

УДК 599:539.1.047

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАДИОЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ПЧЕЛИНОГО ЯДА В ОТНОШЕНИИ СИСТЕМЫ КРОВИ КРЫС

© 2011 г.

*А.А. Николаева*

Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского

n\_anna08@mail.ru

*Поступила в редакцию 06.09.2011*

Исследованы радиозащитные свойства пчелиного яда при различных способах применения. Проанализированы эффекты на систему крови крыс при его введении перед тотальным  $\gamma$ -облучением и после облучения. Показано, что пчелиный яд при внутрибрюшинном введении перед облучением в дозах 0.1 и 0.5 мг/кг обладает радиопротекторным действием, что проявляется в улучшении ряда гематологических показателей. Пчелиный яд в дозах 0.1 и 0.5 мг/кг, используемый после облучения, облегчает течение острой лучевой болезни средней степени тяжести, стимулируя восстановительные процессы в системе крови.

*Ключевые слова:* пчелиный яд, система крови, лучевая болезнь.

### Введение

В настоящее время особую актуальность приобретает поиск средств для защиты от действия ионизирующих излучений. Широкое использование энергии излучения в промышленности, сельском хозяйстве и медицине привело к увеличению числа людей, так или иначе имеющих отношение к использованию радиоактивных материалов, аварии на атомных станциях приводят к развитию лучевой болезни различной степени тяжести. В связи с этим, проблема снижения радиочувствительности биологических объектов, в том числе и человека, является одной из центральных в радиобиологии. Современными исследователями установлено радиозащитное действие многих химических соединений, которые, будучи введенными в организм, повышают радиорезистентность и облегчают течение лучевой болезни. В основном это радиопротекторы, они вводятся непосредственно перед облучением в достаточно больших дозах и не всегда хорошо переносятся организмом. Среди профилактических противолучевых средств выделяют группу стимуляторов радиорезистентности [1], в которую включены вещества, повышающие устойчивость организма к облучению в «сублетальных» дозах, вызывающих костно-мозговую форму лучевой болезни различных степеней тяжести. Это иммуномодуляторы, гормональные препараты, витамины, адаптогены из растительного сырья, продукты пчеловодства, антиоксиданты [1, 2]. Достаточно перспективным направлением в радиобиологии представляется использование зоотоксинов в качестве стимуляторов радиорезистентности,

однако их воздействие на организм в сочетании с излучением недостаточно изучено, что и определило цель настоящей работы.

### Материалы и методы

Эксперименты проводились на белых нелинейных крысах массой 150–180 г. Для изучения радиопротекторных и терапевтических свойств пчелиного яда были проведены две серии экспериментов. В первой серии экспериментов пчелиный яд вводили многократно (в течение 7 суток) перед облучением с периодичностью 1 раз в сутки, последнее введение – за 1 час до облучения. Введение осуществляли внутрибрюшинно в дозах 0.1 и 0.5 мг/кг. Контрольным животным вводили эквивалентный объем физиологического раствора в те же сроки. Далее животных всех групп подвергали однократному тотальному  $\gamma$ -облучению на терапевтической установке «Агат-С» ( $^{60}\text{Co}$ ) отделения лучевой терапии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Нижегородский областной «Онкологический диспансер», филиал № 1 в дозах 3 и 5 Гр (мощность облучения ~1 Гр/мин). Облучение в дозе 3 Гр инициировало у экспериментальных животных развитие острой лучевой болезни средней степени, в дозе 5 Гр – тяжелой степени [3]. Кровь для анализа брали из подъязычной вены на 1, 7, 14 и 21 сутки после облучения. В периферической крови определяли содержание гемоглобина, эритроцитов, ретикулоцитов, лейкоцитов, оценивали кислотно-резистентность эритроцитов методом кислотных эритрограмм [4, 5].

Таблица 1

**Изменение количества эритроцитов (млн./мкл) в крови облученных животных (5 Гр)  
при предварительном введении яда пчелы**

Группа	Интактные животные	Сутки после облучения			
		1	7	14	21
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
контроль	4.5±0.06	4.30±0.17	3.68±0.07	3.64±0.25	3.93±0.36
Пчелиный яд (0.1 мг/кг)	4.5±0.06	4.68±0.16	3.93±0.08	4.35±0.19	4.17±0.10
Пчелиный яд (0.5 мг/кг)	4.5±0.06	4.70±0.12	4.20±0.10*	4.77±0.10*	4.43±0.07*

Здесь и далее: \*  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

Таблица 2

**Изменение количества гемоглобина (г/л) в крови облученных животных (5 Гр)  
при предварительном введении яда пчелы**

Группа	Интактные животные	Сутки после облучения			
		1	7	14	21
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Контроль	133.5±6.9	122.0±2.8	87.0±2.2	98.0±8.5	109.0±2.5
Пчелиный яд (0.1 мг/кг)	133.5±6.9	119.0±2.5	104.0±7.3*	124.5±8.8*	123.0±3.7*
Пчелиный яд (0.5 мг/кг)	133.5±6.9	127.0±3.4	104.0±6.6*	128.0±3.4*	125.0±5.9*

Во второй серии экспериментов животных предварительно подвергали действию  $\gamma$ -излучения в дозах 3 и 5 Гр, инициируя развитие средней и тяжелой форм лучевой болезни, а затем внутрибрюшинно вводили пчелиный яд в дозах 0.1 и 0.5 мг/кг. Терапия проводилась в течение 7 суток, первая инъекция – через 1 час после облучения. Кровь для анализа брали на 7, 14 и 21 сутки после облучения, определяя те же гематологические показатели, что и в предыдущей серии.

