядоприемник.

Устройство выполнено в виде рамки-ядоприемника с размещенным на ней генератором электроимпульсов. При этом генератор, перестраиваемый по частоте, соединен с рядом последовательно соединенных индукционных катушек, колебательным контуром и электродами ядоприемника. Все вместе они составляют сеть чувствительных элементов присутствия пчел на электродах и излучателем электромагнитных колебаний. Устройство работает в двух режимах: дежурном — когда на электродах нет пчел, и на электроды подаются одиночные тестирующие импульсы "опроса", и режиме стимуляции — когда на электродах имеются произвольно выбранное необходимое количество пчел, и на электроды подается импульсный ток оптимальной силы и частоты, приводящий к пчелоужалению ядоприемника. Внешний контроль работы устройства, наличия или отсутствия пчел на электродах производится прослушиванием модулированного сигнала генератора радиоприем-

ником (настроенным на частоту колебательного контура устройства), расположенным в 2-3 метрах от улья. Схема устройства приведена на рис. 9.

Работает устройство следующим образом.

• **1. Дежурный режим.** Одиночный прямоугольный импульс (длительность 1 мс, период следования 2 с, амплитуда 1 В) с точек А и В генератора 2 поступает на первичные обмотки трансформатора. После прекращения действия импульса в обмотках возникает импульс тока самоиндукции, который трансформируется вторичной обмоткой. Этот импульс вызывает ударное возбуждение колебательного контура 3 на частоте резонанса, определяемого индуктивностью L , емкостью C и емкостью электродов 5. При отсутствии пчел на электродах их переходная емкость мала, а сопротивление между ними велико, вследствие чего токи утечки незначительны, поэтому импульс с вторичных обмоток трансформатора 4 не поступает на вход (точки с и d) генератора 2 импульсов.

• **2. Режим стимуляции.** При наличии пчел на электродах 5 (необходимое количество пчел для запуска стимуляции генератора выбирают произвольной регулировкой чувствительности его входа) одиночный импульс с вторичных обмоток трансформатора 4 проходит на вход генератора 2, так как между электродами 5 увеличивается переходная емкость и уменьшается активное сопротивление. Это происходит потому, что тела пчел, касающихся лапками и телом электродов, представляют собой полный импеданс импульсному току.

Пришедший на вход генератора 2 одиночный импульс вызывает изменение частоты следования импульсов. По мере возрастания частоты стимуляции возрастает эффективное значение тока в цепи электродов. Таким образом, при наличии пчел на электродах они подвергаются действию импульсного тока оптимальной силы и частоты, в результате чего выделяют яд на пластину ядоприемника 6.

После выделения яда пчелы покидают электроды 5, что приводит к уменьшению емкости и возрастанию сопротивления в цепи электродов и, следовательно, к переходу работы генератора 2 в дежурный режим.

Устройство улучшает технологичность ядоотбора, так как раздражающие стимулы поступают только при наличии достаточно большого количества пчел на электродах и не раздражают отдельных особей в дежурном режиме. При этом в режиме стимуляции ав-

томатически пропорционально количеству пчел, влажности и температуре среды вокруг электродов устанавливаются оптимальные условия стимуляции, что исключает травмирование насекомых. Присутствие в устройстве радиоизлучателя обеспечивает надежный внешний контроль работы устройства, без открывания улья.

При получении яда в различных погодных условиях, климатических и породных различиях пчел и т.д. наиболее важным регулируемым параметром стимулирования является величина раздражающего импульса электростимуляторов. Найти ее оптимальное значение в конкретных условиях ядоотбора может помочь наше устройство "Сполох-К" (Авт. свидетельство № 1658946, 1991).

Устройство представляет собой миниатюрный ядоприемник — зонд, позволяющий вставить его через леток внутрь улья. Это пластина из токонепроводящего материала с нанесенными на него токопроводящими площадками-электродами и резисторами, а также шкалой напряжений (рис. 10).

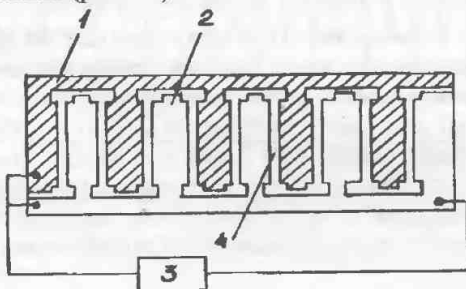


РИС. 10. Устройство для оптимизации раздражения пчел электростимуляцией.
1,2 - электроды, 3 - генератор импульсов, 4 - изолирующий слой

При подаче на вход такого устройства — по сути, линейного делителя напряжений, — сигнала с любого электростимулятора, на площадках-электродах ядоприемника возникает градиент напряжения, величина которого в соответствии со шкалой ступенчато изменяется по длине зонда-ядоприемника. Пчелы, размещаясь на площадках-электродах ядоприемника, попадают под электрическое воздействие и испытывают различное по силе раздражение, в зависимости от места на делителе напряжения. Соответственно, наиболее многочисленные укусы и большее выделение яда будет возрастать по мере роста напряжения до определенных значений, когда прибавления уже не будет. Регистрацию распределения количества яда и пчеложалений производят визуально, просмат-

ривая пластину в отраженном свете — видны следы высохших капель яда.

Более точно регистрацию можно осуществить разработанным нами апиавтографическим методом (авт. свидетельство № 1584853, 1990). Для этого через 5-10 минут работы зонд-ядоприемник извлекают из улья через леток и прикладывают к смоченному водой фотоземлюсионному слою полоски (по длине зонда) обыкновенной фотобумаги (на свету). Выдерживают 2-3 минуты, после чего проявляют и закрепляют фотобумагу. На фотобумаге будут видны следы ужалений и шкала напряжений. Оптимальной для анализируемого электростимулятора, силы семьи, погодных условий и т.п. считают ту величину электрического воздействия в вольтах, которая не приводит к дальнейшему приросту количества яда (количества точек-следов ужалений) по мере увеличения напряжения электростимулятора.

С помощью приведенного устройства пчеловод-исследователь может самостоятельно оптимизировать и другие параметры стимуляции: паузу, частоту, длительность стимула и т.д.

Оптимизировать раздражение пчел и пролонгировать их стремление к ужалению в последнее время пытаются, комбинируя электрическое стимулирование с различными другими воздействиями: вибрацией ядоприемников или воздушным поддувом с аэрозолями пахучих веществ (Лахтанов с соавт., 1991). Есть перспективы метода добавления акустических колебаний, адекватных акустическим сигналам пчел (Лахтанов, 1991). Ниже мы рассмотрим пример естественной имитации разрушения пчелиного гнезда крупными млекопитающими (авт. свидетельство № 1662458, 1991). Устройство дополнительно к электростимулятору содержит камеру, заполненную жидкостью с размещенными в ней электродами для создания гидравлического удара, устанавливаемую на поверхности улья. Электроды через искровой разрядник соединены с конденсатором и источником высокого напряжения (рис. 11).

Устройство работает следующим образом: отбор яда осуществляется на ядоприемники, выполненные в виде камеры, расположенной перед летком на передней стенке улья. Одновременно с включением электростимулятора включается высоковольтный источник напряжения, после чего конденсатор заряжается до напряжения пробоя между разрядными электродами, расположенными в камере с жидкостью. Создающаяся высоковольтная искра приводит к короткому гидравлическому удару передающемуся на улей. Под действием таких ударов возбужденные сторожевые пчелы покида-

ют улей и попадают в камеру-ядоприемник, стенки которой выполнены ядоприемниками, подключенными к электростимулятору. Мы показали, что при имитации разрушения гнезда такими ударами (серия из 5 разрядов с интервалом в 2 с) происходит массовый вылет пчел из улья через летковые отверстия в рабочий объем камеры-ядоприемника. Несомненно, получение яда снаружи улья, без вмешательства, связанного с открытием гнезда и т.д., приводит не только к меньшему ущербу, наносимому пчелам, но и к уменьшению механических и растворимых примесей получаемого пчелиного яда.

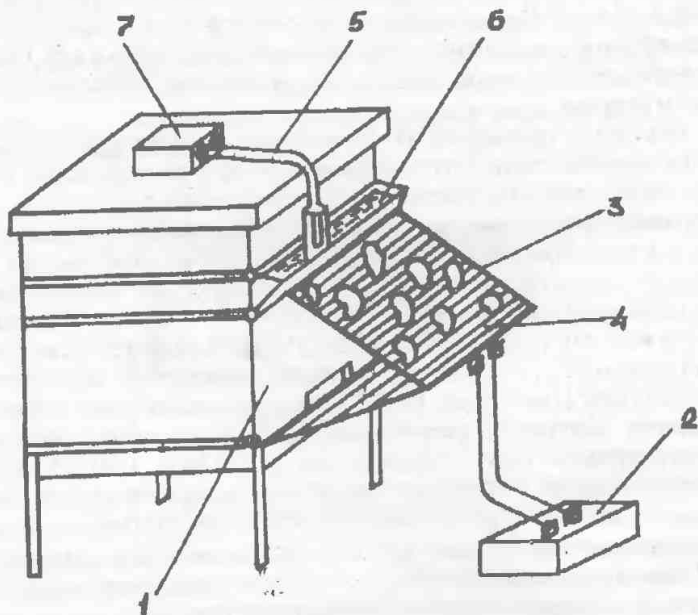


РИС. 11. Устройство для внеульевого отбора пчелиного яда.
 1 - корпус улья; 2 - генератор импульсов; 3 - ядоприемник; 4 - электроды;
 5 - 7 - приспособление для создания гидравлических ударов по улью

4.3. ЯДОПРИЕМНИКИ

Вторым основным элементом технологии получения яда у пчел являются соединенные с электростимуляторами ядоприемники, т.е. те площадки с электродами, жаля которые, пчелы оставляют на них яд. При рассмотрении разнообразия конструкций ядоприемни-

ков можно выделить основной принцип: это прямоугольный каркас из пластика, дерева и других материалов, на который намотаны параллельно два провода-электрода с расстоянием между ними 3-5 мм, имеющие выводы на контакты выхода электростимулятора. Замыкание цепи работающего электростимулятора происходит при касании пчелой двух соседних проводов-электродов.

Внутри каркаса под проводами-электродами располагаются 1-2 стеклянные пластины по размеру каркаса (рис. 12). Именно на них и попадает выделившийся с жала яд. Для уменьшения примесей, попадающих на стекло-ядоприемник при нахождении пчел над ними на электродах, стекла иногда закрывают различными полимерными пленками (лавсан, латекс, капрон и др.). Однако для использования яда для фармацевтических нужд в таких усложнениях обычно нет необходимости. При грамотно воспроизводимой технологии даже на открытом стекле нерастворимых в воде примесей обычно не бывает более 8-10% (Фармакопейная статья на яд-сырец допускает 12% примесей).



РИС. 12. Подготовка ядоприемников к работе

Стандартную рамку-ядоприемник несложно изготовить самим в условиях пасеки из дерева (дуб, бук, сосна). Готовят 2 бруска длиной 470 и 435 мм. С внутренней стороны обоих брусков делают продольные пазы шириной 10 мм, глубиной 5 мм. Внутри пазов, также по длине брусков, делают еще один пропилен глубиной 5 мм и шириной 2-3 мм (толщина определяется толщиной основной пла-

стины). С наружной стороны брусков делают неглубокие (1 мм) надпилы, ориентированные перпендикулярно длине брусков на расстоянии 3-5 мм друг от друга. В глубокие пазы верхнего и нижнего брусков вставляют прочную основную пластину толщиной 2-3 мм (металл, пластик, стекла и др.) шириной 400 и высотой 200-300 мм. Вокруг собранного таким образом каркаса натягивают (обвивая) двойной спиралью нихромовую проволоку диаметром 0,2-0,4 мм, располагая ее в пропилах. Концы обеих спиралей закрепляются в каркасе так, чтобы к ним можно было присоединить два провода с выхода электростимулятора. На рис. 12 показан внешний вид таких рамок-ядоприемников. Внутрь каркаса, под проводом-электроды в пазы брусков по обе стороны от основной пластины вставляются два стекла соответствующей толщины (чтобы вошли свободно в пазы) и размера (по размеру каркаса).

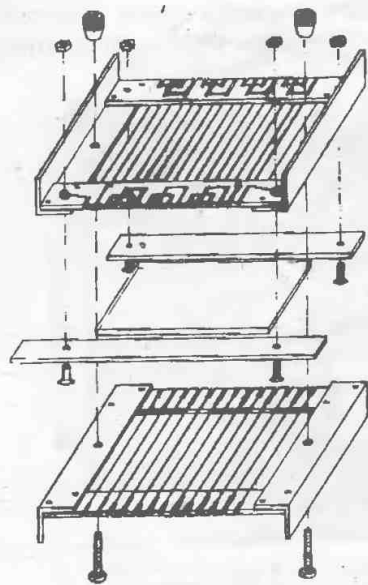


РИС. 13. Разборная кассета - ядоприемник

Другой вариант ядоприемника представлен на рис. 13. Это разборная рамка-ядоприемник. Она представляет собой прямоугольник с размерами 385x305 мм. Боковые стороны выполнены из дюралевого уголка 20x20 мм и соединены верхней и нижней пластинами из изоляционного материала 385x20x5 мм. На внешних сторонах каждой пластины имеются прорезы разной глубины — 3 и 5 мм, чередующиеся с шагом 5 мм. В плоскости рамки в прорезы уложены электроды из нихрома диаметром 0,3 мм, причем в прорезы 5 мм уложен 1-й провод-электрод, а в прорезы 3 мм — 2-й провод-электрод. Таким образом, в плоскости прямоугольной рамки расположены электроды в виде плоско-параллельной сетки, составляющей двойную спираль. Каждый электрод электрически соединен с боковыми дюралевыми уголками. Обычно готовят 2 таких каркаса — рамок-ядоприемников.

На одну из электродных рамок помещается стеклянная пластина 365x285x3 мм, являющаяся ядоприемником. Стеклянную пластину от электродов отделяет капроновая нить толщиной 0,5-0,8 мм, закрепленная на боковых сторонах рамки. Сверху на стеклянную пластину-ядоприемник накладывается вторая электродная рамка. Обе рамки с лежащим внутри стеклом скрепляются резиновыми жгутами. Преимущество приведенной выше конструкции заключается в том, что ее разборность позволяет использовать как обе рамки с одним стеклом (если ставить ее вертикально), так и одну половину — кладя на нее стекло (если располагать ее горизонтально). В этом случае пчелы могут жалить стекло только снизу, давая наиболее чистый яд без механических примесей.

В последнее время получили распространение кассеты-ядоприемники. От вышерассмотренных конструкций кассеты отличаются величиной каркаса, в который можно вставить между намотанными на различных опорах проводами-электродами 5-20 стекол ядоприемников. Обычно такой каркас-кассета выполнен по размеру улья и ставится сверху вместо магазина.

Существует множество вариантов расположения рамок-ядоприемников и кассет по отношению к улью. Возможны варианты их расположения перед ульем, сверху улья, в разрыв гнезда и т.д. При этом стекла ядоприемники, как и сами рамки, можно ставить вертикально, горизонтально, под тем или иным углом и т.д. Ниже мы остановимся на одном из таких способов. С одной стороны, подобные варианты позволяют получать более чистый яд без примесей, но в малых количествах, с другой—большее количество яда, но с большим же количеством примесей. Поэтому определить, какой способ постановки более технологичен, можно, в зависимости от конкретных задач, условий, рентабельности и т.д.

4.4. ПОДГОТОВИТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Подготовка аппаратуры

Проверяют исправность и работоспособность электростимуляторов. К прибору подключают источник питания (12 В), соблюдая полярность. Включают стимулятор и на выходе вольтамперметром (тестер) измеряют сигнал, либо определяют работу по показаниям встроенного вольтметра и сигнальной лампочки.

Из новых ядоприемников вынимают стекла и протирают ватой, смоченной в спирте, потом сухой марлей, после чего вставляют обратно в каркас ядоприемника. Если ядоприемники были уже в ра-

боте, то стекла моют в воде с применением моющих средств для удаления частиц воска, прополиса, испражнения пчел и т.д. После этого ополаскивают в чистой воде и сушат на воздухе, либо под вентилятором, защищая стекло от попадания пыли. Далее очистка стекол производится так же, как и новых. Работоспособность готовых ядоприемников проверяют на замыкание двойной спирали проводов-электродов тестером.

Для контроля целостности электрической цепи, режимов работы электростимулятора на пасеке должен быть необходимый минимум контрольно-измерительных приборов. Лучше всего для этих целей подходит ампервольтметр (тестер). Однако на практике оказалось весьма удобным наличие пробников. Приведем пример использования промышленного логического пробника радиолобителя ПРЦ-1. Для вышеуказанных целей пробник нуждается в незначительной доработке: в цепь питания по шине "+" устанавливают резистор с номиналом 2,2 кОм.

После указанной доработки пробник не нуждается в электропитании, так как подключается непосредственно к выходу электростимулятора для получения яда. При наличии на выходе электростимулятора импульсного тока (сигнала) величиной 25-35 В на индикаторе пробника загорается центральный светодиод. Таким образом, осуществляется контроль работы электростимулятора.

Для проверки целостности цепи электродов ядоприемников необходимо коснуться щупом пробника сначала одного из проводников-электродов, потом другого проводника-электрода. Если цепь цела (нет разрыва цепи между стимулятором и пробником), то при горящем центральном светодиоде поочередно (в соответствии с касаниями) загораются правый и левый светодиоды. При наличии разрыва включается только один из крайних светодиодов, соответствующей целостному проводнику.

В случае, если электроды ядоприемника коротко замкнуты, также горит один крайний индикатор, который продолжает гореть и при касании другого проводника.

Для упрощения вышеописанного метода контроля можно перед работой смоделировать ситуацию замыкания и разрыва цепи- проверить надежность работы пробника.

Подготовка пасеки

Работа заключается в осмотре и подготовке пчелосемей, разводке токнесущих проводов и коммуникаций, соединяющих при сборе яда стимулятор с ядоприемниками.

Осмотр пчелосемей производится при температуре воздуха в тени не ниже 14°C. Раскрытие улья и его осмотр в холодное время (особенно в ветреную погоду) приводит к повышению раздражимости и злобливости пчел, переохлаждению гнезда.

Так как существует несколько вариантов получения яда на пасеке, рассмотрим самый сложный из них, связанный с помещением ядоприемника в гнездо — внутрь улья (рис. 14).

Осмотр лучше проводить утром, в 9-10 часов, в солнечные дни, когда летные пчелы находятся вне улья. Открывать ульи необходимо по возможности на короткое время и все работы производить быстро. За время осмотра необходимо оценить силу семьи. Определить места в улье, где будут установлены ядоприемники. Обычно для этого формируются два "колодца", для чего из гнезда изымают две предкрайние медовые рамки, с правой и левой сторон улья. Таким образом, колодец, куда будет установлен ядоприемник, находится на периферической части гнезда и отделен от сотов с расплодом медовыми рамками, на которых сосредотачивается большое количество пчел.

Схему разводки токонесущих коммуникаций составить таким образом, чтобы их протяженность была минимальной. Следует учесть, что линия длиной 3 м вызывает дополнительный расход мощности электростимулятора. В качестве токонесущих коммуникаций хорошо зарекомендовали себя бытовые удлинители с тройниками и вилками. Обычно из удлинителей формируется центральная линия, от которой по обе стороны расположены ульи пасеки, к которым через тройники и провода, связанные с рамками-ядоприемниками, будет подаваться электрический сигнал.

4.5. ОТБОР ЯДА У ПЧЕЛ

Существует несколько вариантов отбора яда во времени. Яд можно получать днем, вечером, ночью и утром. Чаще всего применяют ночной сбор с вечера, или утренний — еще до вылета пчел. У каждого способа имеются свои достоинства и недостатки. Рассмотрим наиболее длительный процесс сбора — ночной. Последовательность операций при этом будет производиться следующим образом (рис. 14).

16-17 часов. В этот период в подготовленные днем ульи устанавливают рамки-ядоприемники. Для этого с улья снимается крышка, утеплитель, поднимается часть холстика с крайних медовых рамок, формируется, если он не сформирован днем, колодец. В

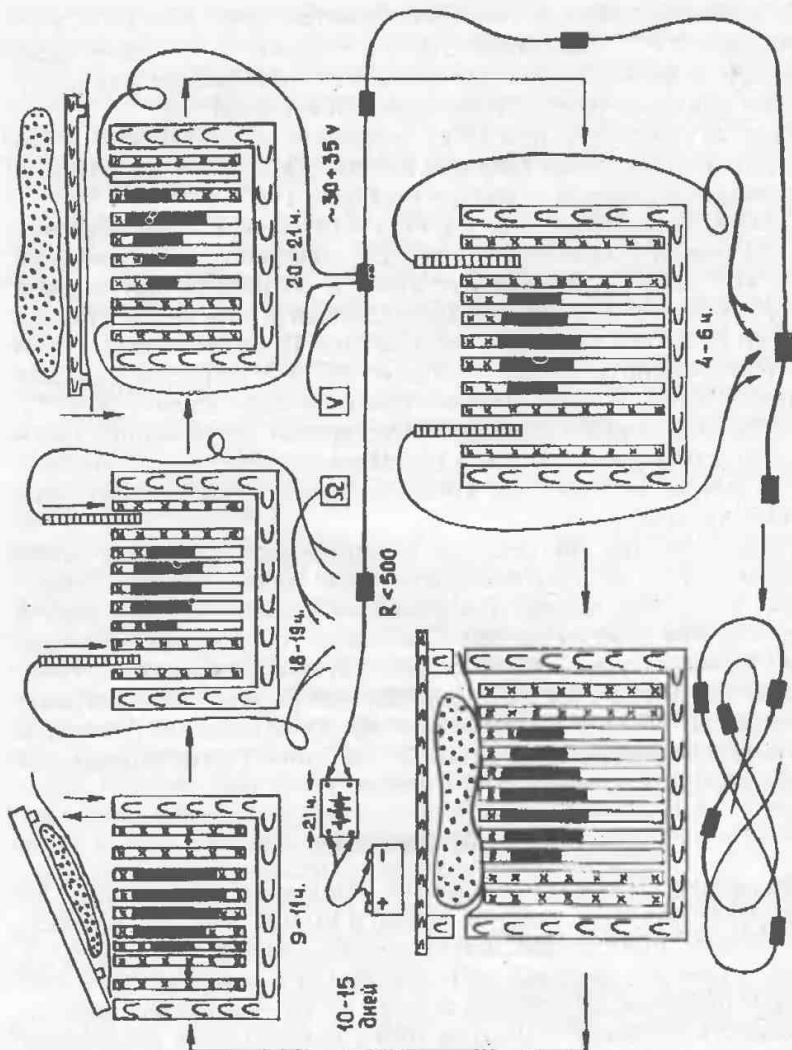


РИС. 14. Схема операций при получении пчелиного яда на пасеках (объяснения в тексте).

образованный колодец устанавливается рамка (кассета) — ядоприемник так, чтобы расстояние от проводов-электродов до стенок колодца — медовых рамок составили 20-25 мм.

Примечание. При большом расстоянии падает производительность сбора из-за недостаточного количества пчел на электродах, а при меньшем — создаются опасные для пчел условия их постоянного нахождения на электродах.

Холстик опускают на рамки, соединительные провода выводят на внешнюю сторону улья. Аналогично устанавливают рамку-ядоприемник с другой стороны гнезда.

Примечание. Установлено, что при помещении в улье только одной рамки большое количество пчел уходит в противоположную сторону, и производительность, соответственно, уменьшается.

После проведенной установки рамок-ядоприемников улей закрывают крышкой без утеплителя. Это связано с тем, что в процессе ядоотбора в гнезде из-за возбуждения пчел резко повышается температура и создаются условия, которые могут привести к гибели расплода. Если, однако, перегрев все-таки происходит, то защитой является естественное выкучивание пчел из улья. Для уменьшения выкучивания и возможности перегрева при ядоотборе в крышке открывают вентиляционные окна, увеличивают просветы летков.

Вышеописанная процедура установки 200 рамок-ядоприемников (100 пчелосемей) двумя операторами обычно составляет 1,2-2 часа. Контроль работоспособности рамки-ядоприемника вновь производят, когда она установлена в улей. При подключении соединительных проводов к омметру сопротивление цепи ядоприемника должно быть не менее 500 кОм.

После установки всех рамок-ядоприемников они соединяются в параллельную цепь через тройники и удлинители.

Образованная цепь соединяется с гнездами выхода электростимулятора.

21 час. Включают электростимулятор. Ручкой "Длительность импульса" устанавливают длительность 0,5-1 с. Ручкой "Пауза" устанавливают длительность паузы 2-2,5 с. Ручкой "Амплитуда" устанавливается величина выходного сигнала по вольтметру электростимулятора величиной 25-35 В.

Примечание. Выбор длительности импульса и паузы между ними относительно постоянны и обуславливаются конструкцией электростимулятора. Их можно варьировать в узких пределах, причем конкретная величина может определяться самим пчеловодом-оператором опытным путем.

После включения электростимулятора необходимо убедиться в том, что процесс отбора яда начался. Нормальный процесс ядоотбора характеризуется повышенной акустической активностью пчелосемей: в улье слышен низкочастотный шум возбужденных пчел. Около вентиляционных отверстий ощущается характерный запах пчелиного яда. Кроме того, может наблюдаться высыпание, "выкучивание" пчел на стенки улья у сильных семей, что является нормальным явлением, длительностью 20-30 минут. Выкучивание пчелиной семьи является своеобразным индикатором, по которому можно корректировать процесс отбора яда.

Выкучивание пчел объясняется двумя основными причинами:

- повышением температуры в улье за счет высокой двигательной активности пчел;

- запах яда вызывает возбуждение пчел и повышает эффективность ядоотдачи, но при высоких концентрациях запах яда вызывает реакцию самосохранения у пчел и они покидают улей.

Для повышения производительности устройств при отборе яда рекомендуется открывать полностью летковые отверстия улья и заменять холстик на свежий, не покрытый прополисом. При высокой температуре окружающего воздуха холстик заменяют на сетку.

4-5 часов. Электростимулятор выключают.

7-8 часов. Производится разборка электрической сети и извлечение рамок-ядоприемников из ульев. Извлечение должно производиться быстро и аккуратно. Рамки-ядоприемники с полученным ядом помещают в ящики для переноски и транспортируются в лабораторию, пасечный дом.

4.6. СБОР ПЧЕЛИНОГО ЯДА

Сбор пчелиного яда с ядоприемников осуществляется в предварительно проветренном помещении, без сквозняков. При этом сбор осуществляется либо сразу, либо после предварительного досушивания в потоке воздуха температурой не более 40°C. Яд обычно досушивают при повышенной влажности воздуха на пасеке. Для этого кассеты-ядоприемники, помещенные в ящики, устанавливают в поток теплого воздуха вентилятора. С целью предотвращения попадания пыли на ядоприемники они накрываются марлей, сложенной в 2-3 слоя. Критерием достаточного досушивания яда является его хрупкость при сборе (рис. 15).

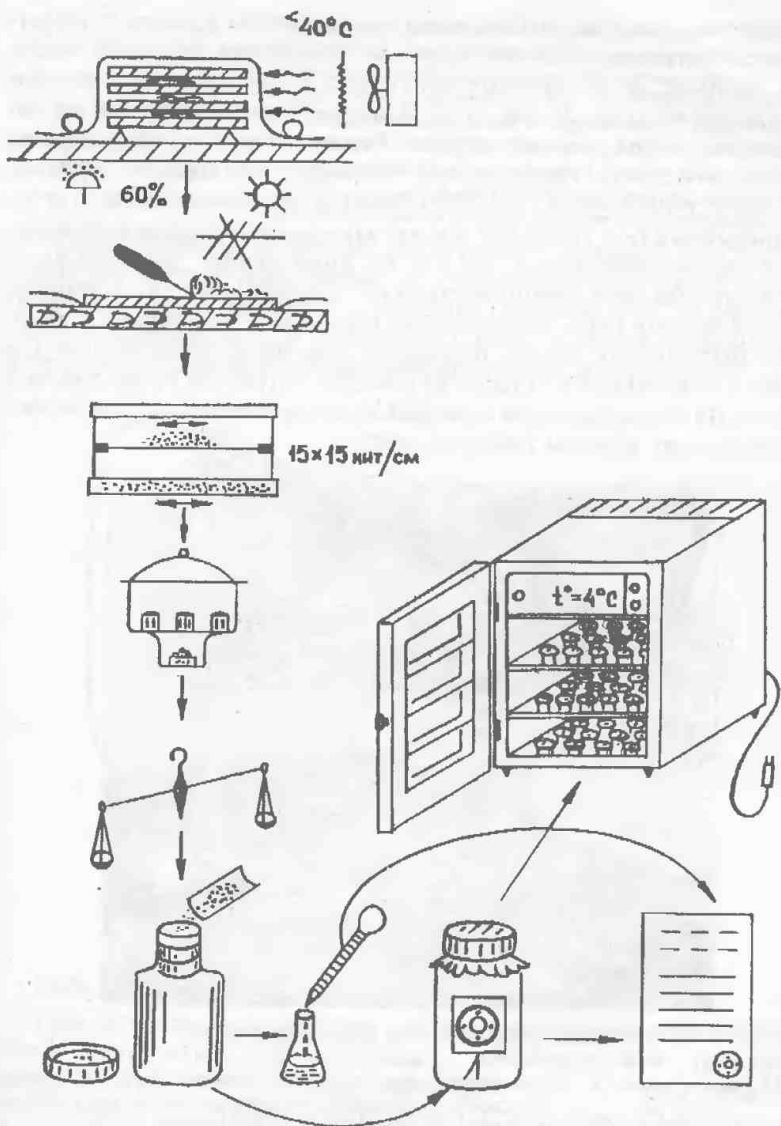


РИС. 15. Схема операций по сбору и переработке пчелиного яда (объяснения в тексте).

Ядоприемник с высохшим ядом вынимают из кассеты и осматривают. Пятна и точки посторонних включений (чешуйки воска, зерна пыльцы, капли нектара, прополиса и др.) удаляются лезвием безопасной бритвы. После этого ядоприемник помещается на лабораторный стол, на лист черной бумаги. Берут резак, режущая кромка которого представлена лезвием безопасной бритвы. Режущая кромка резака устанавливается на поверхности стекла-ядоприемника под углом 45° и возвратно-поступательными движениями производится счистка яда на край стекла, удаленный от оператора, на лист белой мелованной бумаги (рис. 16). Скорость резания должна быть такой, чтобы исключить чрезмерное рассеивание пылевидных частиц пчелиного яда, образующихся при его резании. Удаленный со стекла яд концентрируют на краю стекла и бумаги. Далее переносят его совком, изготовленным из кальки, фотопленки и др. в банки темного стекла.

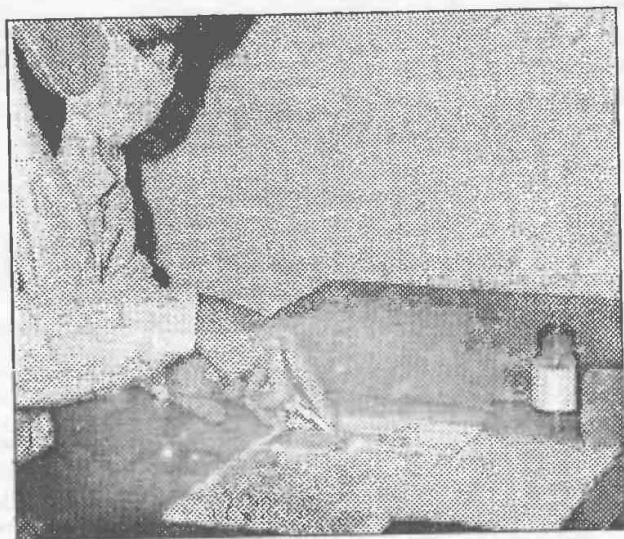


РИС. 16. Сбор пчелиного яда с ядоприемника.

Примечание: При счистке яда со стекла ядоприемника происходит большое рассеивание пылеобразных частиц получаемого продукта, что приводит к их попаданию на слизистые, в дыхательные пути операторов. С целью уменьшения пылеобразования яда при его счистке, нами разработано устройство, позволяющее значительно уменьшить рассей-

вание яда в пространстве над ядоприемником (Авт. свид. № 1655411, 1991). В устройстве содержится закрепленный в держателе режущий инструмент с установленной на нем прозрачной изогнутой пластинкой, на поверхности которой нанесен прозрачный токопроводящий слой. Режущий инструмент присоединен к первой клемме генератора высокого напряжения и к внешней пластине плоского конденсатора, внутренняя пластина которого присоединена ко второй клемме генератора высокого напряжения.

Таким образом, режущий инструмент и плоский конденсатор образуют систему электродов, формирующую электростатическое поле как в зоне режущей поверхности устройств, так и в плоскости всего ядоприемника. Указанное поле создает экран, защищающий оператора от воздействия пылевидных частиц яда (рис. 17).

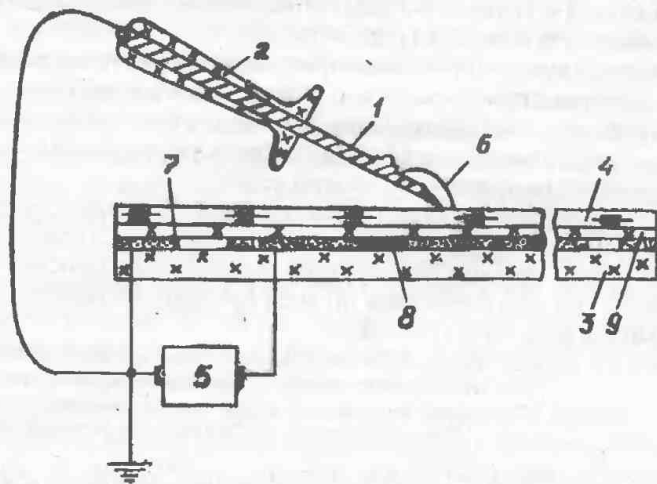


РИС. 17. Устройство для сбора пчелиного яда, уменьшающее рассеивание частиц яда.

Работает устройство следующим образом.

При включении генератора высокого напряжения на режущий инструмент, изогнутую пластинку, периферическую пластинку конденсатора подается напряжение противоположного знака по отношению к внутренней (центральной) пластине. При сборе яда частицы его приобретают заряд стекающий с токопроводящего слоя изогнутой пластину. На периферической части устройства ядоприемник приобретает заряд за счет пластины, и поэтому пери-

феррическая часть ядоприемника оказывается заряженной противоположным по знаку зарядом по отношению к частицам яда. Электростатическое поле, образованное системой электродов: режущий инструмент, изогнутая пластина, пластина плоского конденсатора, собирает пылевидные частицы яда и удерживает их от рассеивания на поверхности ядоприемника.

Открытые банки с собранным ядом помещают в эксикаторы на досушивание. Досушивание производят при закрытой крышке эксикатора над водо-отнимающим веществом (плавленный хлористый кальций, силикагель). В качестве эксикатора может быть использована любая стеклянная посуда, обеспечивающая герметизацию внутреннего объема. Процесс досушивания длится не менее суток. Установлено, что высушивание яда-сырца в эксикаторе над хлористым кальцием в течение 6-7 дней обеспечивает максимальную потерю в массе — влажность снижается до 2-3%.

Яд перед закупоркой в банки просеивают через сито, выполненное из неметаллической сетки (капрон, шелк) с ячейей не менее 15x15 нитей на 1 сантиметр. Сито обычно изготавливается из двух пластмассовых банок с крышками. Дно каждой банки удалено. Между отверстиями дна установлена сетка.

Просеивание осуществляется следующим образом. В верхнюю часть засыпается порция яда (количество яда не должно превышать 1/3 часть объема), закрывается крышка. Яд просеивается и извлекается путем открывания нижней крышки. Оставшийся отсев складывается в отдельную банку.

Примечание. Применение металлической сетки для просеивания яда не допускается, так как яд представляет собой субстрат, активно вступающий в химическую реакцию с металлами. Металлы инактивируют пептидные и белковые компоненты яда.

После просеивания и досушивания банки закрываются крышками с прокладками из полиэтилена или вощеной бумаги. Для обеспечения герметичности крышки банок заливают расплавленным воском или парафином, или обматывают изолентой ПВХ.

На банке наклеивается этикетка с указанием даты сбора яда, его веса (нетто и брутто).

4.7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПЧЕЛИНОГО ЯДА

Получение пчелиного яда на пасеках должно производиться с учетом графика медосбора. Сроки начала, продолжительности и интенсивность главного медосбора различны для каждой местно-

сти. Пчеловод, с учетом условий медосбора своей местности должен составить график и спланировать сроки отбора яда с учетом этого графика.

Учесть необходимо следующее. В условиях главного медосбора, когда идет интенсивный прирост семьи для получения взятка, производить ядоотбор не рекомендуется. И лишь после того, как численность семьи стабилизируется, с уменьшением взятка, можно приступать к получению яда.

Оптимальная периодичность ядоотбора у одной и той же семьи находится из наших представлений о развитии ядовитых желез и длительности жизни пчелы. Таким образом, можно теоретически обосновать этот оптимум временем полужизни поколения пчел — 20 дней. Практически опытным путем нами выявлено, что этот период составляет 15-20 дней. Лишь при таком интервале ядоотбора самый главный показатель пчеловодства — медопродуктивность — не уменьшается. Более того, установлено, что ядоотбор, осуществляемый в соответствии с вышеописанными технологическими элементами, приводит к увеличению жизнеспособности пчелиной семьи. Прежде всего увеличивается летная активность пчел, принос нектара. Однако медопродуктивность при этом может не изменяться, так как возрастает потребление пчелами меда. В целом, эффект электростимуляции пчел при получении яда можно оценить как активизирующий физиологическое состояние пчел, интенсифицирующий обмен веществ их организма. В организме уменьшается количество жира, меньше становится жировое тело.

Как доказательство приведенным положениям приведем некоторые данные исследований, проведенных сотрудниками кафедры (Хомутов и др., 1994) и другими исследователями (Гиниятулин, 1990; Тойганбаев, 1994). При отборе яда в режимах через 5, 10 и 15 суток авторами было установлено, что электростимуляция через 5 дней сопровождалась снижением приноса нектара в улей на 200-800 г, заполнения медового зобика на 7-5%, сокращением выращивания расплода на 4-17%. Наоборот, электростимуляция через 10-15 дней сопровождалась увеличением суточного приноса нектара на 100-600 г, увеличением массы зобиков на 4-7% и увеличением выращенного расплода на 8-42%. Все это приводило к увеличению силы пчелосемей. При дальнейшем изучении состояния семей после зимовки было установлено, что сила семей, в которых яд получали в предшествующем сезоне каждые 5 дней, был ниже

контрольных на 13-14%. В то же время при электростимуляции через 10-15 дней сила семей, выпущенных из зимовки, увеличивалась на 5-20% по сравнению с контролем.

Особый интерес представляют косвенные последствия электрической стимуляции на пчелиную семью. Разными исследованиями показано, что увеличение силы семьи происходит в результате повышения яйценоскости матки. Это повышение может быть связано с тем, что в процессе ядоотбора, при раздражении пчел, увеличивается их двигательная активность, приводящая к повышению температуры в гнезде, а, следовательно, к повышению процесса червления маткой. Кроме того, в этот период отмечено усиленное выделение молочка пчелами-кормилицами.

Повышение температуры в улье при электростимуляции пчел приводит еще к одному важному последствию — уменьшает заклещенность пчел варроатозом. Мы полагаем, что это связано как с увеличением двигательной активности пчел в улье, так и с действием повышенной температуры.

Из изложенного становится ясно, почему в осенне-весенний период подвергнувшиеся электростимуляции пчелы интенсивнее берут подкормку, уменьшается интенсивность роения, подмор пчел в зимний период.

Выше рассмотренная технология позволяет получить с двух ядоприемников, установленных в семью средней силы (3 кг пчел), 350-500 мг пчелиного яда за один сеанс. Таким образом, за весь осенне-летне-осенний период (5-8 сеансов) теоретически можно получить 2-4 г яда-сырца без какой-либо специальной интенсификации этого процесса.

В н и м а н и е !

Не рекомендуется получать пчелиный яд в сырую, холодную погоду, в период высокой интенсивности главного медосбора, у больших пчел, ввиду снижения качества получаемого яда.

5. АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ПЧЕЛИНОГО ЯДА

Полученный от живых пчел (например, путем ужаления стекла) пчелиный яд представляет собой густую, прозрачную жидкость горько-жгучего вкуса, кислой реакции (рН водных растворов 4,5-5,5), плотностью 1,08-1,13. Секрет содержит около 40% сухого остатка и на воздухе через несколько минут затвердевает. Высушенный яд имеет вид прозрачной массы, которая при очистке со стекла превращается в порошок от белого до желтоватого оттенка — яд-сырец.

Пчелиный яд, полученный методом электростимуляции, отличается от вышеописанного несколько большим количеством примесей, соответственно, большей вариацией цветности. Однако удельная активность, качество яда мало уступает нативному яду. В связи с высокой гетерогенностью яда, разные его компоненты обладают неодинаковой сохранностью и устойчивостью к разным воздействиям. Они реагируют с окислителями, кислотами, щелочами. Свет и температура также разрушают полученный продукт, его составные компоненты. При этом чем сложнее структура молекулы, тем менее устойчива она к воздействию. Например, самая неустойчивая к повышенной температуре гиалуронидаза яда. Этот фермент разрушается уже через 25 минут после нагревания до 100° С. Фосфолипаза более устойчива — она выдерживает часовое нагревание при названной температуре. Наиболее стабилен мелиттин. Этот полипептид выдерживает нагревание при 110°С в течение 1,5 часа.

Из изложенного следует, что получить качественный яд непросто, также непросто обеспечить его сохранность. Какими же требованиями руководствоваться при оценке качества яда? Для этого существует несколько методов, часть из которых является официальной, применяемой в отечественной практике.

Все предложенные методы можно разделить на две группы: физико-химические и биологические. Первые дают точные результа-

ты. Однако они в основном не являются специфичными, и, главное, не отражают качество продукта в отношении его активности — т.е. его воздействия на организм.

При оценке активности пчелиного яда в отношении его воздействия на организм приоритетными по логике и эффективности являются биологические тесты. Еще с 1897 года предложено использовать для этого реакцию развития конъюнктивита у кроликов при закапывании им растворов яда в конъюнктивальный мешок. В дальнейшем развивались методы, основанные на проявлении токсических свойств яда при действии на бактерии, инфузории, нематоды и т.д. В настоящее время из подобных биологических методов наиболее широко используется тест определения острой токсичности (DL_{50}) при введении яда лабораторным мышам. При этом допускается внутривенное и внутрибрюшинное введение растворов яда, с расчетом средней смертельной дозы, вызывающей гибель 50% мышей из группы в течение 24 часов.

Аналогично используются методы, основанные на известных патофизиологических свойствах яда. Так, можно оценивать яд по его способности снижать уровень аскорбиновой кислоты в надпочечниках, вызывать реакцию преципитации в сыворотке крови иммунизированных ядом животных, помутнение растворов яда с гепарином.

Биологическая активность яда формируется из активностей составляющих его компонентов. Поэтому наиболее эффективны методы, позволяющие определить активность наиболее важных компонентов яда: мелиттина, фосфолипазы А, гиалуронидазы. Из вышеприведенных данных о химическом составе и свойствах видно, что именно эти компоненты играют активную роль в суммарном патофизиологическом эффекте яда.

Начиная с конца прошлого столетия, используется тест гемолиза (разрушения красных кровяных клеток). Способность пчелиного яда вызвать гемолиз эритроцитов является результатом действия его компонентов: мелиттина и фосфолипазы А. Прямое гемолизирующее действие мелиттина было доказано на том основании, что пчелиный яд вызывает непосредственный гемолиз эритроцитов, в то время как яды змей, несмотря на наличие в них фосфолипазы А, этим свойством не обладают или гемолизируют эритроциты лишь в незначительной степени. Фосфолипаза А действует на эритроциты путем отщепления молекулы ненасыщенной жирной кислоты от молекулы лецитина, в результате чего образуется лизолецитин, который, в свою очередь, вызывает гемолиз. Та-

ким образом, в процессе гемолиза эритроцитов, видимо, существует синергизм действия обоих компонентов пчелиного яда: мелиттин действует на эритроциты, и в результате освобождается лецитин, который затем под воздействием фосфолипазы А переводится в лизолецитин, усиливающий гемолиз.

Кроме гемолитического теста, определяющего активность мелиттина и фосфолипазы А, применяется и непосредственное определение ферментативной активности яда. При этом руководствуются тем, что и фосфолипаза А и гиалуронидаза являются ферментами, т.е. веществами, катализирующими (ускоряющими) определенные реакции в организме или в пробирке. На основании этих реакций вычисляется ферментативная активность в единицах действия — чем выше активность фермента, тем большее количество единиц действия он содержит. Поясним сказанное следующим примером. Имеется фермент А, который ускоряет расщепление (заставляет разрушаться) вещество Б (субстрат). В результате вещество Б распадается на молекулу С и Д. Соответственно, чем выше активность фермента, тем больше в растворе появится молекул С и Д. Остается их сосчитать. Это трудно, да и незачем. Можно добавить в пробирку вещество И (индикатор), которое свяжет или С или Д. Остается подобрать такое вещество И, чтобы в результате его реакции с С или Д, образовалось вещество К, поглощающее свет. Такое вещество окрасит раствор, он будет цветным. При этом чем ярче цвет, тем больше молекул его образует, тем больше их в растворе. Интенсивность же окраски раствора можно измерить приборами — фотоколориметрами, спектрофотометрами и т.д. Так косвенно можно вычислить не только активность, но и количество молекул фермента.

В настоящее время используют измерение активности фосфолипазы и гиалуронидазы в международных единицах действия. Разумеется, методы определения ферментативной активности, по сути, активности яда, достаточно сложны и требуют как соответствующего лабораторного оборудования, так и определенных навыков работы.

Некоторые из приведенных методов вошли в показатели качества пчелиного яда, оформленные в виде стандартов. Первый из них: технологические условия (ТУ 46 РСФСР 67-72) устарели, и сегодня пользуются в основном Фармакопейной статьей СССР (ФС 42-26583-89 "Яд пчелиный"), разработанной нами совместно с Рижским мединститутом. Ниже приводятся показатели указанной ФС — показатели качества пчелиного яда (Таблица 10).

Показатели качества пчелиного яда по Фармакопейной статье СССР "Яд пчелиный"
(ФС 42.2683-89)

Показатели	Требования по ФС 42-2683-89
Описание	Белый порошок с сероватым или желтоватым оттенком
Потери в массе при высушивании	не более 12%
Нерастворимые в воде примеси	не более 10%
Подлинность:	
гемолитическая активность	не более 480 с
активность фосфолипазы А	не менее 100 МЕ
активность глюкозамингликанового комплекса (ГАГГ)	не менее 70 мМЕ

Как следует из таблицы, некоторые показатели можно определить, не прибегая к биохимическим методам. Ниже приводится методика определения физико-химических показателей (примесей и влажности), имеющих важное значение для коррекции процесса отбора яда, которые можно выполнить в условиях пасеки, при наличии термостата и соответствующей посуды

Определение потери массы пчелиного яда при высушивании (влажность)

Определение потери массы при высушивании образцов пчелиного яда проводится согласно ГФ X, С. 760 и ГФ XI, Т. 1, С. 176 (Государственная фармакопея СССР X изд., 1986; Государственная фармакопея СССР XI изд., 1987).

Методика. Около 0,1 г (точная навеска) по 3 навески каждого образца пчелиного яда высушивают при температуре 100-105° до постоянной массы.

Подсчет результатов: потери массы при высушивании в % (с точностью до 0,1 процента) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{a - aI}{a} \times 100\%$$

где x - потери в массе при высушивании, %;

a - навеска яда до высушивания, г;

aI - навеска яда после высушивания, г.

Определение нерастворимых в воде примесей и золы в пчелином яде

Нерастворимые в воде примеси в образцах яда пчелиного определяют согласно методике по ТУ-46 Латв. ССР 804-78 в модифицированном виде (Батова Р.С., 1991).

Около 0,1 г (точная навеска), по три навески каждого образца яда пчелиного растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. Раствор пропускают через высушенный до постоянной массы стеклянный фильтр № 3. Осадок из колбы количественно переносят на фильтр и фильтр промывают 50 мл воды. Фильтр с осадком сушат до постоянной массы при температуре 100-150°C.

Подсчет результатов. Количество нерастворимых примесей в воде вычисляют в процентах с точностью до 0,1% по формуле:

$$\Pi = \frac{\Phi m - \Phi}{H} \times 100\%,$$

где: Π - количество нерастворимых в воде примесей, %;

Φm - масса фильтра с нерастворимыми в воде примесями, г;

Φ - масса фильтра, г;

H - навеска яда пчелиного, г.

Из других важных требований к качеству пчелиного яда, кроме указанных в Фармакопейной статье, следует указать практикующуюся иногда оценку общей токсичности яда, — по величине дозы острой токсичности $ДЛ_{50}$ методом, указанным выше.

В свете современных требований к чистоте получаемых продуктов, в отношении пчелиного яда допускается его проверка на радиоактивность. Мы считаем, что такой анализ следует проводить, измеряя уровень загрязнения радиоактивными продуктами цезием и стронцием, которое не должно превышать ПДК, установленное для пищевых продуктов.

Однако наиболее важными из параметров, характеризующих качество пчелиного яда, после оценки биологической активности, является определение количественного содержания наиболее значимых компонентов в яде-сырце. Наиболее точно это достигается путем хроматографического разделения цельного яда на составляющие фракции. Яд растворяется в определенном растворе и пропускается в таком состоянии через колонку, заполненную веществом, которое адсорбирует компоненты яда. Дело в том, что такая адсорбция различна для разных компонентов из-за их различия в массе, электрическом заряде молекул, отношению их к растворителю. В результате на выходе из колонки разные компоненты (фракции) будут выходить в разное время. Пользуясь этим, порции раствора, разделенные во времени, можно направить в соответствующий анализатор, где определяется количество той или иной

фракции яда. При этом чем сложнее аппаратура, тем больше фракций можно выявить и проанализировать. В современных жидкостных хроматографах вышеуказанные процессы автоматизированы, и на выходе дается машинная распечатка содержания того или иного компонента в пчелином яде (рис. 18).

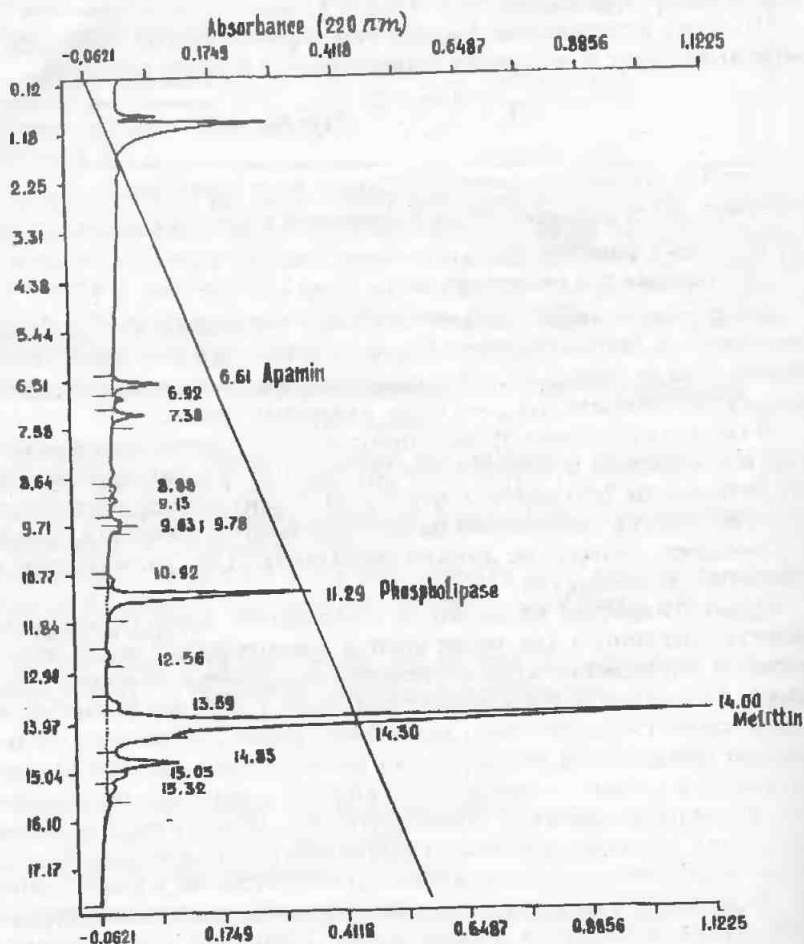


РИС. 18. Разделение пчелиного яда на составляющие фракции методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Указанный метод хроматографического разделения пчелиного яда на компоненты оказался очень удобным не только для анализа яда, но и для промышленного (препаративного) получения этих компонентов. Для этого необходимо лишь увеличить объем колонок и скорость пропускания через них раствора, что, в свою очередь, можно осуществить, прикладывая высокое давление на вход колонки. На этих принципах создан метод "Высокоэффективная жидкостная хроматография высокого давления". Именно этим методом сегодня получают чистые фракции (компоненты) пчелиного яда. Разумеется, метод сложен и дорог, о чем можно судить по той цене, по которой продают пчелиный яд и его компоненты на мировом рынке. Так, американская фирма "Сигма", продавая 1 г пчелиного яда за 242 доллара США, оценивает мелиттин яда в 155 долларов за 25 мг, а апамин — в 307 долларов за 5 мг.

Для экспресс-анализа полученного на пасеке пчелиного яда, можно воспользоваться предложенным нами методом апитоксиавтографии, указанным выше.

Определение качества сырья, содержащего пчелиный яд, апитоксиавтографическим методом осуществляется по следующей схеме.

Сырье, содержащее пчелиный яд в сухом виде, в количестве от 50 до 500 мкг наносят (распыляют) на фотографическую эмульсию, предварительно обработанную активным рассеянным светом в течение 30 с — 3600 с и смоченную водой. Фотоэмульсию с нанесенным сырьем выдерживают 60-300 с и затем обрабатывают в растворах стандартного проявителя и фиксажа до появления ярко выраженного контраста. При наличии в сырье пчелиного яда, на поверхности фотоэмульсии регистрируются следы пчелиного яда в виде пятен низкой оптической плотности.

Для количественного определения яда готовят шкалу автографов пчелиного яда, по которой путем визуального сравнения с автографом сырья можно определить содержащееся в нем количество пчелиного яда. Минимальная чувствительность способа — 50 мкг яда. При меньшем содержании яда в сырье не удастся визуально обнаружить его автограф. Предельная максимальная чувствительность способа — 500 мкг яда. При большем содержании яда в сырье светлые пятна — автографы сливаются, что препятствует количественному определению яда в сырье. Шкала автографов для количественного определения яда изготавливается следующим образом.

6. ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ

Техника безопасности при получении пчелиного яда складывается из процессов получения яда на ядоприемник и смывки с ядоприемника. Первый процесс проходит при контакте с живыми пчелами. Поэтому здесь уместны все приемы и методы работы с пчелами, описанные в любом руководстве по пчеловодству и хорошо знакомые пчеловодам (дымарь, лицевая сетка, белый комбинезон, перчатки и т.д.). Второй процесс осуществляется в лаборатории. Помещение предварительно интенсивно проветривается. После этого приступают непосредственно к очистке яда со стекол ядоприемников. После окончания работ помещение следует также интенсивно проветрить с последующей влажной уборкой.

В связи с высокой токсичностью получаемого продукта следует избегать его попадания на слизистые поверхности, в дыхательные пути. С целью уменьшения попадания пылевидных частиц яда в дыхательные пути и легкие, работы по сбору яда следует проводить в респираторе или ватно-марлевой повязке, смоченной раствором. Хорошо зарекомендовал себя раствор гепарина (1 флакон на 0,5 л воды) или 10 таблеток димедрола на 0,5 л воды. Повязку периодически смачивают раствором, отжимают и повязывают, закрывая рот и нос оператора.

При появлении у оператора головокружения, тошноты, покраснения кожных поверхностей, слезотечения необходимо прекратить работу по сбору яда, лицо вымыть с мылом, выйти на свежий воздух. Рекомендуется принять таблетку антигистаминного препарата (димедрол, пипольфен, супрастин и т.д.). Возобновление работы оператора допускается после полного исчезновения признаков воздействия яда.

Более детальные мероприятия по терапии и детоксикации пострадавших от яда пчел описаны в следующем разделе о применении пчелиного яда в медицине.

7. ПРИМЕНЕНИЕ ПЧЕЛИНОГО ЯДА В МЕДИЦИНЕ

7.1. ИСТОРИЯ АПИТЕРАПИИ ЯДОМ

Первые сведения о лечебных свойствах и применении пчелиного яда найдены в сочинениях знаменитых врачей древности: Гипократа (IV век до н.э.), Плиния (I век), Галена (II век). В своих трактатах авторы, наряду с другими лекарственными средствами растительного и животного происхождения, описывали лечебные эффекты пчелиных укусов, настоев из пчел, и рекомендовали использовать их при различных заболеваниях.

В прошлом веке и начале нынешнего, судя по многочисленным заметкам в популярной прессе и статьям в медицинских и научных журналах, лечение пчелужалениями было широко распространено в странах Европы и Америки. Следует отметить, что в основном описывались случаи успешного лечения ревматических заболеваний. Об этом пишет Бек (Beck, 1935), обобщивший несколько десятков таких сообщений, Ламарш (1908), Экли-Уокер (1908) и др. Ряд врачей описывают эксперименты на себе. Приведем один из таких примеров. (Здесь и ниже исторический экскурс цитируется по книге Н.М. Артемова, упомянутой выше.) Английский врач Буртон (1908) пишет: "Я был поражен острым артритом в правом бедре и седалищным невритом той же стороны. Я заказал пчел и приложил около 8 над седалищным нервом и бедренным суставом. На следующее утро, когда я проснулся, я был не только в состоянии поворачиваться в кровати, но и мог ходить по полу без хромоты, без боли или без потребности придерживать за спинку кровати, как я должен был делать последние три месяца". В дальнейшем Буртон увеличил количество прикладываемых пчел и через несколько дней совершенно вылечился от ревматизма, которым страдал 25 лет.

Кроме ревматизма, описаны случаи лечения и других заболеваний. Французский пчеловод Лоталь (1908) успешно лечил пчело-

ужалениями подагру, волчанку, экзему, эпилепсию и невралгии. Буане (1923) на основании полученных результатов рекомендовал применить пчелиные укусы для лечения проказы, различных язв, других кожных болезней.

В России апитерапия пчелиными укусами была распространена также широко. Случаи успешного излечения ревматических заболеваний описаны Троицким ("Пчеловод-практик", 1926, № 11), Губиным ("Пчеловодное дело", 1927, № 12), Сахаровым ("Пчела и пасака", 1926, № 1), Любарским ("Казанский телеграф", 1897, № 1397) и др. Следует отметить труды русского ученого, профессора М. Лукомского, страстного пропагандиста пчелиных укусов, опубликовавшего в зарубежных издательствах ряд статей на этот счет (1864). Автор пишет, что пчелиные укусы возможно применять при невралгиях: мигрени, цефалгии, кардиалгии, гастралгии и других невралгиях, "описываемых обычно под названием ревматических страданий", и призывает врачей испытать пчелиные укусы для лечения желтой лихорадки, холеры и, может быть, чумы.

Вместе с практическими наблюдениями терапевты пытаются также научно обосновать применение пчелиного яда при лечении заболеваний. Так, австрийский клиницист Филипп Терч (Terch F., 1888), сам страдавший ревматизмом и излечившийся пчелужалениями, приходит к выводу, (после обработки материала лечения 173 человек и нанесения им 39 тысяч укусов), что пчелиные укусы прекрасное специфическое средство от ревматизма. Всякий истинный ревматизм, пишет автор, может быть излечен этим средством, если только болезнь не вызвала необратимых анатомических изменений.

Указанное положение Терч обосновывает "патологическим" иммунитетом по отношению к пчелиному яду у ревматиков и артритиков, которые или совсем не реагируют на укусы пчелой, или реакция их значительно ослаблена по сравнению с нормальными людьми. Этот факт свидетельствует о специфичности воздействия пчелиного яда на ревматический процесс. Чем сильнее ревматизм, тем менее чувствителен больной к пчелиному яду и тем большее количество укусов требуется для излечения. Автор отмечает, что этот "патологический" иммунитет свойственен только истинным ревматикам и артритикам. При инфекционных артритах на почве джоза, туберкулеза, гонорей такого иммунитета не наблюдается. Наоборот, такие больные реагируют на пчелужаления более сильно, чем нормальные люди, и лечение пчелужале-

ниями здесь не эффективно, и даже может вызвать обострение процесса. На этом основании автор предлагает апитерапию для дифференциальной диагностики артритов.

Процесс лечения Терч раскладывает на три фазы. В первой фазе больные находятся в состоянии "патологического" иммунитета и лишь слабо реагируют на пчелиные укусы. Часто в этой фазе наблюдается усиление ревматических болей. Во второй фазе больные начинают реагировать на укусы подобно здоровым людям, "патологический" иммунитет исчезает. Ощущение боли от укусов возрастает, становится выраженной местная реакция (опухоль, краснота). В эту фазу у больных наступает значительное улучшение. При продолжении укусов они быстро излечиваются от ревматизма. Полное излечение наступает в третью фазу и совпадает во времени с появлением вновь иммунитета к укусам. Однако этот иммунитет иной природы: его можно сравнить с иммунитетом пчеловодов, который развивается от частых пчелиных укусов.

Об эффективности применяемого Терчем лечения (а автор был сторонником применения больших доз яда — от одной до 50 за сеанс) свидетельствуют следующие данные: из пролеченных 660 больных полное выздоровление регистрировалось у 544 больных, улучшение — у 99, без улучшения — 17 случаев. При этом среди последних 116 случаев имелись очень запущенные и такие, когда лечение было прервано.

В работах, отражающих эффективность лечения пчеложалениями, отмечаются также и нежелательные, побочные эффекты апитерапии: опухоль, зуд, некроз тканей в точке укуса. При значительном количестве укусов могут появиться неприятные общие симптомы отравления: головная боль, крапивница, повышение температуры, рвота, понос и т.д. В связи с этим делаются попытки заменить пчеложаления очищенными препаратами пчелиного яда. Одним из первых это осуществил профессор педиатрии из Праги Лангер в конце прошлого века. Лангер пришел к выводу, что лечение пчеложалениями весьма хорошее для взрослых, не пригодно для детей ввиду своей болезненности. Автор приготовил инъекционный раствор яда из экстракта ядовитых резервуаров пчелиных жал и успешно лечил детей, страдавших острым ревматизмом. Он также отметил, что ревматики реагируют на пчелиный яд иначе, чем здоровые люди, подтвердив выводы Терча. Автор особо отмечает значительный болеутоляющий эффект препарата и

восстановление подвижности суставов, без каких-либо отрицательных последствий от инъекций.

Кроме уменьшения болезненности и аллергических осложнений у препаратов яда отмечаются и другие преимущества: их можно более точно дозировать и инъектировать, отпадает необходимость содержать и готовить пчел к укусу и т.д.

Первый коммерческий препарат пчелиного яда был выпущен в Германии в 1928 году (Поллак, 1928) и получил название Апикозан. Он содержал пчелиный яд в ампулированном растворе в трех концентрациях: содержащих одну, три и девять токсических (биологических) единиц, т.е. яд, полученный расчетно от одной, трех и девяти пчел. Препарат был показан при хронических артритах, невралгиях и ряде других заболеваний путем внутримышечного введения в возрастающих дозах. На большом клиническом материале было показано, что препарат не обладает анафилактическим действием, не вызывает гемолиза. Это, видимо, связано с тем, что при приготовлении Апикозана пчелиный яд лиофилизировался и освобождался таким образом от некоторых токсических компонентов.

Из других инъекционных форм препаратов пчелиного яда укажем Имсинин (Австрия), выпускающийся в ампулах в пяти концентрациях, Апикур (1,5% раствор пчелиного яда), Форапин (содержит кроме пчелиного яда в 4-х концентрациях 0,2% новокаина), поступающий к нам в страну из Германии Аписартрон. Последний отличается тем, что расфасован в два флакона, один из которых содержит 1 единицу пчелиного яда, а другой 10 единиц. Яд в ампулах сухой, к ним прилагается две ампулы с водой для инъекций. Соответственно растворение яда производится непосредственно перед введением. Все указанные препараты назначены для подкожного и внутримышечного введения при невритах, невралгиях, миалгиях, ревматизме.

Кроме инъекционных форм выпускают мази с пчелиным ядом — Форапин, Аписартрон, Вирапин и другие. При этом в мазь кроме яда вводятся различные добавки — химические и механические, способствующие всасыванию яда через кожу.

Из последних разработок укажем на болгарскую мазь Меливон (Шкендеров, 1985). Петковым с соавт. (1970) на модельном воспалении, вызываемым введением крысам под кожу каолина, установлено, что ежедневное втирание мази в пораженный участок ограничило и ускорило рассасывание отека тканей. Клинические испытания мази подтвердили ее высокую эффективность при

среднетяжелых случаях воспалений периферических нервов двигательного аппарата и нарушенного периферического кровообращения. Пешевский и Васильев применили Меливенон в сочетании с грязелечением при ревматоидных артритах. Благоприятное действие установлено у 90% лечившихся. Весьма показателен был лечебный эффект водных процедур с Меливеноном при лечении тендовагинитов — признаки болезни полностью исчезли у 80% лечившихся.

В нашей стране, как указывает Артемов (1941), первый препарат пчелиного яда был изготовлен в 30-х годах и испытан при невралгиях седалищного нерва (Ерусалимчик, 1939). Позже Фишков (1954-1961) предложил несколько препаратов. Один из них — КФ содержал 2 концентрации яда в масле. Для приготовления препарата автором использовалась животная пленка (мочевой пузырь), через которую после ужаления пчелами яд стекал в банку с абрикосовым или персиковым маслом. Приготовленные таким образом препараты были использованы (испытаны) многими клиниками страны. Полученные результаты показали, что препараты КФ-1 и КФ-2 оказывают отчетливое лечебное действие у больных с полиартритами, миалгиями, невралгиями, радикулитами, аллергическими заболеваниями (крапивница, бронхиальная астма, мигрень) и др.

Невропатолог из Харькова Кононенко И.Ф. (1956, 1958) предложил другой препарат пчелиного яда — Мелиссин на основе очищенного яда в форме масляного и водного растворов. Важно отметить, что автор существенно расширил область применения препаратов пчелиного яда — Мелиссин оказался эффективным при атеросклерозе, ревматических заболеваниях сердца и сосудов, гипертонии и стенокардии.

Стремление заменить болезненное пчеложаление на более удобное и безболезненное введение пчелиного яда привело к разработке оригинального средства Апифор (Нижегородский университет и Таллинский х/ф завод), содержащего 1 мг лиофилизированного яда в таблетке для электрофоретического введения. Таблетку непосредственно перед употреблением растворяют в 20 мл дистиллированной воды, наносят на электроды и проводят электрофорез. В качестве примера эффективного применения Апифора сошлемся на работу Капшуна с соавт. (1971), где описано лечение 76 больных с деформирующим полиартритом и радикулитом пояснично-крестцовой области. Препарат накладывали на оба полюса в возрастающих концентрациях (от 0,05 до 0,5 мг) с увеличением длитель-

ности электрофореза (от 10 до 20 минут) и продолжительностью курса 27 дней. Положительный результат установлен у 92% больных. Кроме улучшения клинических показателей (уменьшение болезненности, мышечной напряженности, облегчение подвижности) было установлено улучшение и других физиологических показателей нервно-мышечного аппарата.

7.2. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ С ПЧЕЛИНЫМ ЯДОМ

Необходимо отметить, что разработка препаратов с пчелиным ядом в нашей стране шла достаточно интенсивно. Часть из них не выдержала испытаний на доклиническом этапе, выпуск других был прекращен из-за отсутствия приемлемой нормативно-технической документации. Сегодня в Фармакопее России имеются лишь два отечественных препарата — Апифор и Унгапивен, а также два ввозимые из-за рубежа Аписартрон и Вирапин.

Трудности вышеуказанной нормативно-технической характеристики лекарственных средств связаны, прежде всего, с отсутствием достаточно надежных методов стандартизации и определения активности пчелиного яда в готовых формах. Это, в частности, видно и из того, что существующие средства, в том числе Аписартрон и Вирапин стандартизируют не по активности яда, а по содержанию остальных ингредиентов препарата. Укажем, что в состав известных мазей с пчелиным ядом входят вспомогательные вещества такие, как камфора, метилсалицилат, масло терпентное, эмульгаторы и др., которые являются традиционными мазовыми добавками. Однако, в мазях с пчелиным ядом эти добавки не улучшают, а ухудшают их ценность. Так, Батовой (1988) было показано, что содержание в существующем составе мази Аписартрон эмульсионной основы и эфирных масел приводит к инактивации ферментов яда. С другой стороны, препараты с очищенным, лиофилизированным пчелиным ядом, также неполноценны, так как лишены активности цельного, нативного яда. Большинство из выпускающихся сегодня лекарственных средств содержат лиофилизированный или кристаллизованный яд. Ясно, что в процессе обработки, необходимой для кристаллизации или лиофилизации, часть полезных компонентов яда инактивируется, что уменьшает терапевтическую ценность лекарственного средства. На это указывают практики Порядин (1958), Лудянский (1990), которые показали, что изученные препараты по своей эффективности уступают ужалениям живыми пчелами.

Таким образом, при приготовлении препаратов яда возникает проблема, с одной стороны, избавиться от некоторых нежелательных свойств цельного яда (например, аллергентность), а с другой — сохранить в препарате возможно более полно свойства нативного яда.

Решение вышеназванной проблемы привело к разработке нового препарата — мази с пчелиным ядом, получившей название "Унгапивен" (унг — мазь, апи — пчела, вен — яд), выполненной совместными усилиями кафедры физиологии и биохимии человека и животных Нижегородского университета и кафедры технологии лекарств Латвийской медицинской академии (А.С. СССР № 1547104, с приоритетом от 21.10.84). Нами предложена мазь, содержащая полноценный пчелиный яд на водорастворимой полимерной основе. Важно отметить, что технология приготовления мази обеспечивает сохранение биологической активности наиболее важных ферментов яда — фосфолипазы А и гиалуронидазы в течение 4-х лет. Вместе с тем была разрешена и другая проблема — разработаны высокочувствительные методы количественного определения наиболее важных компонентов яда. Это позволило разработать соответствующую нормативно-техническую документацию как на сырье — пчелиный яд, так и на лекарственную форму. В результате мы имеем сегодня ГОСТы на яд и препарат в виде утвержденных Фармакопейным комитетом МЗ СССР в 1989-90 гг. Фармакопейных статей: ФС 42-2683-89 "Яд пчелиный" и ВФС 42-1935-89 "Мазь Унгапивен", замененной недавно на ФС 42-3009-94.

Проведенное доклиническое изучение мази показало, что она имеет ряд преимуществ перед известными средствами, в том числе и содержащими пчелиный яд (Апизартрон, Вирапин), относительно безвредна.

Клинические испытания мази Унгапивен были проведены в стационарах Военно-медицинской Академии им. С.М. Кирова, кафедры нервных болезней МОЛГМИ, НИИ ревматологии АМН СССР, неврологии АМН СССР и др. В результате испытаний было установлено, что мазь проявляет отчетливое терапевтическое действие в 60-80% случаев лечения больных. Наиболее эффективен оказался при острых процессах — миозитах, ломбаго: в первые 3-4 дня втираний мази отмечалось уменьшение болевой чувствительности, увеличение объема активных движений в поясничном отделе, снижение симптомов напряжения. Менее эффективным был препарат при хронических спондилогенных заболеваниях позвоночника, невралгии тройничного нерва, травматических арталгиях. При из-

мерении суточной экскреции адреналина, являющейся косвенным показателем уменьшения болевых синдромов, установлено уменьшение экскреции после курса втираний Унгапивена. В ходе испытаний было отмечено, что при нанесении и всасывании мази проявлялось легкое покраснение кожных покровов в месте втираний, сопровождающееся опущением тепла. Для получения положительного клинического эффекта в отдельных случаях было достаточно однократного втирания мази, но эффект был кратковременным и длился 2-3 часа. Для получения более стойкого эффекта приходилось применять препарат курсом в течение 5-7 дней. Отмечены единичные случаи возникновения аллергических реакций на мазь, которые проходили самостоятельно после отмены препарата.

Интересным представляется выявленный в ходе клинических испытаний эффект восстановления нервно-мышечного аппарата у спортсменов при глубоких степенях его утомления, существенно превосходящий аналогичный эффект Апизартрона.

На основании проведенных клинических испытаний Фармакологический комитет МЗ СССР разрешил медицинское применение Унгапивена у взрослых в качестве местного противовоспалительного и обезболивающего средства и его промышленный выпуск.

Еще большие трудности технологии, по сравнению с мазями, возникают при разработке инъекционных лекарственных форм с пчелиным ядом. Здесь, кроме того, что необходимо сохранить активность компонентов яда, необходимо учитывать потери от стерилизации препарата. Вместе с тем и сама сохранность водного раствора затруднительна, так как водные растворы яда весьма нестойки и быстро подвергаются загниванию (Артемов с соавт., 1967). Именно поэтому выпускающийся Апизартрон для инъекций расфасован в две ампулы, одна из которых содержит сухой лиофилизированный яд, а другая — воду для инъекций, а смешивание — растворение производят непосредственно перед применением. Лиофилизация, которая в некоторой степени заменяет стерилизацию препарата, с другой стороны, может играть и отрицательную роль. В частности, показано, что при этом пчелиный яд и особенно его фосфолипаза А проявляют повышенную аллергентную активность.

Исходя из вышесказанного, нами (совместная разработка Нижегородского университета и Латвийской медицинской академии) недавно был разработан состав стабильного раствора пчелиного яда для инъекций без его лиофилизации — Солапивен (сол — раствор, апи — пчела, вен — яд). Был найден оптимальный раствор

теп, обеспечивающий сохранение ферментативной активности яда, и подобраны соответствующие стабилизаторы. Проведенные после 2-х лет хранения раствора испытания фармакологического средства показали его высокую эффективность, не уступающую нативному пчелиному яду. Это было доказано экспериментами как на изолированных препаратах, так и на целостном организме животных. На изолированной кишке морской свинки было установлено, что перфузия раствором препарата повышала тонус кишки и уменьшала ее реакцию на ацетилхолин в той же степени, что и нативный пчелиный яд. В экспериментах на наркотизированных кошке было показано, что внутривенное введение препарата в дозе 0,05 мл/кг (расчет на содержание в препарате яда-сырца) приводило к падению артериального давления с 135 ± 8 мм рт.ст. до 110 ± 10 мм рт.ст. с восстановлением до исходного уровня через 5-7 минут. Одновременно происходило увеличение амплитуды периферической реограммы, свидетельствующей о падении сосудистого тонуса, и повышении амплитуды электрокардиограммы (рис. 19). Аналогичные реакции были зарегистрированы при введении животным нативного пчелиного яда в тех же дозах.

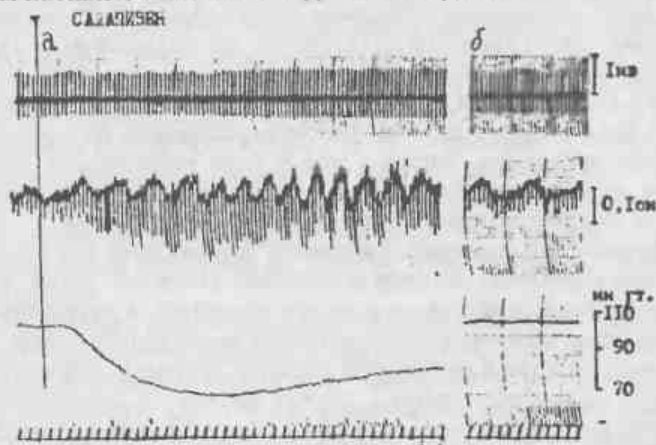


Рис. 19. Влияние препарата пчелиного яда (Соллапивен на (сверху вниз): электрокардиограмму, периферическую реограмму и артериальное давление кошки при внутривенном введении в дозе 0,05 мл/кг. а - момент введения яда (вертикальная линия); б - через 10 мин после введения; отметка времени - 10 с.

Специфическую активность разработанного средства изучали на моделях разных патологических состояний организма. В одной

из них ставилось целью изучить противоревматическую активность нового препарата. Моделировался адьювантный артрит у крыс. Через несколько часов в месте введения полного адьюванта Фрейнда (субплантарно) развивалась воспалительная реакция в виде гиперемии кожных покровов, отека. Реакция прогрессировала в течение 5-7 дней. На 10-12 день после введения ПАФ появлялись видимые поражения суставов за счет разрастания синовиальной оболочки, образующей "паннус". Кроме наблюдения за животными, через 20, 40 и 60 дней после введения ПАФ проводился патоморфологический и гистологический анализ суставов. Животным опытной группы ежедневно вводился Соллапивен в дозе 0,05 мл/кг, контрольной — физиологический раствор с основой препарата.

При наблюдении за животными было установлено, что, в отличие от контрольных крыс, у леченых пчелиным ядом животных не нарушалась функция передвижения. При вскрытии на 20-й день суставной сумки скакательных суставов задних лап у контрольных животных наблюдалось скопление серозно-фиброзного экссудата, отсутствующее у опытных крыс.

Еще большее различие в развитии патологического процесса у опытных и контрольных групп животных показано на поздних стадиях. Дерматиты, конъюнктивиты у леченых крыс отмечались только к 40-му дню, после чего проходили. У контрольных животных они наблюдались с 10-го по 50-й день эксперимента. Отечность лап у них сохранялась вплоть до последнего дня опыта. Вскрытие суставной сумки через 40 дней после введения ПАФ показало скопление серозно-фиброзного экссудата в суставной щели нелеченых крыс и полное его отсутствие у леченых. При исследовании препаратов, сделанных в сагитальном разрезе через сустав и кости задних конечностей, отмечены участки эпителюидной гранулемы в синовиальной оболочке контрольных животных, которые отсутствовали у опытных. Отмечено снижение количества фибробластов и гистиоцитов в субинтимальной ткани и невыраженный очаговый миозит у леченых животных по сравнению с явно выраженной пролиферацией фибробластов и гистиоцитов, а также диффузным миозитом у контрольных, нелеченых животных.

Из полученных результатов следует, что инъекционный препарат Соллапивен обладает выраженными противовоспалительными и пролиферативными свойствами, присущими нативному пчелиному яду.

Клинические испытания препарата проведены на базе неврологических отделений областной клинической больницы им. Семаш-

ко и областной клинической больницы № 3 в течение 1992-1993 гг. (Н. Новгород). Изучался Солапивен для инъекций в ампулах, изготовленный экспериментальным заводом института органического синтеза АН Латвии (серии № 01-030491). Препарат применялся в комплексной терапии больных двух категорий: заболеваниями периферической нервной системы и сосудистыми заболеваниями головного мозга.

Методика испытаний

Перед лечением больных проводили биологическую пробу — внутрикожно в области левого предплечья вводили 0,1 мл 0,06% раствора Солапивена. Через сутки проводили анализ мочи. При появлении в моче белка, сахара или эритроцитов пробу считали положительной, и лечение не назначалось. Оценивалась также местная тканевая реакция: положительной считали реакцию развития местной гиперемии с отеком тканей в диаметре более 3 см и наличие лимфангоита. В процессе лечения следили за возможными осложнениями аллергического характера и побочным действием препарата.

Инъекции препарата проводили через 1-2 дня при суммарном числе процедур от 4 до 8. Лечение прекращали по достижении эффекта. В переводе на дозы препарата это составило от 0,2 до 3 мл 0,06% раствора, или, если перевести на пчелужаления — от 1 до 18 пчел.

Зоны инъекций: болевые точки ("триггерные зоны"), точки акупунктуры в соответствии с правилами китайского иглоукалывания. При сосудистых заболеваниях головного мозга — точки вегетотропные, общего действия. При заболеваниях периферической нервной системы — точки местного действия, локально-сегментарные точки и отдаленные точки. В соответствии с локализацией точек акупунктуры Солапивен вводился подкожно или внутримышечно.

Результаты испытаний

1. *Заболевания сосудистые головного мозга.* Всего пролечено 29 больных (12 мужчин и 17 женщин) в возрасте от 34 до 65 лет. Диагноз начальных проявлений недостаточности кровоснабжения мозга (НПНКМ) был установлен у 18 больных, начальной дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ) — у 11 больных. Недостаточность кровоснабжения выявлялась преимущественно в системе вертебрально-базиллярных артерий (ВБА) и протекала на фоне шейного

остеохондроза, начального атеросклероза мозговых и коронарных сосудов, гипертонической болезни или их сочетания.

Типичными жалобами больных с НПНКМ были: частые или постоянные головные боли, чувство тяжести в затылочной области, шее, нарушения сна, снижение работоспособности, иногда боли в сердце. В неврологическом статусе выявлялась эмоциональная и вегетативная неустойчивость, болезненность шейных паравerteбральных и вегетативных точек, слабость конвергенции (у 3 больных), симптом Тренера (у 4 больных). На глазном дне у 9 больных выявлена начальная ангиопатия сетчатки, на РЭГ явления дистонии. На спондилограммах шейного отдела (7 больных) признаки остеохондроза разной степени выраженности. ЭЭГ — без очаговых и пароксизмальных нарушений.

У больных ДЭ ведущим также являлся цефалгический синдром, боли носили упорный характер, отмечалась четкая метеозависимость. При обследовании выявлялись мнестические нарушения, слабость конвергенции глазных яблок, снижение слуха (у 4 больных), ограничение движений в шейном отделе из-за боли. На глазном дне — ангиопатия сетчатки, на РЭГ — торпидность реакции на широглицидин, снижение эластичности сосудистой стенки (у 6 больных). Липиды крови были повышены у 8 больных.

После лечения препаратом Солапивен в сочетании со стандартной терапией (не включающей анальгетики) значительное улучшение отмечалось у 8 больных с НПНКМ и 2 больных с ДЭ. У этих больных исчезали головные боли, боли в сердце. Улучшение регистрировалось у 7 больных с НПНКМ и 5 больных с ДЭ. У них уменьшались цефалгии, головокружения. Отсутствие эффекта было определено у 3 больных с НПНКМ и 4 больных с ДЭ. Таким образом, эффект улучшения был выявлен у 15 больных из 18 с НПНКМ (83%) и у 7 больных из 11 с ДЭ (64%). В контрольной группе, не получавшей Солапивен, улучшение отмечено у 7 из 12 больных с НПНКМ (58%) и у 2 из 6 больных с ДЭ (34%).

2. *Заболевания периферической нервной системы.* Препаратом Солапивен пролечено 52 больных в возрасте 32-76 лет. Распределение по нозологическим формам: невралгия тройничного нерва, остеохондроз поясничного, грудного и шейного отдела с выраженными болевыми мышечно-тоническими синдромами, деформирующий остеоартроз, артроз тазобедренных, коленных суставов, эпикондилит, плече-лопаточный периартроз.

В результате проведения биологических проб было установлено, что Солапивен дает меньшее число аллергических проявлений

Унгапивен — мазь, содержащая в качестве действующего вещества пчелиный яд и его ферменты — гиалуронидазу (не менее 40 МЕ/г) и фосфолипазу А (не менее 55 МЕ/г), на водорастворимой мазевой основе. В медицинской практике применяется в виде мази белого цвета с сероватым или желтоватым оттенком.

Фармакологические свойства

Унгапивен обладает холинотитическими свойствами, присущими пчелиному яду, оказывает местное и центральное анальгетическое и противовоспалительное действие. Наличие ферментов гиалуронидазы и фосфолипазы А способствует проникновению других биологически активных компонентов пчелиного яда через кожу.

Показания к применению

Унгапивен применяют при артритах различной этиологии, артрозах, остеохондрозе, радикулитах с корешковым синдромом, миалгии, миозите, люмбаго.

Способ применения и дозы

Унгапивен применяют наружно, перед нанесением мази место аппликации промывают теплой водой. Мазь тонким слоем наносят на влажную поверхность тела, что способствует более быстрому всасыванию активных веществ. Втирание проводят в течение 3-5 минут.

Препарат применяют 1-3 раза в день. Курс лечения от 1 до 4 недель.

После применения мази необходимо тщательно вымыть руки, чтобы избежать попадания мази на слизистые оболочки глаз.

Побочное действие

При применении Унгапивена возможна аллергическая реакция. У людей, склонных к аллергии на пчелиный яд, при нанесении мази на значительную поверхность может наблюдаться в месте нанесения гиперемия, повышение температуры и отек кожи. Возможна также общая аллергическая реакция, которая может выражаться в недомогании, ознобе, головной боли, тошноте, рвоте, повышении температуры. В этих случаях проводят лечение противоаллергическими (антигистаминными) средствами.

у больных по сравнению с пчелоужалениями. В 2-х случаях из 52 пришлось отказаться от апитерапии из-за появления местной положительной реакции, и в 1 случае наблюдалась общая реакция организма (вихорадка, повышение температуры до 38°C), прекратившаяся после введения димедрола.

В результате лечения было установлено, что Солапивен обладает безусловным эффектом обезболивания, особенно выраженным при мышечно-тонических и нейродистрофических синдромах, обусловленных остеохондрозом. Во всех случаях лечения препаратом наблюдалось улучшение общего самочувствия, нормализовался сон, настроение, повышался общий тонус организма.

Лишь в 2-х случаях не было получено четкого терапевтического эффекта — при дискогенном радикулите (видимо, из-за компрессии корешка). В остальных случаях вместе с анальгетическим проявлялся и противовоспалительный эффект, что позволяло заканчивать процедуры с хорошим терапевтическим эффектом.

Из полученных результатов следует заключить, что новое лекарственное средство обладает выраженным обезболивающим и противовоспалительным эффектами со всеми признаками пативности пчелиного яда. Более того, больные отмечают меньший болевой эффект при инъекции препарата по сравнению с пчелоужалениями. Это, видимо, связано с отсутствием в препарате низкомолекулярных летучих веществ пчелиного яда, обладающих аллогенным эффектом. Уменьшение аллергических проявлений на препарат, видимо, связано с уменьшением в нем содержания аллергенов, что позволяет организму без "иммунных издержек" вступить во взаимодействие с лекарством. Вместе с тем укажем на определенное терапевтическое преимущество Солапивена: по сравнению с пчелоужалениями курс апитерапии существенно укорачивается. Мы полагаем, что это может быть связано с появившейся возможностью более точно (по горизонтали, вертикали и глубине) инъектировать раствор пчелиного яда через иглу в акупунктурную точку.

Выпущенное позволяет сделать вывод, что препарат Солапивен обладает выраженными терапевтическими свойствами, хорошо переносится больными, что позволяет рекомендовать его для терапии заболеваний нервной системы как обезболивающее и противовоспалительное средство.

Ниже приводится инструкция по применению разработанной мази "Унгапивен", разрешенной к применению.

Противопоказания

Применение Унгапивена противопоказано при индивидуальной непереносимости на препарат, заболеваниях почек, печени и поджелудочной железы, диабете, новообразованиях, туберкулезе, тяжелых инфекционных заболеваниях, сепсисе и гнойных (острых) заболеваниях кроветворной системы, недостаточности кровообращения с декомпенсацией, психических заболеваниях, кахексии, сахарном диабете, заболеваниях коры надпочечников, беременности.

Форма выпуска

Унгапивен выпускают в виде мази в тубах по 25 г или банках из оранжевого стекла по 25 г или 50 г.

Условия хранения

Препарат следует хранить в прохладном, сухом, защищенном от света месте.

Вышеприведенная инструкция не отменяет общую инструкцию по применению апитерапии, одной из первых разработанных в нашей стране и утвержденную МЗ СССР в 1959 году. В указанной инструкции более широко представлены показания для проведения апитерапии пчелужалениями:

- ревматические заболевания (ревматические полиартриты, ревматические заболевания мышц, ревмокардит);
- неспецифические инфекционные полиартриты;
- деформирующий спондилоартроз;
- заболевания периферической нервной системы (пояснично-крестцовый радикулит, воспаление седалищного нерва, бедренного, лицевого и других нервов, межреберные невралгии, полиневриты и др.);
- трофические язвы и вялогранулирующие раны;
- сосудистые хирургические заболевания (тромбофлебиты без гнойного процесса, эндартериоз, атеросклеротические поражения сосудов конечностей);
- воспалительные инфильтраты (без нагноения);
- бронхиальная астма;
- мигрень;
- гипертоническая болезнь I и II степени;
- ириты и иридоциклиты.

Согласно указанной инструкции, лечение начинают с пробных ужалений для того, чтобы выяснить, какова реакция больного на пчелиный яд. Первая проба заключается в том, что на кожу пояс-

ничной области наносится ужаление одной пчелой и жало извлекается из кожи через 10-15 секунд. На следующий день проверяется моча на белок и сахар. После этого проводится вторая проба — на кожу той же области вновь производят ужаление одной пчелой и жало извлекается через 1 минуту. Вновь проверяется моча на белок и сахар. В случае, если после двух биологических проб в моче не появляется белок и сахар и нет резко выраженной аллергической реакции или общих явлений отравления, можно проводить апитерапию.

Лечение проводят по приказам. Цикл лечения состоит из 10-15 процедур ужалений пчелами ежедневно в течение 10-15 дней или 2 раза в неделю в течение 1,5 месяцев. При необходимости цикл повторяется через 1,5-2 месяца.

Место ужалений и их количество определяются врачом в зависимости от заболевания. При ревматическом неспецифическом инфекционном полиартрите, деформирующем спондилоартрозе, пчелужаления производятся в области пораженных сосудов и по ходу позвоночника. Сначала делается 2-5 ужалений с увеличением их до 10-20 за процедуру. При заболеваниях периферической нервной системы пчелужаление производится по ходу поражения нервов, а при пояснично-крестцовом радикулите, кроме этого, на пояснично-крестцовую область (8-12 пчелужалений за процедуру). При эндартериозе и атеросклеротическом поражении сосудов — по ходу сосудов пораженной конечности. При тромбофлебитах — над тромбированными венами, при вяло гранулирующих ранах и трофических язвах — в 5 см от края раны или язвы, а также по ходу чувствительных ветвей нервов данной области. Количество ужалений уменьшается до 5-8 за процедуру. Еще меньше пчелужалений следует проводить при гипертонической болезни, бронхиальной астме, иритах и иридоциклитах — не более 2-4 за сеанс. При гипертонии ежедневные процедуры не рекомендуются. При иритах и иридоциклитах ужаления производятся в височную область.

Женщинам и лицам пожилого возраста, а также детям количество ужалений должно быть уменьшено.

После каждого ужаления жало выдерживается в коже 1 минуту, после чего удаляется. Общее количество ужалений за цикл лечения не должно превышать 200-250. В ряде случаев апитерапию целесообразно сочетать с медикаментозным лечением, физиотерапевтическими процедурами.

В названной инструкции очерчен также и круг противопоказаний к применению апитерапии:

- повышенная чувствительность к пчелиному яду, идиосинкразия,
- инфекционные заболевания,
- туберкулез,
- психические заболевания,
- болезни печени и поджелудочной железы в стадии обострения,
- заболевания почек, коры надпочечников,
- сепсис, острые заболевания,
- декомпенсация сердечно-сосудистой системы,
- органические заболевания центральной нервной системы,
- общее истощение организма,
- болезни крови и кроветворной системы с склонностью к кровотечениям,
- беременность.

7.3. МЕТОДЫ ВВЕДЕНИЯ ЯДА В ОРГАНИЗМ

Как видно из вышеприведенных инструкций по применению препаратов пчелиного яда или пчелоужалений, многое из показаний и противопоказаний может определяться и способом воздействия яда — его введением в организм. Современная литература описывает несколько таких методов.

1. Пчелоужаления

Несмотря на появление в арсенале апитерапии ряда препаратов с пчелиным ядом, ужаление живыми пчелами остается самым распространенным методом введения яда в организм. (Бородин с соавт., 1988; Каминский с соавт., 1988; Янгиров, 1988 и др.) Пчела захватывается пинцетом и прикладывается брюшком к очищенному участку кожи. В момент соприкосновения с кожей пчела рефлекторно вынуждает жало в кожу и подкожную клетчатку. Далее пчела отрывается от кожи, а жало, сокращаясь, еще глубже входит в кожу. При этом продолжается впрыскивание ядовитого секрета из резервуара желез (по некоторым данным такое опорожнение резервуара может длиться до 30 минут). В связи с этими особенностями процесса ужаления создается возможность варьирования дозы введения яда: она определяется временем нахождения жала в коже, после чего оно захватывается пинцетом и извлекается.

Возникающая болезненность и даже аллергическая реакция при таком методе введения яда могут быть уменьшены и даже сняты, если несколько модернизировать процесс пчелоужаления. Например, Лудянский (1991) предлагает предварительно вводить больно-

му в зону предполагаемого ужаления 10-15 мл 0,5%-го новокаина, или внутримышечно 1 мл димедрола и внутривенно 5 мл 0,5%-го новокаина. С этой же целью Силл (1971) предлагает проводить апитерапию в соответствии с биоритмами человека. Предлагается проводить пчелоужаление только в отрицательную фазу физического цикла. Напомним, что если количество дней от рождения разделить на 23, 28 и 33, то получатся соответственно длительность физического, эмоционального и психического цикла. При этом половина дней в физическом ритме с 8 по 16 показана для введения пчелиного яда. В периодические и полупериодические дни, по мнению автора, возрастают аллергические реакции человека, поэтому в эти дни не следует проводить апитерапию.

Еще более эффективными оказываются пчелоужаления в сочетании с иглорефлексотерапией. Приходько (1962), Щербан (1976), Охотский (1987), Лудянский (1991) показали, что наиболее эффективно пчелоужаление в акупунктурные точки. Следует учесть, что в акупунктурных точках, кроме сосредоточения нервных окончаний и рецепторов, запускающих рефлекторные реакции организма, находятся в большом количестве соединительнотканые тучные клетки, богатые физиологически активными веществами. Соответственно, при ужалении в данную точку вместе с запуском иглорефлекса из таких клеток выделяются в массовом количестве такие вещества, как гепарин, гистамин, серотонин, сами по себе оказывающие мощное физиологическое действие, направленное на восстановление нарушенных функций. Щербан (1976) лечил таким способом пациентов с невралгиями (поясничных, седалищного, плечевых, бедренных и лицевых нервов) и получил хорошие результаты у 85% лечившихся. Сравнивая результаты лечения тех же невралгий только ядом, вводимым инъекционно, автор показал, что такое комбинированное лечение на 15-20% повышает эффективность терапии, сочетая в себе действие пчелиного яда с азиатской иглорефлексотерапией. Позднее Лудянский (1987) подробно детализировал сочетания акупунктурных точек с пчелоужалением при разных заболеваниях и также отметил большую эффективность такой комбинации. На основании тридцатилетнего опыта практической рефлексотерапии автором разработаны основные принципы выбора точек для пчелоужалений с учетом особенностей прохождения меридианов и связи точек с определенными сегментами спинного мозга. Автор полагает, что связь любой соматической системы с управляющими центрами головного и спинного мозга обеспечивается как минимум тремя путями: 1) через перифе-

рическую нервную систему; 2) через нейрогуморальную систему, 3) висцеро-кутано-перебральным путем. При этом третий путь имеет эволюционную взаимосвязь ввиду общего происхождения кожи и нервной системы из одного зародышевого листка — эктодермы. В связи с вышеуказанным важно понять, что кажущееся несоответствие сегмента заболевания и локализации акупунктурной точки может быть связано с расхождением в пространстве этих сегментов при развитии зародыша организма человека. Например, мочеполовые органы закладываются в междопаточной области и только к моменту рождения опускаются в малый таз. Акупунктурные же точки воздействия при заболеваниях мочеполовой системы остались в этой области (гар-хуан и по-ху). Точно так же следует относиться к связям акупунктурных точек кисти и заболеваний нижней части лица и т.д.

Далее Лудянским (1991) выявлено, что сегментарные акупунктурные зоны пчеложалений часто совпадают с зонами Захарьина-Гела и Маккензи. Например, меридиан сердца совпадает с иррадиацией болей при стенокардии. Автор указывает, что энергия "чи" определялась им путем измерения напряжения в точках, расположенных в начале и конце меридиана или по его длиннику. Зная величину напряжения в точке "глашатай", которая выражает среднюю величину напряженности меридиана, можно иметь представление о необходимости нагнетания энергии в меридиан или, наоборот, уменьшения чи (принцип бусе). Это соответствует интенсивности клинической картины или воздействию на синдром пустоты и полноты по Гаваа Лувсану. При синдроме "пустоты", т.е. незаполненности меридиана энергией, большее количество яда пчел вводилось в начале меридиана, меньшие дозы — в точки, находящиеся в его конце. При синдроме "полноты" и необходимости перевести "энергию" в другой меридиан соответственно большее количество пчеложалений должно проводиться в конце меридиана и поблизости к "ло-пункту", дающему выход на содружественные меридианы.

При рассмотрении выбора точек пчеложалений следует указать, что еще в 1954 году Иойриш привел схемы рационального пчеложаления, в которых использовались зоны, во многом совпадающие с акупунктурными меридианами и точками. Сходное с вышеописанным обоснование выбора биологически активных точек при пчеложалениях больных на основании большого клинического опыта приводит Охотский Б.А. (1988).

Недавно нами была модернизирована методика введения яда в акупунктурные точки. Для этого была разработана комбинированная лекарственная форма с условным названием "Рефлапис". Названное терапевтическое средство представляет собой акупунктурные стальные иглы с нанесенным на них цельным пчелиным ядом. Технология изготовления средства заключалась в специальной обработке игл, осаждении на них пчелиного яда из раствора, стерилизация и консервация готовой лекарственной формы.

Лабораторные испытания средства показали, что количество пчелиного яда на игле соответствует расчетному и составляет $0,1 \pm 0,02$ мг, что соответствует содержанию высушенного секрета из резервуара ядовитой железы одной пчелы (1 биологическая единица). Подлинность качества и биологическая активность нанесенного на иглу препарата соответствует ФС 42-2683-89 "Яд пчелиный", утвержденной ФК МЗ России. Средство "Рефлапис" стерильно, апиrogenно, в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ (XI).

Результаты клинической апробации средства, проведенные на базе областной больницы им. Семашко, показали, что разработанное средство обладает большей эффективностью по сравнению с иглорефлексотерапией при лечении иммунодефицитных состояний, сахарного диабета, заболеваний периферической нервной системы. Кроме кратковременной болевой реакции в первый момент введения иглы в акупунктурную точку, других побочных отрицательных эффектов не регистрировалось. На основании вышеизложенного можно заключить, что лечебное действие средства "Рефлапис" обеспечивается сочетанным механическим и химическим воздействием на точки акупунктуры, причем химическое воздействие производится растворимыми в жидкостях организма физиологически активными компонентами пчелиного яда.

2. Электрофорез.

Электрофорез, т.е. введение пчелиного яда в кожу посредством гальванического тока, впервые был описан Генске (1936). В нашей стране этот метод введения пчелиного яда начал применять Иойриш (1954). Позже метод ионофореза стали широко использовать при апитерапии, применяя как нативный яд в виде раствора, так и мази, наносимые на электроды. Мы уже описывали выше созданный специально для этих целей препарат Апифор в виде таблеток. Место наложения электродов с субстратом, содержащим пчелиный яд, варьируют в зависимости от заболевания. Так, Лу-

дянский (1991) рекомендует воздействие на воротниковую зону при миопатии, при вертеброгенных болевых синдромах — поперебно в зоне пораженного позвоночно-двигательного сегмента по обе стороны позвоночника, при хронической пневмонии — в межлопаточной области, при травматическом плексите — на плечевой сустав, при гипертонической болезни — на сосцевидные отростки и т.д. Качный Г.Н. (1982) с успехом использовал при риносинуситах внутриносовый способ введения яда электрофорезом. При этом пчелы жалели ватный тампон, в который автор добавлял воду, и такую турунду закладывал в нос, соединяя ее с отрицательным полюсом источника тока.

До сих пор не изучен вопрос о том, какие компоненты яда, с какими скоростями и с каких электродов поступают в организм. Поэтому часто композиции с ядом помещают под оба электрода электрофореза. Между тем еще в 1935 году Нагамиту, одним из первых изучавший эти вопросы, показал, что при электролизе раствора яда на отрицательном полюсе обнаруживается вещество, обладающее местным действием на кожу (краснота, припухлость), а на положительном — вещество, вызывающее гемолиз. Вещество, обладающее катодической активностью, оказалось гистамином и разрушалось гистаминазой.

С целью изучения поставленных вопросов мы провели анализ электрофоретического введения инъекционного препарата пчелиного яда Солапивен, проходящего клинические испытания. Добровольцам на кожу предплечья накладывались электроды с гигроскопическим материалом, смоченным раствором препарата. Величина тока составила $0,1 \text{ mA/cm}^2$, время введения 10 минут. Было установлено, что в области анода возникала сильная гиперемия со светлыми папулами. Под катодом гиперемия была слабо выражена и не отличалась от контроля, в котором под электроды помещалась основа препарата без яда.

Моделирование указанного процесса в толстом слое гигроскопического материала показало, что в аналогичных условиях электрофореза анодная фракция раствора препарата (т.е. раствор, собранный с части гигроскопического материала возле анода) проявляла гемолитическую и фосфолипазную активность, определяемую общепринятыми методами. В отличие от этого катодная фракция раствора гемолитической активностью не обладала.

На основании проведенных экспериментов следует заключить, что с анода в кожу поступает, в основном, гистамин пчелиного яда. Что до поступления в организм с противоположного полюса

— катода анодной фракции (мелиттин, фосфолипаза А и др.), то это весьма проблематично (за исключением мелиттина) ввиду их высокомолекулярности. Во всяком случае, именно этим можно объяснить отсутствие аллергических осложнений при электрофоретическом введении пчелиного яда.

Вместе с тем, поступление в организм гистамина и, видимо, других низкомолекулярных соединений яда, обуславливает хороший терапевтический эффект за счет местных реакций: гистамин расширяет мелкие кровеносные сосуды, увеличивает их проницаемость, соответственно, изменяет градиенты потока ионов метаболитов и воды из крови в ткань и обратно. В свою очередь, это формирует общие реакции организма. Так, установлено мощное гистаминолибераторное действие самого гистамина по принципу положительной обратной связи: чем больше поступило внешнего гистамина, тем больше освобождается внутреннего, клеточного гистамина. Этим можно объяснить широко известное гистаминоподобное действие внутривенного введения пчелиного яда: падение артериального давления, расширение периферических сосудов и сужение легочных сосудов.

Таким образом, при электрофоретическом введении пчелиного яда следует учитывать (в зависимости от восприимчивости больного и его заболевания) его реакции на гистамин.

Одним из недостатков апитерапии пчелиным ядом является болезненность в месте пчелоужаления или инъекции яда, особенно выраженная у детей. Альтернативный метод введения — электрофорез, при котором из-за медленного поступления яда в организм болевой эффект отсутствует. Вместе с тем большая поверхность электродов для электрофореза не позволяет подводить действующее вещество к акупунктурным точкам. Нами предложено автономное, портативное устройство для электрофореза пчелиного яда в биологически активные точки.

Устройство выполнено в виде пластикового цилиндра с сужением на рабочем конце, с диаметром отверстия 3 мм. Рабочая часть цилиндра заполнена гигроскопическим материалом, в который погружен спиральный стальной электрод, последовательно соединенный с резистором, обеспечивающим стабилизацию рабочего тока. Электрод через разъем соединен с источником постоянного тока напряжением 30-36 В. Второй электрод выполнен стандартно — в виде токопроводящего стержня большой площади контакта.

После заполнения (пропитки) гигроскопического материала раствором пчелиного яда в физиологическом растворе электрод

(рабочее отверстие цилиндра) накладывается на точку акупунктуры. Второй, индифферентный электрод плотно удерживается рукой пациента. Электрофорез осуществляется в зависимости от показаний 2-10 минут. Концентрация яда подбирается экспериментально, его объем в рабочем цилиндре составляет 0,5 мл.

Устройство позволяет оперативно, в зависимости от состояния биологически активной точки, производить электрофорез пчелиного яда как с положительного, так и с отрицательного полюса, а также последовательно. Испытания устройства на добровольцах и экспериментальных животных показали эффективность точечного электрофореза пчелиного яда, оцениваемую по изменениям биохимических и морфологических показателей периферической крови.

3. Фонофорез

Еще один комбинированный способ апитерапии — введение пчелиного яда посредством ультразвука ввела в практику болгарский врач-терапевт Починкова (1965). Комбинация заключается в том, что ультразвук, помогая прохождению яда через кожный барьер, сам по себе также может оказывать терапевтический эффект, что широко применяется сегодня при физиотерапевтических процедурах. Определяя уровень аскорбиновой кислоты в надпочечниках, автор показала, что пчелиный яд проникает в организм при использовании мази (100 мг% яда), нанесенной на кожу (сила ультразвука 0,2-1,5 Вт/см² и длительности воздействия 5-12 минут). При лечении 626 больных с дегенеративными изменениями позвоночника было установлено, что после 12-15 ежедневных процедур, боли исчезли у 194 больных (59,5%) и у 98 (30%) сила их уменьшилась. Шкендеров и Починкова (1968), Охотский и Коврига (1988) установили, что ультразвук не оказывает разрушающего воздействия на биохимические свойства пчелиного яда и даже увеличивает свою антибактериальную активность.

Щербан (1976) с целью сравнения лечил две группы пациентов, по 25 больных в группе, страдающих артрозом одного или обоих коленных суставов. Перед применением ультразвука (10 процедур силой звука 0,5 Вт/см² в течение 5-10 минут) одной группе втирали препарат яда Форапин, а другой — гидрокортизоновую мазь. Терапия ультразвуком с Форапином дала лучшие результаты, чем с гидрокортизоном. В первой группе у 70% лечившихся установлено исчезновение болей и припухлости, улучшение подвижности суставов, а у 25% пациентов этой группы боли исчезли или уменьшились, но припухлость или ограниченность движений суставов оста-

лась. Во второй группе эти проценты составляли соответственно 52 и 30. Аналогичные результаты получили Балтушкявичус (1978), пролечивший две группы больных с деформирующим остеохондрозом и полартритом. Первую группу лечили ультразвуком и препаратом яда — линиментом апитрита, а вторую — ультразвуком и гидрокортизоновой мазью. Была также выделена третья группа, которую лечили только ультразвуком. В результате оказалось, что наиболее эффективным было лечение ультразвуком в сочетании с препаратом пчелиного яда.

4. Втирание

После естественных пчелоужалений метод втирания пчелиного яда в кожу в виде тех или иных препаратов является самым распространенным. Он наиболее подходит в домашних условиях, менее токсичен, и также может сочетать комбинированное воздействие в виде массажа или включений в препараты других компонентов. Например, Иойрин (1954) рекомендовал самостоятельное приготовление мази из пчелиного яда, белого вазелина и салициловой кислоты, размягчающей эпидермис кожи. Более того, для специального повреждения кожи и, соответственно, лучшего всасывания яда, автор вводил размельченные силикатные кристаллы в мазь. Однако излишняя травматизация большого участка кожи уменьшает эффективность такой комбинации.

Бек (1962) применил линимент с пчелиным ядом Форапин для втирания в кожу при невралгических заболеваниях самостоятельно или в комбинации с противоревматическими средствами, назначаемыми внутрь.

Место втирания мазей и линиментов пчелиного яда обычно совпадает с проекциями болей. Техника нанесения мази и растирание подробно изложены выше в инструкции по применению мази "Унгапивен".

Разновидностью нанесения на кожу мази является рекомендуемый Лудянским (1991) способ аппликации субстрата с ядом, исключая массаж. Берется небольшое количество мази, наносится на кожу и заклеивается лейкопластырем. При этом места таких аппликаций могут быть как болевые зоны, так и зоны Захарьина-Геда для легких, сердца, желудочно-кишечного тракта, соседние отростки при гипертонической болезни. Автор указывает, что весьма полезны такие микроаппликации при пяточных "шипорах", плечевых периартрозах и т.п., где имеется отложение остеофитов на кости, дающее болевое ощущение.

5. Ингаляция

Достаточно редкий метод введения пчелиного яда описан Иойришем (1954, 1970), Бродменом (1962) и др. Ясно, что при наличии показаний к этому способу лечения воздействие компонентов яда как на дыхательные пути, альвеолы, так и его всасывание через их поверхность резко возрастает. Яд, видимо, можно ингалировать как в пылеобразном, так и в растворенном виде.

6. Внутреннее употребление

Принципиальная возможность употребления пчелиного яда или его препаратов через рот теоретически мало обоснована. Дело в том, что основные действующие компоненты яда являются полипептидами и поэтому разрушаются пищеварительными ферментами желудочно-кишечного тракта. Однако если препарат держать во рту до полного всасывания слизистой ротовой полости, можно частично избежать такого разрушения. Во всяком случае, в 1958 году в США было предложено при введении яда внутрь использовать пчелиный яд в виде таблеток под язык (Младенов, 1992).

7.4. ЧАСТНАЯ ТЕРАПИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ

7.4.1. Периферическая нервная система

Наиболее эффективным является применение апитерапии для заболеваний периферической нервной системы. Заболевания периферических нервов воспалительного характера (радикулиты — заболевания корешков спинно-мозговых нервов, невриты — заболевания самих нервных стволов, плекситы — воспаление нервных сплетений, невромозиты — заболевания концевых разветвлений нервов в мышцах) и др. с успехом вылечиваются пчелиным ядом. Названные заболевания характеризуются сильными болями с возможными нарушениями функциональной активности и трофики соответствующих мышц. Успешному лечению поддаются также заболевания нервов невоспалительного характера — невралгии. При невралгиях острые, стреляющие боли возникают приступами и опущаются по ходу нервных стволов (невралгии тройничного, седлищного, межреберных нервов).

Иерусалимчик (1939) одна из первых отечественных терапевтов сообщила об успешном лечении пчелиным ядом 87 больных с воспалением седлищного нерва. Через 10-12 процедур боли у всех больных исчезли. Позднее Фишков (1954) опубликовал результаты лечения препаратом пчелиного яда КФ1 и КФ2 нескольких сот

больных с воспалением периферической нервной системы, причем хорошие результаты были получены при лечении невритов — 90% выздоровевших, крестцово-седлищных невритов — 75% выздоровевших. Болдина (1971) успешно лечила вышеперечисленными препаратами 170 больных, страдающих радикулитами, радикулоневритами, каудитами и плекситами. Препараты вводились под кожу в болевые точки, курс лечения составлял 8-25 инъекций. В 110 случаях наступило полное выздоровление, у 40 — значительное улучшение, лишь у 20 больных с деформирующим спондилоартрозом эффект был слабо выражен. Кривошукская (1960) и Петров (1960) лечили пчеложалениями невриты тройничного и лицевого нервов, причем Кривошукская добилась 100% положительного результата. Алескер (1964) при лечении пчелиным ядом больных радикулитами, невритами, полиневритами, плекситами, невромозитами, воспалением седлищного нерва и межреберными невралгиями добилась полного исчезновения болей или их значительного уменьшения у 80% больных. Для закрепления полученного эффекта больные прошли повторный курс лечения. Младенов, Казанджиева (1965) применяли пчелиный яд при лечении 350 больных с воспалением седлищного нерва и плечевого плексита. До этого больные безрезультатно или с временным улучшением лечились медикаментозно. После лечения ядом (0,2-3 мг подкожно или в кожу) функциональное восстановление отмечено у 40% вылечившихся, у 50% — значительное улучшение.

Карнеев (1971) сообщил об успешном лечении пчеложалениями 40 больных с невритами слухового нерва различной этиологии. До этого больные лечились различными способами, однако безрезультатно, их слух прогрессивно ухудшался. Пчеложаления проводились в область около ушной раковины и кисти рук (2, 4 и 6 сеансов). Больные находились под наблюдением 3 года, после чего проводилась аудиографическая оценка. У 30 больных установлено улучшение слуха, у 5 — устойчивое сохранение слуха, у 5 — лечение оказалось безрезультатным. По мнению автора, пчелиный яд является единственным эффективным лекарственным средством для лечения неврита слухового нерва. Сходные результаты получены недавно Хисматуллиной с соавт. (1993), пролечивших пчеложалениями 136 больных тугоухостью.

Боброва с соавт. (1971) и Гаврилов (1993) лечили больных с дискогенными пояснично-крестцовыми радикулитами, шейными остеохондрозами, болезнью Бехтерева. Препарат (Апикаин — раствор пчелиного яда с новокаином) инъецировался внутривенно

болезненные точки в дозах 0,5-2 мг. Улучшение отмечено у 75% больных.

Большой клинический материал о применении апитерапии для лечения заболеваний периферической нервной системы накоплен Приходько (1968-1971), Лудянским (1977-1993), описавшим успешное применение пчелиного яда при лечении больных с болями синдромами шейного и поясничного остеохондроза, травматических плекситов, невритах лицевого нерва, невралгии тройничного нерва — более 2000 больных.

Из приведенных данных следует, что при лечении невритов и невралгий различного происхождения как пчелоужалениями, так и препаратами пчелиного яда достигается хороший терапевтический эффект. Ряд авторов сообщают, что они вообще не имели неудач — Стрельчак (1988), Янгиров (1988) и др. Почти все авторы отмечают быстро наступающий болеутоляющий эффект пчелиного яда: боли иногда пропадали после первого введения яда. Ценность апитерапии заключается еще и в том, что благодаря ей удавалось достичь излечения в случаях тяжелых, хронических невралгий, при которых все использованные до этого терапевтические средства оказывались неэффективными.

7.4.2. Заболевания суставов

В не меньшей степени, чем при лечении периферической нервной системы, эффективным оказался пчелиный яд при терапии заболеваний суставов. Эти заболевания, среди которых имеются очень тяжелые, приводящие человека к полной инвалидности, бывают как воспалительной (артриты и полиартриты), так и не воспалительной природы, и причины их могут быть разнообразными. Часто они протекают хронически и характеризуются сильными болями, воспалением, нарушением функций суставов. В крайних случаях суставные поверхности необратимо изменяются и иногда срастаются между собой, в результате чего сустав утрачивает подвижность.

В нашей стране накоплен огромный опыт по лечению пчелиным ядом заболеваний суставов — Фишков (1954), Антонов, Болдина (1956), Войтик (1958), Порядин (1958), Владимиров (1959), Перцуленко (1961) и др. Практически результаты, полученные авторами, во многом совпадают. Так, Фишков отмечает, что при лечении суставных заболеваний ревматического, дегенеративного и инфекционного происхождения хорошие результаты были получены у 187 из 304 больных (61%). Виноградова, Зайцев (1964) лечили

пчелоужалением (от 1 до 15 ужалений через день) 117 больных, страдавших подострой и хронической формой ревматоидных артритов. Успешное лечение и улучшение отмечено у 102 больных — исчезли боли и отеки суставов, появилась нормальная подвижность. У 80% больных отмечено повышение общего тонуса и работоспособности, улучшение сна и аппетита. Эффективность лечения была подтверждена контрольной оценкой состояния пациентов через 2,5-3 года. Из 54 обследованных с функциональной недостаточностью суставов 1 степени (болезненность, отеки и некоторая ограниченность подвижности) у 42 из них (78%) состояние было улучшенным. Из 33 больных с функциональной недостаточностью суставов 2 степени (болезненность, отеки, ограниченная подвижность, подтвержденная рентгенографически) 19 из них (57%) чувствовали себя хорошо. Из 19 больных с 3 степенью функциональной недостаточности ревматоидного артрита (тяжелые повреждения суставов) только 5 (25%) больных чувствовали себя лучше. Подобные результаты были получены Алескер (1964). Группу больных из 410 человек лечили пчелоужалениями или апитартроном. Другую, контрольную группу из 154 больных, лечили противовоспалительными средствами — глюкокортикоидными гормонами и салицилатами. Результаты лечения показали, что наиболее хороший терапевтический эффект наблюдался у больных с экссудативно-пролиферативной и фиброзно-склеротической формой ревматоидного артрита: исчезли ревматоидные тендовагиниты и бурситы, подкожные ревматические воспалительные очаги, и полностью ликвидированы невриты. По мнению автора, наиболее эффективен пчелиный яд при лечении подострых и хронических ревматоидных артритов.

Эффективное применение апитерапии при полиартритах описывают Цыганков с соавт. (1971), Гусева (1971, 1988), Каплун с соавт. (1971), Балтушкявичус (1978), Лудянский (1977-1991), Гаврилов (1993), Кузнецов (1993) и др. При этом авторы применяли пчелиный яд как самостоятельно в виде пчелоужалений и препаратов, так и в комплексе с другими методами воздействия — гормонотерапия, электрофорез, иглоукальвание. Так, Лудянский комбинировал вместе с пчелоужалением прием меда внутрь и в виде компрессов на пораженные суставы. Автор указывает, что болевой синдром уменьшался во времени в соответствии со стадией заболевания (быстрее при экссудативной и дольше при фиброзной стадии), а наиболее эффективно пчелоужаление было у больных с неспецифическим полиартритом. На втором месте по эффективности

лечения оказался подглицерический полиартрит. Затем терапевтический результат наблюдался у больных с деформирующими остеоартрозами, и, наконец, ревматическими поражениями суставов конечностей и позвоночника. Автором далее показано, что 2 стадия функциональной недостаточности суставов также довольно успешно поддается лечению пчелоужалением, однако требовались повторные курсы и поддерживающие сеансы воздействия пчелиного яда.

За рубежом лечение пчелиным ядом заболеваний суставов получило меньшее распространение, чем в нашей стране. Возможно, это связано с работой Николс (1938), которая весьма пессимистично заключила, что лечение ужалениями "не имеет постоянного и заслуживающего внимания эффекта". Это заключение было сделано на основании лечения ревматоидных артритов больных, получивших от 53 до 1434 ужалений. Оказалось, что при высоком проценте отказа от лечения из-за тяжелых местных и общих реакций, процент выздоровевших был низок.

Однако позднее появились более обнадеживающие результаты, полученные другими зарубежными врачами. Так, Феллингер с соавт. (1952, Австрия), для лечения хронического полиартрита применили препарат Аликотан, который вводили внутривенно или с помощью ультразвука. При этом авторы преодолели субъективизм в оценке результатов лечения с помощью электродермографии. Они пришли к выводу, что пчелиный яд у страдающих полиартритом вызывает объективные признаки изменения состояния вегетативной нервной системы, признаки нормализации и выздоровления, которые совпадают с субъективным ощущением улучшения.

Штейнсвальдт с соавт. (1966, Германия) лечили 50 больных ревматоидными артритами, периадритами и эпикондилитами, применяя препарат яда — Форапни. Контролем служили больные, получавшие плацебо. Эффективность лечения составила 86% при 55% для плацебо. У больных отмечалось уменьшение болей, улучшение подвижности суставов, исчезновение отеков. Авторы установили, что у больных, лечившихся глюкокортикоидными гормонами, пчелиный яд может свести до минимума необходимость их применения.

Шкендеров с соавт. (1985) описывают результаты клинической проверки болгарского препарата для инъекций — Меливенона, содержащего пчелиный яд. При лечении 400 больных с признаками субхронического и хронического артрита положительный результат установлен у 75-88% больных.

Из вышеприведенных фактических данных отечественных и зарубежных авторов может показаться, что результаты апитерапии суставных заболеваний не имеют достаточной убедительности ее эффективности. Однако, как полагает Н.М. Артемов (1962), этот вопрос может быть следствием запутанности в классификации и терминологии суставных заболеваний, описываемых разными авторами. По-видимому, наилучшие результаты получаются при хронических артритах, возникающих на почве неспецифической очаговой инфекции, при которых не наблюдается выраженных костных разрастаний и деформирования суставов. В этих случаях применение препаратов пчелиного яда быстро устраняет боль и опухание суставов, приводит к восстановлению функции пораженных частей организма.

Практически не поддаются лечению пчелиным ядом артриты и полиартриты, которые возникают на почве туберкулеза, бруцеллеза, сифилиса или гонореи. С другой стороны, как отмечает Артемов, такое лечение дает положительный результат при инфекционном неспецифическом полиартрите, возникающем на почве очагов инфекции, находящихся в разрушенных зубах, миндалинах, костных пазухах черепа, желчном пузыре и т.д. Применение пчелиного яда, особенно после удаления очага инфекции, приводит к уменьшению и прекращению болей, прохождению воспалительных явлений, восстановлению функции пораженного сустава.

Можно заключить, что положительные результаты получаются при лечении ядом ревматических полиартритов, т.е. заболеваний суставов на почве ревматизма обменных полиартритов.

Из анализа результатов следует, что деформирующие артриты и артрозы меньше поддаются лечению пчелиным ядом. Однако и при этих заболеваниях лечение несомненно полезно, поскольку боль в пораженных суставах уменьшается или исчезает на длительное время, а подвижность суставов несколько улучшается. Даже при болезни Бехтерева в некоторых случаях получают обнадеживающие результаты.

Как справедливо отмечает Артемов, говоря о заболеваниях суставов, необходимо учитывать, что многие из них относятся к коллагенозам. Типичным для этой группы заболеваний является диффузное поражение соединительной ткани с фиброидной ее дегенерацией и вторичным поражением органов. Возникновение коллагенозов может быть вызвано повышенной реактивностью организма, что сближает такие заболевания с аллергическими. Из этого следует, что для лечения подобных заболеваний традиционно ис-

позволяют иммуномодулирующей и противовоспалительные средства, в частности, кортикостероидные гормоны (кортизон и др.). В этой связи лечебный эффект пчелиного яда может быть во многом связан с наличием в его составе компонентов, оказывающих непосредственное десенсибилизирующее и противовоспалительное действие. Как мы указывали выше, МСД-пептид, адолатин и другие минорные пептиды яда на модельных воспалениях вызывают эффект, в 100 раз превосходящий аналогичные для кортизона (Вик с соавт., 1972). Вместе с тем, нарастание уровня гормонов надпочечников после введения пчелиного яда установлено экспериментально. Следует отметить также, что гиалуронидаза яда, разрушая основное вещество соединительной ткани — гиалуроновую кислоту, может существенно влиять на течение коллагенозов. В качестве примера данного утверждения приведем работу Лермита и соавт. (1954), в которой показано успешное применение пчелиного яда при лечении этой группы заболеваний. Из других форм коллагеновых заболеваний можно отметить опыт народной медицины в лечении пчелоужалениями красной волчанки (Ковалев, 1927 и др.), описанные выше.

7.4.3. Заболевания органов дыхания

Данная группа заболеваний (бронхиальная астма, хронические бронхиты и др.) является в последнее время все более распространенной, что связывается с повышенной аллергической агрессивностью окружающей среды. Для лечения таких заболеваний применяют спазмолитические, противогистаминные, гормональные препараты, проводят специфическую десенсибилизацию. Наличие у пчелиного яда некоторых из перечисленных свойств (противовоспалительные, модулирующие эндогенную гормональную регуляцию и др.) предполагает его целесообразное применение в терапии таких заболеваний. Имеющиеся литературные данные подтверждают успешный опыт апитерапии в этой области.

Фишков (1954), Лисун (1958), Войтик (1958), Зайцев и Порядин (1958), Алескер (1959), Горшков (1960), Васильев (1993) и другие применили для лечения бронхиальной астмы пчелоужаления или препараты с пчелиным ядом. Положительный эффект апитерапии был отмечен у 50-70% больных, причем особенно хороший терапевтический эффект был получен у детей. У части больных приступы удушья прекращались на более или менее длительный срок. У других больных наблюдалось заметное улучшение их состояния. Приступы удушья становились редкими, утрачивали затяжной и

тяжелый характер, легче поддавались лечению другими медикаментозными средствами. Алескер (1964), сравнивая лечение бронхиальной астмы известными средствами с апитерапией, показала, что наиболее быстрый лечебный эффект давало применение стероидных и других гормонов, однако закрепить это состояние оказалось невозможным в большинстве случаев. Более того, прекращение гормонального лечения или снижение дозы приводило к повторному возникновению приступов в еще более тяжелой форме. В отличие от этого лечение пчелиным ядом оказало непосредственное благотворное действие на большинство больных. Прекращались приступы или исчезала одышка. Часто терапевтический эффект проявлялся постепенно, но продолжался длительное время после проведенного курса лечения.

Автор указывает, что у многих больных хороший лечебный эффект наступал после проведения одного курса лечения ядом. Некоторым астматикам приходилось проводить от двух до пяти курсов лечения в течение 3-5 лет. Лечение пчелиным ядом было безрезультатным в случае пневмосклероза или хронической пневмонии. Лечебный курс длился 6-8, иногда 10 недель. За курс больной получал 5-6 мг инъекционного аписартрона или 250-5000 пчелоужалений. Местные реакции кожи после введения яда были выражены слабо. Автор рекомендует после проведенного курса лечения пчелиным ядом периодически назначать спазмолитические и антигистаминные препараты.

Погожаев, Трубкина (1987), Лудянский с сотр. (1991) применили пчелиный яд для лечения больных бронхиальной астмой, хроническими бронхитами — астматическим и обструктивным. При этом для терапии хронического обструктивного бронхита авторы использовали пчелоужаления в комплексе с прополисом — внутрь или на кожу, на биологически активные точки.

Для лечения бронхиальной астмы авторы отбирали больных с инфекционно-зависимыми и дисгормональными вариантами лечения, находящихся 10 и более лет на постоянной стероидной терапии. У этих больных лекарственные методы лечения были малоэффективны даже при постоянном увеличении дозы гормонов. Больные с хроническим астматическим бронхитом были взяты после основного курса бронхологической терапии в стадии неполной клинической ремиссии. У больных с хроническим обструктивным бронхитом в клинике заболевания преобладал бронхоспазм и ранее проводились короткие курсы стероидной терапии. Всем больным назначалось клиническое обследование и проводились биоло-

гические пробы с пчелоужалениями. Исследовались показатели пневмотахометрии, анализ крови. После пробных пчелоужалений проводился курс лечения различной длительности: короткие курсы (30-100 пчелоужалений) и длительные (более 100).

Результаты приведены в таблице 8.

Таблица 8

Результаты лечения

Заболевание	К-во больных	Значительное улучшение	Умеренное улучшение	Без эффекта	Непереносимость
Бронхиальная астма	36	26	4	2	4
Астматический бронхит	30	22	4	-	4
Хронический обструктивный бронхит	34	12	12	4	6

Улучшение состояния больных бронхиальной астмой выразилось в уменьшении числа и облегчении приступов удушья, стойком нарастании показателей пневмотахометрии, значительном уменьшении потребности в ингаляторе и дозы гормонов. Более убедительный эффект был получен при длительных курсах апитерапии с медленным наращиванием дозы при одновременном количестве не более 4-5 пчел. При хроническом обструктивном бронхите не отмечено преимуществ длительных курсов апитерапии перед короткими. Авторы отмечают, что более выраженный эффект апитерапии получался в летнее и осеннее время.

Из зарубежного опыта лечения пчелиным ядом органов дыхания укажем работу Разбойникова с соавторами (1969) из Болгарии. Авторы лечили 42 больных с бронхиальной астмой препаратом яда Мелливеоном. До этого больных безуспешно или с временным улучшением лечили неспецифической или специфической десенсибилизацией. Хороший результат был получен у 81% больных. У большинства больных улучшились функциональные показатели дыхания, снизилось содержание гистамина в моче, лейкоцитов в крови и относительное число эозинофилов. Наилучший лечебный эффект был выявлен у больших молодого возраста с экзогенной формой заболевания.

Оценивая безвредность препарата, авторы отметили нормальную работу печени и почек. У двух больных с возникшей аллергической реакцией общего характера эти реакции купировались противоаллергическими препаратами, без прекращения лечения Мелливеоном.

7.4.4. Заболевания системы кровообращения

В последние десятилетия данная группа заболеваний находится под пристальным вниманием медицины и физиологии ввиду ее широкого распространения. Установлено, что эти заболевания становятся основной причиной смертности населения развитых стран. В связи с этим понятна актуальность поиска новых методов и средств для лечения и профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы. Пчелиный яд в виду ряда своих свойств, описанных в предыдущей главе, может быть одним из таких средств.

Гипертония. Расстройство регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы со стороны центральной нервной системы и других систем приводит к стойкому повышению кровяного давления, приводящему к тяжелым последствиям. Практическими врачами в разное время делались попытки использовать гипотензивное свойство пчелиного яда для лечения гипертонии. Многими авторами отмечено терапевтическое действие пчелиного яда и его препаратов на клинические проявления гипертонической болезни как при изолированном их применении, так и при включении в комплексную терапию больных. Фишков (1954), Кавецкий, Лизунова (1957) применяли пчелоужаления. Кононенко (1955-1958) изучал действие инъекционного препарата яда мелиттина на 830 больных и у 709 из них отметил существенное снижение как систолического, так и диастолического артериального давления. По мнению большинства врачей, лечение пчелиным ядом приводит к снижению кровяного давления и улучшению самочувствия больных, особенно в начальной и второй стадии болезни, когда еще не наступили необратимые структурные изменения сосудов и внутренних органов.

В течении гипертонической болезни выделены 3 стадии (степени). Для первой степени характерно ухудшение работоспособности, памяти, нестойкие головные боли и т.д. Во второй степени более характерны гипертонические кризисы, спазмы сосудов головного мозга, мигрень. Эти приступы сопровождаются стойкой головной болью, головокружением, иногда рвотой, ощущением "мушек" в глазах, выпадением некоторых функций нервной системы на непродолжительное время. Третья степень является развитием второй и приводит к необратимым поражениям внутренних органов (инфаркт миокарда, инсульт, геморрагия, гепатит, тромбоэмболия и т.д.). Лудянский (1991) наблюдал более 400 больных, имеющих 1, 2 или 3 степени гипертонии, лечившихся пчелоужалениями. Пчелоужаление проводилось по обычной методике с био-

пробой, нарастанием дозы. Использовались точки акупунктуры, а также мед и маточное молочко. Автором не выявлено параллелизма между стадиями гипертонической болезни (1 и 2) и клиническим результатом апитерапии. Улучшение наблюдалось как у больных со 2 стадией, так и отсутствие эффекта у больных с 1 стадией. Терапевтический эффект характеризовался улучшением общего состояния, приливом бодрости, увеличением работоспособности. У больных стала меньше рассеянность, метеолабильность, исчезла одышка и эпизодические боли в области сердца.

Атеросклероз. Болезнь возникает на почве расстройства обмена веществ, вследствие чего в артериях откладываются жироподобные вещества, уменьшая их просвет. В результате ослабляется снабжение кровью внутренних органов и тканей, что и приводит к необратимым их изменениям. Часто протекает на фоне гипертензии, повышения свертываемости крови и содержания холестерина.

Учитывая, что пчелиный яд не только понижает кровяное давление, но также обладает способностью снижать свертываемость и агрегабельность крови, можно предполагать его успешное применение при лечении больных атеросклерозом. Это подтверждают практические работы Зайцева и Порядина (1958, 1960), Войтик (1958), Виноградовой, Зайцева (1964), Архангельского (1966) и др. Виноградова, Зайцев (1964) лечили 182 больных, страдающих энтертернозом, вводя пчелиный яд в организм инъекционно или электрофорезом. Благоприятный результат лечения, особенно на первой и второй стадиях заболевания, установлен у 75 больных (41%), удовлетворительный — у 106 больных (54%). Из 318 пациентов с атеросклерозом конечностей хорошие результаты лечения установлены только у 58 больных (18%). Комплексное лечение атеросклероза сосудов головного мозга (1 степень церебральной сосудистой патологии) у 108 больных провел Лудянский (1991). Заболевание характеризовалось симптомокомплексом астенизации, сопровождавшимся увеличением уровня холестерина в крови до 270 ± 15 мг%, характерными сдвигами реоэнцефалограммы. Больные были разделены на 2 группы: 35-55 и 60-80 лет. Первая группа характеризовалась ведущей клинической картиной атеросклероза сосудов мозга и сердца, а у больных второй группы присоединялось большое количество заболеваний внутренних органов, опорно-двигательного аппарата и т.п. Пчелиные укусы проводились в точки меридианов, влияющих на деятельность сосудов сердца, тройного обогревателя, печени (1 группа) и учетом приходящих заболеваний позвоночника, кишечника и др. (2 группа). Апитера-

пия больных первой группы дополнялась оксигенотерапией, вторая группа получала дополнительно мед, пыльцу, маточное молочко.

Терапевтический эффект от лечения отмечен в первой группе у 85% больных. Уровень холестерина у них понижился до 210 ± 10 мг%, показатели реоэнцефалограммы приблизились к норме. Катамнестическое наблюдение через 1-3 года показало, что через год у всех лечившихся не отмечалось прогрессирования атеросклероза сосудов головного мозга и сердца, однако через 3 года у 46% больных состояние вновь ухудшалось. В качестве контрольной группы автором наблюдались 20 больных атеросклерозом 1 стадии, лечившихся традиционными лекарственными средствами. В этих случаях терапевтический эффект был достигнут через 1 год только у 16% больных.

Облитерирующий энтертернозит — разновидность атеросклероза, заболевание, при котором поражается внутренняя оболочка артерий, чаще всего нижних конечностей. Кровообращение в ногах резко ухудшается, они зябнут и холодеют, пульс плохо прощупывается. В крайних случаях заболевания просвет артерий может совсем закрыться и начинается омертвление пальцев и стопы, которые приходится ампутировать. Имеются данные, что применение в этих случаях пчелиного яда иногда может давать хороший эффект: снимает боли, улучшает кровоснабжение, приостанавливает процесс. Положительные результаты апитерапии при облитерирующем энтертернозите описывают Гайдар (1955), Порядокин (1960), Зайцев, Архангельский (1956), Починкова (1985), Охотский, Охотская (1988), Лудянский (1991). Под наблюдением последнего находилось 35 больных с атеросклерозом ног 1, 2 и 3-й степеней с жалобами на зябкость в ногах, похолодание дистальных отделов ног, проходящие в них боли, цианотичность стоп, хромоту. Тепловизионное исследование показало разные уровни поражения сосудов ног.

Пчелоужаления производились в точки поясничной области, по ходу крупных сосудов. Количество укусов за один сеанс не превышало 12-15 при курсе 150-200. Введение пчелиного яда сочеталось с медовыми, восковыми, прополисными компрессами, приемом маточного молочка. Автор отмечает несомненное положительное действие апитерапии: уменьшение зябкости и онемения в ногах, ощущения бездеятельности пальцев. Тепловизионный анализ показал выраженную тенденцию к расширению площади с нормальной температурой кожи и зоной инфратермального излучения.

Из других заболеваний сердечно-сосудистой системы, успешно поддающихся лечению пчелиным ядом, следует отметить некоторые заболевания сердца. Укажем, что они часто протекают на фоне гипертонии или атеросклероза, и поэтому терапия заболеваний сердца так или иначе является совместной. Кононенко (1958) при лечении меллисином больных гипертонией и атеросклерозом отмечал, что в процессе лечения купировались не только гипертонические кризы, но и приступы стенокардии. Сальников (1960) при лечении 60 больных стенокардией получил значительное улучшение у 41 больного. Положительный опыт лечения больных стенокардией накоплен Архангельским (1966), Охотским (1972, 1974), Лудяи-ским (1993). Авторы отмечают, что лучшие результаты получают-ся при дополнении пчелоужалений приемом меда и маточного молока. После лечения у пациентов отмечалось улучшение общего состояния, ослабление и исчезновение головных болей, болей в области сердца. Описаны случаи лечения пчелиным ядом нарушений венозного кровообращения (Skursky, 1955) и аритмий сердца (Младенов, Казанджисва, 1965), что подтверждает наши экспериментальные данные об антиангинальном и антиаритмическом свойствах пчелиного яда, описанных выше.

Антиангинальный эффект препарата пчелиного яда Апитокс (сухой, стерилизованный яд, растворимый перед инъекцией в новокаином, воде или физиологическом растворе) описал недавно Гаврилов (1993). В условиях клиники было установлено, что у больных хронической коронарной недостаточностью (атеросклероз аорты и коронарных артерий, атеросклеротический кардиосклероз) с первых же инъекций отмечалось заметное обезболивающее действие препарата и оптимальный терапевтический эффект в течение первых двух суток. У одного больного было значительное стойкое улучшение в течение 2-х месяцев, затем вновь стала появляться кратковременная боль в сердце. Амбулаторно ему был проведен второй курс лечения Апитоксом, после чего наблюдался устойчивый обезболивающий эффект.

Анализируя аналогичные результаты лечения больных стенокардией пчелоужалениями, Skursky (1955) отмечает, что к 14 дню ежедневных сеансов улучшается и нормализуется ЭКГ, повышается сократительная активность сердца и скорость кровотока. При этом не отмечено влияния на кровяное давление и дыхание каких-либо побочных эффектов. Автор предполагает, что указанные эффекты связаны с расширением венечных сосудов и повышением использования кислорода.

Заремба с соавт. (1988) указывают на антиаритмическую эффективность апитерапии у больных пожилого возраста. Проводя лечение 27 больных ишемической болезнью сердца с желудочковой экстрасистолией, мерцанием и трепетанием предсердий, авторы отметили хороший терапевтический эффект у 21 больного после 2 недель — 2 месяцев пчелоужалений. Полностью прекращалась или уменьшалась экстрасистолия и другие виды аритмий. При этом не было отмечено аллергических реакций на апитерапию.

Рассматривая вопрос об апитерапии системы кровообращения, необходимо учитывать чрезвычайно большое многообразие форм заболеваний. В связи с этим, как справедливо указывают Люсов, Зимин (1983), даже при лечении больных гипертонией отсутствие детального описания клинической картины не позволяет сделать определенного вывода: у каких больных пчелиный яд будет эффективным. Кузьмина (1976) считает, что он может быть эффективен при лечении больных гипертонической болезнью только на ранних стадиях заболевания. Другие авторы, напротив, получили хороший эффект при терапии длительной артериальной гипертонии. Архангельский (1966), одним из первых обобщивший литературные данные по применению пчелиного яда при лечении сердечно-сосудистых заболеваний, указывает, что апитерапия дает положительные результаты при гипертонической болезни, стенокардии, миокардиодистрофии, снижая уровень холестерина, триглицеридов, фибриногена, свертываемость крови.

Эффективность апитерапии пчелиным ядом заболеваний сердечно-сосудистой системы подтверждена недавно на современной клинической базе (Окороков, Фомина и др., 1994). Авторы в условиях Рязанского областного клинического кардиологического диспансера на большой выборке больных с разными формами патологии кровообращения, на основании тщательного клинико-инструментального диагностирования, применили курсовое лечение пчелоужалениями. Пчелоужаления (до 100 за курс) наносили в область сердца, межлопаточную область, грудной и поясничный отделы позвоночника, дистальные точки рук и ног.

Показаниями к применению апитерапии ядом больных стабильной стенокардией напряжения являлась недостаточная эффективность традиционной терапии. В результате лечения было выявлено прекращение или уменьшение частоты и интенсивности приступов стенокардии в 30 - 80% случаев, в зависимости от тяжести заболевания (1-3 функциональные группы). Выраженный антиангинальный эффект пчелоужалений, особенно с одновременным

приемом меда или меда с маточным молочком, позволили уменьшить прием антиагинальных средств в 2 раза, а у больных 1 функциональной группы полностью отказаться от них.

Использование пчелиного яда в лечении другой категории больных — циркуляторная энцефалопатия с гипертензией 3 степени сделало возможным у всех больных отменить назначение транквилизаторов, антидепрессантов и дезагрегантов, а также уменьшить дозы гипотензивных препаратов.

Показанием к назначению пчелиного яда в третьей категории больных — экстрасистолия на почве нейроциркуляторной дистонии, вегетодисгормональной миокардиодистрофии и др., было наличие частых экстрасистол (6 и более в минуту) и неэффективность лечения традиционными средствами. В результате лечения пчеложалениями в 80% случаев отмечено успешное купирование аритмий сердца — общее количество экстрасистол уменьшилось на 70% и более.

Авторы делают вывод о высокой эффективности апитерапии пчеложалениями в комплексной терапии больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы различной этиологии, особенно при дополнении апитерапии ядом приемом других продуктов пчеловодства — меда и маточного молочка.

7.4.5. Кожные заболевания

Использование пчелиного яда для лечения кожных заболеваний описано еще Дюреей (1937), Фостером (1949) и др. Применяя пчелиный яд или мази (Форагин и др.), авторы указывают на успешное лечение таких болезней, как экзема, фурункулез, дерматиты, псориаз. В нашей стране Финдичин, Ботвинник (1958), Шарапова, Багнова (1958) применили пчелиный яд при гнездовой и очаговой плешивости, получив положительные результаты. Степанова (1960) лечила пчеложалениями больных с псориазом, экземой и др., у которых другие методы лечения были безрезультатными. Автор указывает, что более эффективным было комплексное лечение с добавлением преднизолона на прополисной мази. Факторович (1976) получила хорошие результаты при сочетании пчеложалений с сероводородными ваннами у больных с экземой и псориазом, подтвержденные отдаленными наблюдениями. Кожухарь (1981) описал успешное лечение пчелиным ядом упорного хронического заболевания кожи — чешуйчатого лишая (псориаз). Пчеложалениями были подвергнуты 18 больных, из которых 11 страдали расчесанной кожной формой, а у 7 были затронуты суставы. У боль-

ных с постоянной формой болезни через 2-3 дня лечения началось обратное развитие кожных изменений, у больных суставной формой — боли в суставах уменьшились, а через 5-7 дней лечения полностью исчезли. Через 5-6 месяцев после лечения клиническое выздоровление сохранялось у 2 пациентов, у 15 кожные изменения носили ограниченный характер, и лишь у 1 больного процесс обострился.

Корсун с соавт. (1988) приводит данные об успешном лечении псориаза электрофоретическим введением Апифора: из 102 больных положительный эффект достигнут у 73 человек.

Развонова (1971) лечила послеоперационные рубцы на руках больных препаратом Апифор. После 15-20 электрофоретических процедур рубцы становились мягкими, подвижными. Сравнивая лечебную мазью группу из 47 больных с контрольной, которой пчелиный яд не вводился, автор установил, что в первой группе функциональные параметры были значительно выше. Особенно хорошие результаты дало лечение относительно свежих рубцов (давность 6-12 месяцев), образующихся после ожогов. Восстанавливалась подвижность тканей, затронутых контрактурой. Алескер (1964), Горшков (1960), Сальников (1960), Песчанский (1969) описывают применение пчелиного яда при лечении язвोजаживающих ран, трофических язв. Ужаления, производимые по периферии раны или язвы, стимулировали их заживление, ускоряли рассасывание воспалительного уплотнения тканей.

7.4.6. Глазные болезни

Несколько неожиданно применение пчелиного яда, притом со значительным эффектом, выявлено в офтальмологии. Н.М. Артемов сообщает, что еще в конце двадцатых годов в Германии врачами с успехом применялся водный раствор пчелиного яда Апикозан для лечения острых и хронических случаев ревматического ирита и неврита зрительного нерва. Эффективным оказалось применение яда для лечения трахомы и заболевания роговицы глаза, в связи с чем даже выпускался специальный препарат для лечения трахомы — Трахоцид, имеющий в составе пчелиный и змеиный яды.

Fontana (1941) наблюдал действие субконъюнктивальных инъекций Форагина и Трахоцида при различных глазных заболеваниях. Он подтвердил вышеупомянутые данные о благоприятном действии пчелиного яда при трахоматозном паннусе (поверхностное воспаление с помутнением роговицы). В случаях, если роговица не была повреждена, лечение было неэффективным. Успешно зажив-

дядясь язвы роговицы, лучше при иритах и иридоциклитах, хуже — при кератитах. Автором отмечено улучшение в случаях острой воспалительной и геморрагической глаукомы, и неэффективность при хронической и вторичной глаукоме. Mouch (1948) описал 15-летние наблюдения положительного действия препаратов пчелиного яда при герпетических заболеваниях роговицы. В нашей стране Шерешевская (1949) успешно применяла пчелиный яд для лечения иритов, вводя яд путем естественных ужалений в веки большого глаза (до 6 пчеложалений за один сеанс). Автором показано, что при тяжелых ревматических иритах и иридоциклитах с резкими болями, помутнением сред и падением зрения до 0,001 применение яда приводило к снижению воспалительных явлений и полному выздоровлению через 3-4 дня с восстановлением нормальной остроты зрения. Максименко (1960, 1964) применил пчелиный яд в виде препаратов Аписартрон и Мелиссин при лечении герпетических заболеваний роговой оболочки, инъецируя препараты под конъюнктиву глаза с последующим закапыванием в конъюнктивальный мешок препаратов, а позднее меда. В результате у больных проходили боли, прекращались воспалительные явления, и у части — повышалась острота зрения.

7.4.7. Заболевания центральной нервной системы

При функциональных заболеваниях ЦНС в некоторых случаях с успехом применялся как нативный пчелиный яд, так и его препараты (Фишков, 1954, Тарская, 1959, Прейсман с соавт., 1960, Партхинеу, 1965, Крупник, 1970, Лудянский с соавт., 1977-1991). Отмечается, что особенно ярко эффект пчелиного яда проявляется при климактерических и некоторых других формах неврозов. Христя (1983) лечил неврологические осложнения малярии в виде энцефалитов и арахноидитов и отмечал эффективность пчелиного яда, уменьшающего интенсивность парезов. Песчанский (1962) показал, что пчелиный яд оказывает лечебное действие при гемиплегии после инсульта, а также при остаточных явлениях после полиомиелита. Лудянский (1991) приводит результаты обширных наблюдений лечения пчелиным ядом в комплексе с другими продуктами пчеловодства больных арахноидитами, дисэнцефальным, нейросоматическим и нейроэндокринным синдромом, гидроцефалией, рассеянным склерозом, сирингомиелией. По мнению авторов и достигнутым ими результатам, можно сделать вывод, что наиболее эффективно поддаются апитерапии болезни, которые формируются расстройством нейро-эндокринно-гуморальной регуляции.

Заключая обзор клинических данных о лечебном применении пчелиного яда, отметим также пока единичные работы об эффективности апитерапии при других заболеваниях человека.

Некоторые *эндокринные заболевания* могут поддаваться лечению препаратами пчелиного яда. На это указывают Зайцев, Порядин (1958), Шмелева (1958), на примере лечения тиреотоксикоза, Партхинеу (1965), совместивший апитерапию с курсом лечения трифодтиронином и получивший положительные результаты при лечении гипертрофии щитовидной железы.

Владимирова (1959) применила препарат КФ для лечения *язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки* у 32 больных и спяла болевой синдром у 20 больных после 6-8 инъекций. Перцуленко (1961) на основании практического опыта указывает на целесообразность пчеложалений при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Киричек (1962) в диссертационной работе показал, что пчелиный яд ослабляет скорость эвакуации содержимого желудка и снижает кислотность желудочного сока. По наблюдениям Лудянского (1989), пчелиный яд эффективен при *желчнокаменной болезни*. Автор применил пчеложаления (4-5 на сеанс через день, 60 ужалений на курс) и показал, что при этом разрушаются камни величиной до 1 см в диаметре и переводятся в более мелкую дисперсию с последующим выведением.

В *акушерско-гинекологической практике* пчелиный яд был применен Прейсман с соавт. (1960). Авторы отметили положительный эффект от применения препарата яда КФ при воспалительных процессах придатков матки, причем лучшие результаты были получены при экссудативных формах, чем при инфильтративных. Авторы указывают, что введение препарата не давало эффекта при аменореех и климактерических кровотечениях, но было эффективно при климактерических неврозах и рвоте беременных. Кононенко (1958) приводит данные о применении мелиссина для обезболивания и усиления родовой деятельности при слабых родовых потугах. Парамонов, Баляев (1962) сообщают об эффективности применения пчелиного яда при лечении трихомонадного кольпита. Ляпенко (1971) лечил 700 больных воспалительными гинекологическими заболеваниями аписартроном, инъецируя его в зоны Захарьина-Геда. Клиническое выздоровление и значительное улучшение было получено у 89% больных. Автор отмечает, что лечение оказалось неэффективным при гнойных и бластоматозных опухолях придатков матки. К аналогичным выводам об эффективности

апитерапии методом пчелоужаления 1-10 пчел на сеанс в поясничную область, наружную поверхность бедер, голеней (сань-инь-цзяо и фу-лю) пришел Лудянский (1991), проведя лечение больных с острым течением и при остаточных явлениях воспаления женских половых органов.

На возможность применения пчелиного яда при различных заболеваниях уха мы уже указывали, рассматривая действие препаратов яда (Карнеев, 1972). Кроме этого, об эффективности апитерапии при этих заболеваниях можно найти у Архангельского (1960, 1964), Дорошенко (1976), Хисматуллиной и др. (1993), описавших лечение больных невритом слухового нерва, отосклерозом, катаральным и адгезивным отитом. В результате лечения тормозилось развитие болезни, уменьшались или полностью исчезали шумы в ушах, восстанавливался слух. Об успешном лечении больных с синдромом Меньера сообщают Антонов, Болдина (1958), Качный (1977). После сеансов апитерапии у больных отмечалось значительное улучшение: уменьшение или полное исчезновение шума в ушах, исчезновение приступов.

Эффективность комплексной апитерапии в лечении больных с невритом слухового нерва подтверждена недавно Хисматуллиной с соавт. (1993). Авторы на базе Пермского сурдологического центра наряду с пчелоужалениями практиковали одновременный прием меда, апилака в таблетках и свечах, спиртового раствора прополиса.

Пчелоужаления проводились в биологически активные точки по 4 меридианам: толстого и тонкого кишечника, желчного пузыря и тройного обогрвателя. Использовали также общеукрепляющие точки. Курс составлял 9-13 сеансов, по 2-6 ужалений в каждом. Важно отметить, что во время проведения курса апитерапии никакого другого медикаментозного лечения не назначалось.

В результате проведенного лечения 80% пациентов, наряду с улучшением общего состояния, отмечали уменьшение или исчезновение шума и улучшение слуха. 18% больных отмечали незначительные изменения, и у 2% пациентов лечение не дало результатов. Из 136 пролеченных больных за повторным лечением обратилось 44 человека. Анализ аудиограммы показал, что после апитерапии улучшалась как костная, так и воздушная проводимость.

Учитывая общепризнанную высокую эффективность лечения неврита слухового нерва — тяжелого и неуклонно прогрессирующего заболевания методами традиционной медицины, авторы делают заключение о высоком терапевтическом эффекте апитерапии

пчелоужалением в биологически активные точки в сочетании с применением других продуктов пчеловодства. При этом апитерапия приводит не только к остановке прогрессирующего ухудшения слуха, но и к его улучшению.

Практически нет обнадеживающих данных о лечении пчелиным ядом злокачественных опухолей. Отдельные попытки такого лечения, увы, оказались безрезультатными (Лобачев с соавт. 1958). Вместе с тем следует отметить хороший терапевтический эффект апитерапии пчелиным ядом при диффузных мастопатиях, которые представляют собой предопухолевые заболевания молочных желез (Бахтин, 1993). Автор указывает, что как местное, так и общее действие пчелиного яда уменьшало болевой синдром, оказывало благотворное влияние на общее состояние больных, повышало их работоспособность.

Лудянский (1994) также отметил увеличение продолжительности жизни больных с лучевым миелитом, развившемся после облучения по поводу лимфогранулематоза. Автор проводил комплексное лечение пчелоужалениями с применением меда и пыльцы.

7.5. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ АПИТЕРАПИИ

Из приведенного обзора данных по клиническому применению пчелиного яда может создаваться впечатление о его всесторонней эффективности. Однако считать апитерапию панацеей от всех болезней, наверное, будет ошибочным. Более того, и те заболевания, которые поддаются лечению пчелиным ядом, также дифференцируются по степени тяжести, времени возникновения и длительности и т.д. Видимо, более целесообразно заключить, что эффект апитерапии так же индивидуален, как и при воздействии других лекарств. Многое зависит от больного. Но и в этом случае у пчелиного яда много преимуществ перед рядом известных, применяемых сегодня средств. Наиболее важным является его естественность, создающая своеобразный, эволюционно подготовленный настрой систем организма к встрече с компонентами яда.

Вышеприведенные примеры применения пчелиного яда с лечебной целью позволяют выделить основные направления его терапевтического действия. Прежде всего при использовании яда отчетливо и сильно выражено его анальгетическое, болеутоляющее действие. В меньшей степени, но также сильно проявляется его противовоспалительная активность. Она наступает медленнее, чем действие гормональных и аспириноподобных препаратов, но более устойчива во времени.

Всеми отмечается тонизирующее действие пчелиного яда на организм при лечении больных. Во многих случаях пчелиный яд оказался единственным средством, приводящим к выздоровлению, в то время, как применение известных лекарственных средств оказывалось безрезультатным.

Менее эффективен яд в тяжелых случаях заболеваний. Как показывает Шкендеров, Василев (1985), рентгенография ревматоидных артритов и деформирующих остеоартрозов всегда оставалась без изменений, несмотря на то, что после лечения пчелиным ядом клинические признаки болезни улучшались или даже исчезали.

Из результатов лечения следует, что использование нарастающих доз яда более эффективно, чем применение обычных дозировок. При длительном применении пчелиного яда не отмечено случаев интоксикаций и появления побочных реакций. Так, Бентон (1971), проведя специальный анализ физиологических реакций нормальных людей на пчелиный яд, показал, что в возрасте от 12 лет инъекции яда два раза в неделю в течение 4,5 месяцев не приводят к патологическим отклонениям картины крови (кальций сыворотки, общее число лейкоцитов, лимфоцитов, эозинофилов, сегментных клеток, оксалат глиоаминовой кислоты), мочи (рН, удельный вес), уровня кортизола, а также психического состояния. В то же время из обзора наблюдений следует, что при проведении лечебных курсов инъекций пчелиного яда 3-15% больных реагируют с появлением общей или местной аллергической реакции. При появлении таких реакций либо вначале, при биологической пробе, либо в процессе лечения врачи поступают различно: одни прекращают лечение пчелиным ядом, другие снимают аллергию медикаментозными средствами и продолжают апитерапию.

Большинством исследователей и практических врачей признается, что терапевтический эффект пчелиного яда при различных по происхождению заболеваниях в первую очередь обусловлен активацией функции гипофизарно-надпочечниковой системы. Известно, что при коллагенозах, аллергических и других заболеваниях терапевтический эффект дают кортикостероиды, АКТГ и средства, способные стимулировать, подобно пчелиному яду, гипофизарно-надпочечниковую систему (салцилаты, "неспецифическая терапия раздражения" и т.д.). Показано также, что пчелиный яд может дать положительный эффект только в тех случаях, когда гипофизарно-надпочечниковая система не истощена и способна реагировать на введение яда и если ткани сохраняют чувствительность к гормонам коры надпочечников.

Однако было бы неправильным, как указывает Н.М. Артемов, одним из первых предложивший вышеописанную гипотезу активации пчелиным ядом системы гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников, ставить знак равенства между лечением гормонами и пчелиным ядом. Применение гормонов, хотя и дает быстрое и сильное лечебное действие, но оно кратковременно и сопровождается истощением соответствующих желез. Напротив, пчелиный яд, стимулируя железы в соответствии с возможностями индивидуального организма, приводит их в деятельное состояние на продолжительное время. Давно известны неблагоприятные побочные последствия, вызванные применением глюкокортикоидных препаратов: например АКТГ, широко используемый стимулятор коры надпочечников, при хронических и аллергических заболеваниях снижает гипофизарно-надпочечниковую активность, угнетая секрецию гипофиза (Шкендеров, Василев, 1985). Как отмечают авторы, активация пчелиным ядом гормональной системы имеет преимущество в том, что она осуществляется путем активирования самых верхних "этажей" гипофизарно-надпочечниковой системы. В результате происходит перестройка реактивности организма, активируются его защитные силы. При этом секреция гормонов является лишь одним из звеньев сложной цепи приспособительных и защитных реакций организма в ответ на действие яда как естественного раздражителя.

Здесь уместно отметить, что кажущееся сходство лечения пчелиным ядом с неспецифической терапией раздражением — протсинотерапией признано несостоятельным в сравнительных испытаниях. При проведении сравнения эффективности Апигозана с протсинотерапией на 500 больных полиартритами, миалгиями и невралгиями оказалось, что ничтожные дозы яда давали лучший терапевтический эффект, чем различные дозы чужеродного белка, вызывающие резкие побочные реакции.

Оценивая терапевтическую эффективность пчелиного яда при лечении многих 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 противовоспалительного действия, как пчелиный яд.

палительных 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, приведенных в предыдущих главах, следует, что такие вещества как мелиттин, МСД-пептид, апамици, адолапин и другие, противовоспалительные свойства которых доказаны экспериментально, вполне подходят для создания такого "коктейля", каким представляется пчелиный яд. Шкендеров, Василев (1985), полагают, что терапевтические свойства яда можно усилить, исключив из него лишь высокомолекулярные белки типа фосфолипазы и гиалуронидазы, а для самих пептидов подобрать подходящие количественные соотношения. Авторы предложили препарат, содержащий комбинацию из пяти пептидов пчелиного яда, из которого удалены высокомолекулярные белки, что снизило до минимума его аллергические свойства при сохранении противовоспалительных.

До сих пор остаются проблемными механизмы выступающего на первый план при лечении пчелиным ядом его анальгетические свойства. Как было указано в главе 3, обезболивающий эффект, наступающий после курсов апитерапии, может быть частично объяснен возможной инактивацией эндогенных агентов боли (гистамин, серотонин, простагландин и др.), образующихся в местах тканевых повреждений. С другой стороны, это может быть ускорено снятием воспалительной реакции по схеме, предложенной выше. И, наконец, недавно было выявлено, что пчелиный яд вызывает обезболивающий эффект экспериментальных животных путем модуляции центральных опиоидергических механизмов, ответственных за боль (Парин, 1986). Вместе с тем сюда же следует отнести и катехоламинергические механизмы, лимитирующие болевые эффекты и адаптирующие организм к стрессовым воздействиям, т.е. механизмы, запускающиеся активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, о чем мы говорили выше.

Разумеется, для объяснения терапевтических эффектов апитерапии пчелиным ядом нельзя не отметить экспериментально установленные свойства пчелиного яда снижать кровяное давление, увеличивать время свертывания крови, его антиагинальное, антиаритмическое, гемостимулирующее, радиозащитное и т.д. действие. Все указанные свойства, проявляющиеся как на целостном организме, так и на изолированных органах и тканях, могут быть следствием как общей реакции адаптации на воздействие пчелиного яда как

стресс-агента, так и непосредственного влияния компонентов яда на те или иные функции и структуры органов и тканей.

Оценка апитерапевтического воздействия экспресс-методом

Одной из проблем апитерапии является объективизация оценки воздействия на организм пчелиного яда. Обычно оценивается общее состояние больного в процессе лечения, иногда дополняемое данными биохимических и морфологических изменений крови. Однако названные методы или трудосмки, или не отражают в достаточной мере эффективность апитерапии.

Принимая во внимание, что повышение неспецифической резистентности организма человека под влиянием пчелиного яда, как правило, сопровождается потерей чувствительности кожи в месте аппликации или введения яда, мы предложили проводить оценку эффективности апитерапии по тесту болевой нагрузки. Для этого разработано устройство, обеспечивающее точечный источник теплового излучения, наносимого на кожу и нагревающего ее участок диаметром 0,5-3 мм. Малая область нагрева кожи создает первичное ощущение тепла, переходящее в ощущение укола с болевой реакцией. Линейное нарастание болезненности ощущения позволяет измерять интервалы времени для оценки эффекта обезболивания при обработке кожи или подкожных тканей пчелиным ядом.

Эксперименты на крысах показали, что по тесту отведения хвоста на болевое раздражение одномоментное введение (внутрибрюшинно, терапевтическая доза) пчелиного яда снижало болевую чувствительность через 15 минут после введения. При этом потеря чувствительности составила 50-80% в месте инъекции и 35-40% — в интактном участке кожи.

Клиническое изучение — обработка кожи предплечья людей мазью Унгапивен — позволило оценить, что после курсового применения (7 дней) потеря болевой чувствительности продолжалась 3-4 дня после окончания курса. Чувствительность при этом снижалась в 2 раза.

Анализ литературных и собственных данных показывает, что потеря болевой чувствительности кожи в целом и в месте обработки ядом совпадает по времени и интенсивности с изменениями многих биохимических и электрофизиологических параметров организма на воздействие яда. Таким образом, предлагаемый экспресс-метод позволяет объективно оценить эффективность проводимой апитерапии.

Как указывалось выше, 1-2 и даже одновременно 10-20 ужалений переносятся здоровым человеком без серьезных последствий, вызывая лишь местную реакцию в виде покраснения и отека в месте ужаления, а также болевой эффект. Специальные исследования (Бентон, 1971) показали, что инъцирование людям малых доз яда два раза в неделю в течение 4,5 месяцев, на протяжении курса и в отдаленные сроки не приводили к отклонениям от нормы таких показателей, как количество кальция сыворотки, лейкоцитарной формулы, оксалата глутаминовой трансминазы, рН мочи, уровня кортизола и др.

Однако при массивном ужалении десятками пчел (что практикуется апитерапевтами) возникают общие реакции организма. При этом могут возникнуть токсические эффекты. Еще более тяжелые случаи возникают при ужалении или лечении людей (даже от 1-2 пчел), обладающих повышенной чувствительностью (сверхчувствительностью) к пчелиному яду. В мире примерно 3-4% людей, подвергавшихся пчелиным ужалениям, имели, а, значит, и имеют эту повышенную чувствительность. Картина отравления, развивающаяся у таких людей, представляет собой типичный анафилактический шок. Этот вид шока опасен тем, что может привести к смертельному исходу в течение нескольких минут при ужалении даже одной пчелой. В связи с чрезвычайной опасностью такой ситуации рассмотрим ее более подробно.

В начале нашего века ученые при исследовании токсического действия ядов некоторых животных обнаружили, что часть подопытных собак не погибла от введения этих токсинов. Через несколько дней после полного исчезновения яда из организма этим собакам повторно был введен яд. Было обнаружено удивительное явление — собаки в течение нескольких минут погибли от введения даже небольших доз яда, существенно меньших тех доз, которые вводились первоначально. Это явление было названо анафилаксией — отсутствием защиты. В дальнейшем было показано, что анафилаксия может развиваться и при действии многих других веществ. Выживание собак после первого введения яда объясняется высокой устойчивостью их организма к яду, а быстрая смерть от повторного введения малых количеств токсина — тем, что первое введение резко повысило чувствительность организма к яду (произошла сенсibilизация организма).

Вышеуказанное тяжелое состояние организма было названо анафилактическим шоком потому, что имеет много общего с течением шока. Происходит внезапное возбуждение с последующим угнетением центральной и вегетативной нервной системы, всех функций организма. Артериальное давление быстро падает, резко нарушается сердечная деятельность и дыхание, развивается спазм гладкой мускулатуры бронхов, появляются сильные судороги и асфиксия. При анафилактическом шоке происходит повышение чувствительности кожных рецепторов, что связано с высвобождением в большом количестве гистамина из тканей организма. Поэтому появляется чувство покалывания, зуд. Это первые признаки начинающегося процесса. Развивается беспокойство, повышенная возбудимость, стеснение в груди, боли в области сердца, тошнота, рвота, судороги, непроизвольное выделение мочи и кала. Лицо сначала сильно краснеет, потом бледнеет, развивается одышка, затрудняется дыхание. Пульс слабый, учащается, появляется посинение тканей из-за недостаточности кровообращения и дыхания. Все указанные признаки отчетливо проявляются при тяжелом анафилактическом шоке, который при отсутствии необходимой помощи часто заканчивается внезапной остановкой дыхания и смертью.

С целью предупреждения возможности возникновения вышеописанной ситуации при апитерапии ядом, работе с пчелами, рекомендуется производить тщательный отбор лиц для лечения, или получения пчелиного яда. Для выявления людей с повышенной чувствительностью к яду производится первоначальный опрос с выяснением: когда в последний раз жалела пчела и какова была реакция организма. Далее рекомендуется произвести пробу с ужалением отобранного лица одной пчелой. При наличии любого из вышеописанных признаков, отличающихся от нормальной реакции, данное лицо к лечению или работе с пчелиным ядом не допускается.

Еще сложнее учесть реакции организма на яд, которые накапливаются с годами. Особенно опасно, когда приобретает аллергическая реакция на яд. В нашей лаборатории работает сотрудник, который в течение 10 лет выезжал на пасеки и без видимых последствий подвергался ужалениям и вдыханию частиц яда при сборе. Однако после того, как он подвергся массивному ужалению (раскрылся улей при транспортировке) и в кисти рук было получено более 100 ужалений, возникла общая реакция на яд (головокружение, слабый пульс, слювация, диарея, отек и т.д.), которая прошла через 2 дня, но не исчезла бесследно для организма. На следующее

лето сотруди́к был ужален всего двумя пчелами — в руку и шею, после чего в течение 10 минут возникла мощная аллергическая реакция — с падением давления и затруднением дыхания. От анафилактического шока сотруди́ка спасло только то, что в следующие 15 минут он был доставлен в поликлинику, где ему была оказана необходимая помощь.

В случае возникновения явлений отравления, тем более признаков анафилаксии, требуется безотлагательно начинать лечебные мероприятия. В более легких случаях внутримышечно вводят 0,5-1 мл 0,1% раствора адреналина-гидрохлорида. В более тяжелых случаях вводят также внутримышечно преднизолон (0,5-1 мг/кг массы тела), дексаметазон (4-20 мг) или гидрокортизон (125-250 мг). Одновременно вводят раствор антигистаминного препарата: димедрол (5 мл 1% раствора), или супрастин (2 мл 2% раствора), или пипольфен (3 мл 2,5% раствора). Показан также эуфиллин (5-10 мл 2,4% раствор) или дипрофилин (5-10 мл 2,5% раствора).

Адреналин лучше вводить в область укуса: обколоть это место 0,1% раствором адреналина, разведенным в 10 раз изотоническим раствором натрия хлорида. Это уменьшит распространение яда в организм. Если ужаление произошло в конечность, на нее выше места укуса следует наложить жгут на 2-3 часа. При неэффективности такого лечения применяемые препараты необходимо вводить внутривенно капельно. Разумеется, это лучше производить врачу. Вообще, по мере возможности пострадавшего необходимо немедленно доставить в стационар, так как в тяжелых случаях необходимо более интенсивное и продолжительное лечение.

В остальных случаях, при нормальной реакции на яд, следует как можно быстрее выщипать жало из кожи, соблюдая элементарные правила гигиены, чтобы не внести в кожную ранку инфекцию. Смазать место укуса одеколоном, спиртом, рекомендуется специальная мазь — на основе календулы, спирта и вазелина. Хорошо зарекомендовала себя, в частности, для уменьшения болевого эффекта, вьетнамская мазь-бальзам "Звезда". Для улучшения общего состояния рекомендуется горячий медовый чай, общее тепло.

В качестве примера выбора тактики лечения осложнений во время апитерапии пчелужалениями приведем наблюдения Охотского и Охотской (1971). При лечении пчелужалениями 398 больных у 45 из них авторы наблюдали проявления непереносимости к пчелиному яду. У 3-х человек возник анафилактический шок при проведении биологических проб. Через 20-30 минут появлялась сухость во рту, заторможенность речи из-за набухания языка и сли-

зистой полости рта, головная боль, неприятные ощущения за грудной клеткой, нарастающее удушье, учащение сердцебиений, боли в области сердца, отечность лица и шеи. Общее состояние возбужденное. Назначалось комплексное лечение: иптерский кордиамина, димедрола, промедола, внутривенно 10-процентный раствор хлористого кальция, валидол, нитроглицерин, грелки к ногам и рукам, затем горячее питье и покой. Через 2-3 часа удалось вывести больных из шокового состояния.

У 13 больных через 6-8 часов после укуса температура тела повысилась до 39°C и сопровождалась ознобом. Симптомы снижались к утру следующего дня после аспирина, димедрола и пипольфена. У 18 человек реакция проявлялась в виде разлитой красноты и отечности на месте укуса. Местно применялись компрессы из настойки календулы, сомоке и внутрь — димедрол и уротропин. У 5 больных наблюдалась крапивница, которая проходила после внутривенного введения 10% раствора хлористого кальция и принятия внутрь димедрола и уротропина. Еще у 5 больных аллергия проявлялась в виде общей слабости, отечности губ и лица, нервного возбуждения, непереносимости боли от укуса.

Авторы указывают, что выбор апитерапии должен проводиться не только с учетом индивидуальной реактивности организма к пчелиному яду, но и с учетом аллергического анамнеза больных (реакции на укусы в прошлом, сывороточное лечение, реакции на антибиотики, непереносимость к отдельным пищевым продуктам и т.д.).

Еще раз укажем, что пчелиный яд противопоказан при ряде заболеваний. И в старых инструкциях по применению яда, и в инструкциях по разработанным нами и разрешенным сегодня к применению лекарственным средствам с пчелиным ядом "Апифор" и "Унгипивен", указываются конкретные противопоказания по применению. Однако больные часто пренебрегают ими. К чему это может привести, показывает следующий пример.

В нашей лаборатории при исследовании механизмов иммуномодулирующего действия пчелиного яда недавно был проведен следующий опыт (данные асс. Л.В. Ошевского). Двум группам лабораторных крыс закапали в глаза культуру патогенного микроорганизма — золотистого стафилококка. Одной из групп перед этим в течение недели внутривенно вводили обычную терапевтическую дозу пчелиного яда. Начальная реакция на инфицирование у обеих групп была одинаковой: глаза воспалялись, гноились и закрывались — развивался типичный инфекционный

кошляноктивит. У контрольной группы животных (которым пчелиный яд не вводился) выздоровление — открытие глаз происходило на 2-3-й день после закапывания культуры стафилококка. У животных, которым перед инфицированием вводился пчелиный яд, выздоровление происходило лишь на 6-7 день. То есть пчелиный яд не ускорил, а, наоборот, удлинил период выздоровления животных от инфекции. Подобные результаты не являются неожиданными, так как еще в 1970 году в нашей же лаборатории было показано (Нестерова, Солодухо), что пчелиный яд утяжеляет течение инфекционного процесса при заражении животных протеом — другим патогенным микроорганизмом: снижалась фагоцитарная активность крови, выработка противомикробного фермента лизоцима и т.д.

Из приведенных данных видно, насколько веские основания считать противопоказаниями для апитерапии идущие в организме тяжелые инфекционные процессы. Этому есть и теоретические предпосылки. Как указано выше, при попадании пчелиного яда в организм человека и животных происходит активация гипофизарно-надпочечниковой системы с выбросом в кровь кортикостероидов. Например, Бруке с соавт. (1971) указывают, что уровень кортизола в крови обезьян значительно повышается через 1-3 часа после введения яда и держится повышенным 3-4 суток. С другой стороны, из клинической фармакологии известно, что лечение кортикостероидами существенно угнетает иммунные реакции организма и может провоцировать развитие инфекционных заболеваний. Поэтому при воспалительных процессах кортикостероиды применяют одновременно с антибактериальными препаратами. Несомненно, эти закономерности должны учитываться при апитерапии.

8. ПРИМЕНЕНИЕ ПЧЕЛИНОГО ЯДА ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Избирательная активность, выработанная пчелами в ходе многовековой эволюции для эффективной защиты, соответственно, совершенная в направлении избирательного поражения наиболее важных интегрирующих систем организма (нервная, сердечно-сосудистая, кровь), позволяет рассматривать пчелиный яд не только как отравляющую или лечебную, но и как высокоспецифическую физиологически активную композицию, которую можно использовать для решения многих задач биологии и медицины.

Выделение и очистка ингредиентов пчелиного яда позволили значительно расширить спектр их практического использования в качестве инструментов биологических исследований. Сегодня пептиды яда можно не без оснований рассматривать в ряду таких излюбленных инструментов мембранологов и молекулярных биологов, каким является получаемый из рыбы Фугу тетродотоксин — специфический блокатор натриевых каналов мембран клеток. Подтверждением этому является использование мелиттина, специфически встраивающегося в мембрану, для изучения физико-химических свойств мембран клеток (Ксендзек, Гелов, 1984; Демченко, Костржевская, 1986; Ientsck, 1978 и др.). Важно отметить, что мелиттин, как сильнейший гемолитик, отличается от других известных литических веществ, используемых для разрушения мембран клеток (лизолецитин, детергенты и др.). В небольших концентрациях он не вызывает растворения мембран полностью: в клетках образуются поры, через которые высвобождается содержимое клеток (вплоть до гемоглобина), а мембраны сохраняют целостность. То есть, мелиттин может быть использован при необходимости разрушения внутриклеточных органелл (лизосом, митохондрий и т.п.) при сохранении целостности (тени) мембраны клетки.

Важные результаты были получены с использованием мелиттина при анализе эндотелий-зависимых сосудистых реакций (Busse et

8. ПРИМЕНЕНИЕ ПЧЕЛИНОГО ЯДА ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Избирательная активность, выработанная пчелами в ходе многовековой эволюции для эффективной защиты, соответственно, совершенная в направлении избирательного поражения наиболее важных интегрирующих систем организма (нервная, сердечно-сосудистая, кровь), позволяет рассматривать пчелиный яд не только как отравляющую или лечебную, но и как высокоспецифическую физиологически активную композицию, которую можно использовать для решения многих задач биологии и медицины.

Выделение и очистка ингредиентов пчелиного яда позволили значительно расширить спектр их практического использования в качестве инструментов биологических исследований. Сегодня пептиды яда можно не без оснований рассматривать в ряду таких излюбленных инструментов мембранологов и молекулярных биологов, каким является получаемый из рыбы Фугу тетродотоксин — специфический блокатор натриевых каналов мембран клеток. Подтверждением этому является использование мелиттина, специфически встраивающегося в мембрану, для изучения физико-химических свойств мембран клеток (Ксенджек, Гедов, 1984; Демченко, Костржевская, 1986; Ientsck, 1978 и др.). Важно отметить, что мелиттин, как сильнейший гемолитик, отличается от других известных литических веществ, использующихся для разрушения мембран клеток (лизолецитин, детергенты и др.). В небольших концентрациях он не вызывает растворения мембран полностью: в клетках образуются поры, через которые высвобождается содержимое клеток (вплоть до гемоглобина), а мембраны сохраняют целостность. То есть, мелиттин может быть использован при необходимости разрушения внутриклеточных органелл (лизосом, митохондрий и т.п.) при сохранении целостности (тени) мембраны клетки.

Важные результаты были получены с использованием мелиттина при анализе эндотелий-зависимых сосудистых реакций (Busse et

al., 1985). Авторы полагают, что мелиттин, взаимодействуя с мембраной сосудистого эндотелия, формирует проницаемые для ионов каналы и способствует выделению из клеток эндотелия специфического фактора расслабления мышечной стенки сосудов.

После того, как в 1958 году было обнаружено существование в мембранах клеток кальцийзависимых калиевых каналов, последние стали интенсивно изучаться с помощью другого пептида пчелиного яда — апамина, который оказался специфическим блокатором этих каналов (Байдап, Жолос, 1988; Hugues et al., 1982; Romey et al., 1984). О перспективах использования апамина для изучения регуляции деятельности нейронов свидетельствует обнаружение в мозге млекопитающих апаминоподобного фактора (Fosset et al., 1984), конкурирующего с апамином за места связывания на синапсоммах мозга и взаимодействующего с антагонистами к апамину. Здесь уместно привести аналогично с алкалоидом растений морфином: после того, как было обнаружено, что в мозге имеются морфиноподобные вещества и соответствующие рецепторы клеток к ним, появился целый вес исследований, приведший к открытию регуляторных пептидов организма человека.

С целью использования в биохимических исследованиях выпускаются коммерческие препараты фосфолипазы пчелиного яда. Считается, что фосфолипаза A_2 из пчелиного яда является самой активной из фосфолипаз этой группы: она намного активнее аналогичных фосфолипаз из змеиных ядов, превосходит активность фосфолипазы A_2 из кишечника человека (Nabermann, 1980).

Обсуждая вопросы использования пчелиного яда как инструмента для биологических исследований, нельзя не привести воспоминания Н.М. Артемова, чьи работы, начиная с 1939 года, привели к созданию Нижегородской школы зоотоксикологии и тому, что Россия находится сегодня в лидирующей группе стран, развивающих апитерапию и изучение пчелопродуктов. Еще будучи аспирантом МГУ, Николай Михайлович получил задание от своего научного руководителя академика Кошгольца найти вещество, дезинтегрирующее взаимодействия между клетками на уровне межклеточных контактов — синапсов. И такое вещество было найдено — среди многих других наиболее удобным (активным, доступным и т.д.) и оказался пчелиный яд. Таким образом, можно сказать, что уже полвека пчелиный яд исправно служит биологической науке, как надежный, но еще не полностью освоенный инструмент.

Другой стороной использования пчелиного яда для научных исследований является его применение для моделирования различных физиологических и патофизиологических процессов в организме. Укажем, что создание адекватных патологических моделей, воспроизводящих те или иные заболевания в эксперименте, являются актуальной проблемой теоретической и практической фармакологии и медицины. Любое новое лекарство, метод лечения и т.п., прежде, чем попасть в аптеки, клиники, должно быть испытано на соответствующих патологических моделях. В этом плане токсические свойства яда и его компонентов, имеющие определенные мишени в организме, можно использовать по "прямому" назначению. Например, при поиске средств, защищающих эритроциты от разрушения, можно использовать фосфолипазу яда, способную вызывать "прямой" и "непрямой" гемолиз эритроцитов.

Потенциальные коронарорасширяющие, т.е. расширяющие венечные сосуды сердца лекарства, испытывают на моделях сужения этих сосудов. В соответствии с этим нами разработан способ моделирования спазма сосудов изолированного сердца с использованием пчелиного яда (Орлов, Крылов, 1980). Было установлено, что воспроизведение констрикции коронарных сосудов ядом или мелиттином в определенных условиях не опосредовано через альфа-адренорецепторы, но частично нейтрализуется спазмолитиком миотропного действия папаверином. Указанная модель легко воспроизводима и регулируема. Степень коронарконстрикции определяется количеством добавляемого в проходящий через сосуды сердца раствор яда или мелиттина.

С целью модельного воспроизведения в организме ситуации, при которой резко активизируется процесс эритропоэза, т.е. производство в красном костном мозге эритроцитов, можно воспользоваться свойством пчелиного яда активизировать этот процесс. В нашей лаборатории в экспериментах на крысах было установлено (Киреева с сотр., 1985 и др.), что внутрибрюшинное введение пчелиного яда или мелиттина в широком интервале доз (от средних до субтоксических) вызывает ярко выраженный ретикулоцитоз. Количество молодых форм эритроцитов возрастало в 2-3 раза больше нормы уже через 1 час после введения, а через сутки достигало максимума — в 5-9 раз выше нормы, оставаясь повышенным до конца наблюдений (4 суток).

Одной из сложнейших патологий, сопутствующих тяжелым травмам, кровотечениям, ожогам, интоксикациям и т.д., является шок. Разработка методов борьбы с шоком сегодня чрезвычайно

актуальна. Соответственно, важно и воспроизведение шоковой патологии в экспериментальных условиях. Очевидно, что использование пчелиного яда для моделирования "экзотоксинового" шока вполне соответствует прямому эволюционному назначению яда. С этой целью нами показано, что введение высоких (2-4 полужетальных) доз пчелиного яда вызывает развитие типичного симптомокомплекса шока: постадийное угнетение функций центральной нервной системы, сердечно-сосудистой и респираторной систем со специфическим эффектом асфиксии (Парин, 1990). Укажем, что использование пчелиного яда для моделирования шока позволило нам подтвердить завоевывающую в последние годы все большую популярность концепцию о ведущей роли гиперактивации эндоргинальной опиоидной системы в патогенезе развития шоковых состояний (Голанов, 1986). Мы установили, что использование специфического опиатного блокатора налоксона на ранних стадиях экзотоксинового шока существенно (на 40-60%) увеличивает выживаемость животных, в 2-3 раза продлевает срок их жизни при воздействии сверхвысоких доз яда и заметно улучшает параметры функционирования основных физиологических систем организма.

Таким образом, завершая разговор о пчелином яде, следует заключить, что этот ценный природный продукт — продукт пчеловодства имеет широкие перспективы как для решения практических задач медицины, так и для фундаментальных исследований в области знаний о структуре и функциях организма человека и животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из приведенного материала следует, что пчелиный яд представляет собой уникальный природный продукт, эволюционно приспособленный к эффективному воздействию на организм человека и животных. Как показывают эксперименты на животных и данные клинической медицины, такая высокоизбирательная физиологическая активность яда, выработанная пчелами в ходе эволюции для эффективной защиты семьи, соответственно, совершенная в направлении поражения наиболее важных интегрирующих систем организма (нервная, сердечно-сосудистая, респираторная), позволяет рассматривать яд не только как отравляющее, но и как высокоспецифическое физиологически активное вещество, которое можно с успехом использовать для решения многих задач физиологии и медицины.

Так, использование пчелиного яда и его компонентов в качестве инструментов физиологических исследований позволило достичь значительных успехов в расшифровке структуры и функционирования возбудимых мембран и ионных каналов, механизмов развития ряда патологических процессов человеческого организма, разработать модели самих патологических состояний.

С другой стороны, памятуя о том, что любой яд может быть лекарством, человек издавна использует пчелиный яд в народной и официальной медицине. Взглянув на список литературы в конце книги, можно с удовлетворением отметить, что в нашей стране апитерапия известна давно и успешно развивается сегодня. Терапевтическая ценность яда пчел доказана наличием у этого естественного продукта большого спектра целительных свойств — биостимулирующих, противовоспалительных, анестезирующих, антиаритмических, радиопротекторных и др. Наличие указанных свойств определяет высокий эффект яда при лечении воспалительных, сердечно-сосудистых, желудочно-кишечных, нервно-психических заболеваний, болезней почек, печени, легких — этот список

можно продолжать долго. Важно отметить, что при этом не отмечается каких-либо отрицательных последствий апитерапии, как у многих современных синтетических препаратов. Отмечено множество случаев, когда лечение пчелиным ядом оказалось единственным эффективным воздействием на патологический процесс на фоне безрезультатного лечения другими методами и лекарствами.

Объясняя высокую терапевтическую эффективность пчелиного яда, мы полагаем, что он, как агрессивный фактор внешнего воздействия, отражающий приобретенные в эволюции механизмы отношения пчел и подвергаемых ужалению объектов, вызывает в организме комплекс приспособительных изменений как соматовегетативных функций, так и процессов метаболизма, направленных на сохранение устойчивого состояния организма в целом. Очевидно, что такой комплекс реакций в условиях патологического состояния организма становится фактором, запускающим или усиливающим идущую в больном организме цепь взаимосвязанных процессов, направленных на устранение патогенетического фактора.

Воздействие яда и его компонентов на патологический процесс осуществляется на всех уровнях — от мембран и оргanelл клеток до органов и систем большого организма. Необходимо учитывать, что ингредиенты яда могут воздействовать на ткани-мишени как непосредственно, так и, возможно, главным образом, опосредованно через активизацию ими комплекса эндогенных физиологически активных веществ, регулирующих функции организма на разных уровнях — медиаторов, гормонов, продуктов метаболизма.

В этом плане нельзя не отметить возможность участия в реакциях организма на введение пчелиного яда эндогенных регуляторных пептидов, изучение которых в настоящее время интенсивно развивается. 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. Укажем, что полипептиды пчелиного яда имеют ряды совпадений аминокислотных последовательностей с наиболее важными 3-10-звеньевыми регуляторными пептидами. В связи с этим можно предположить, что как при образовании из полипептидных предшественников регуляторных олигопептидов, при попадании в организм полипептидов пчелиного яда из них также могут отщепляться более активные олигопептиды с регуляторными свойствами. В этом случае становится понятна высокая поли-

функциональность и многозвенность влияния пчелиного яда на организм человека и животных, его универсальная терапевтическая активность.

Из вышесказанного следует, что очевидно широкая перспектива дальнейшего изучения и применения пчелиного яда. К сожалению, приходится констатировать, что еще мало разработок, объясняющих многие, порой парадоксальные эффекты 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 России сегодня зарегистрированы в Фармакопее лишь два средства — таблетки для электрофореза Апифор и мазь Унгапивен. Но радует уже и то, что лечение пчелоужалениями развивается достаточно интенсивно, в стадии разработки и клинических испытаний находятся еще 5-6 препаратов. Учитывая, что в нашей стране имеется мощная сырьевая база и развитые технологии получения пчелиного яда в промышленных масштабах без вреда для пчеловодства, хочется надеяться на успешное развитие как апитерапии, так и новой отрасли пчеловодства.

В. Н. КРЫЛОВ

ПЧЕЛИНЫЙ ЯД

СВОЙСТВА
ПОЛУЧЕНИЕ
ПРИМЕНЕНИЕ



КНВ