### Результаты и их обсуждение

В первой серии экспериментов при облучении животных дозой 3 Гр, вызывающей острую лучевую болезнь средней степени, количественные показатели красной крови снижались незначительно на протяжении всего эксперимента как у опытных, так и у контрольных животных. Опытные группы незначительно отличались от контрольных.

Более существенные повреждения в системе красной крови были выявлены у животных с тяжелой формой лучевой болезни (доза облучения 5 Гр). Эритропения и анемия более выражены на 7-е сутки после облучения во всех группах (табл. 1, 2), что связано, по-видимому, с гибелью клеток-предшественников эритроцитов в костном мозге и невозможностью, в связи с этим, пополнения пула функционирующих клеток в периферической крови. Профилактическое введение облученным животным пчелиного яда в дозах 0.1 и 0.5 мг/кг купировало индуцируемую облучением анемию и эритропению. Особенно эффективным оказалось применение яда в дозе 0.5 мг/кг. Уже на 7-е сутки по-

сле облучения количество эритроцитов в этой группе было на 11.5% выше, чем в контроле, причем позитивная тенденция сохранялась на 14 (на 25.1%) и 21 сутки (на 13.4%) ( $p < 0.05$ ). Показатель общего количества гемоглобина в этой группе характеризовался сходной динамикой. На протяжении всего периода наблюдений (за исключением первых суток после облучения) он был на 12.0–22.5% выше, чем в контрольной группе ( $p < 0.05$ ). Предварительное введение яда в дозе 0.1 мг/кг также способствовало более быстрому восстановлению красной крови, однако не так эффективно.

Несмотря на тот факт, что количественные показатели красной крови мало отличались на протяжении всего эксперимента, повреждающее действие радиации сказывалось на клеточном уровне и отражалось на устойчивости эритроцитарной мембраны к действию гемолизиков. Степень чувствительности мембраны эритроцитов к гемолизу зависит не только от времени, прошедшего после облучения, но и от его дозы, так как воздействие радиации приводит к различным структурно-функциональным нарушениям в мембране [6, 7]. Наблюдались изменения в качественном составе эритроцитов, связанные с воздействием облучения, наиболее выраженные в контрольной группе. Это проявлялось в резком сдвиге эритрограммы вправо, увеличении числа разрушенных эритроцитов и уменьшении интервала резистентности. При увеличении дозы облучения сдвиг эритрограмм в сторону высокостойких эритроцитов был более выраженным, наблюдался в течение более длительного периода времени (трех недель после облучения), а тенденция к восстановлению отмечалась лишь к 21 суткам. Профилактиче-

Таблица 3

**Изменение количества лейкоцитов (тыс./мкл) в крови облученных животных (3 Гр)  
при предварительном введении яда пчелы**

Группа	Интактные животные	Сутки после облучения			
		1	7	14	21
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Контроль	11.73±0.47	4.40±0.46	4.80±0.35	6.30±0.72	9.00±0.29
Пчелиный яд (0.1 мг/кг)	11.73±0.47	4.50±0.57	5.60±0.28*	6.30±0.62	8.50±0.98
Пчелиный яд (0.5 мг/кг)	11.73±0.47	4.30±0.46	5.10±0.25	6.80±0.69	9.50±1.22

Таблица 4

**Изменение количества лейкоцитов (тыс./мкл) в крови облученных животных (5 Гр)  
при предварительном введении яда пчелы**

Группа	Интактные животные	Сутки после облучения			
		1	7	14	21
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Контроль	13.05±1.70	3.84±0.62	3.84±0.16	6.52±0.79	8.50±0.59
Пчелиный яд (0.1 мг/кг)	13.05±1.70	3.88±0.50	3.85±0.35	6.05±0.54	7.10±0.54
Пчелиный яд (0.5 мг/кг)	13.05±1.70	3.90±0.35	4.24±0.30	8.36±0.28*	10.15±0.79*

Таблица 5

**Изменение количества эритроцитов (млн./мкл) в крови облученных животных (3 Гр)  
при последующем введении яда пчелы**

Группа	Интактные животные	Сутки после облучения		
		7	14	21
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Контроль	4.54±0.15	4.06±0.16	3.66±0.09	3.97±0.14
Пчелиный яд (0.1 мг/кг)	4.54±0.15	4.28±0.19	3.98±0.11*	4.34±0.07*
Пчелиный яд (0.5 мг/кг)	4.54±0.15	3.68±0.08*	3.80±0.15*	4.04±0.09*

ское введение пчелиного яда несколько изменяло кинетику гемолиза независимо от дозы зоотоксина. В опытных группах гемолиз начинался и завершался на 0.5–1 минуту раньше, чем в контрольной. К 21 суткам в крови животных опытных групп преобладали высокостойкие формы эритроцитов, но уже намечалась тенденция к стабилизации в качественном составе красной крови.

Как известно, белая кровь является крайне чувствительной к действию ионизирующих излучений [8, 9]. Если общее количество эритроцитов может поддерживаться за счет более радиорезистентных зрелых эритроцитов, то количество лейкоцитов не способно оставаться на уровне, близком к исходному, в силу выбывания «старых» клеток и невозможности пополнения пула функционирующих зрелых клеток из-за нарушения лейкопоэза. Кроме того, лейкоциты, в силу особенностей своего строения и метаболизма, являются более радиочувствительными форменными элементами, чем эритроциты [10, 11]. Вполне ожидаемо, что после тотального облучения (3 Гр) в крови крыс опытных и контрольной группы была выявлена выраженная лейкопения (табл. 3). Следует отметить, что в группе с введением яда в дозе 0.5 мг/кг наблюдалась тенденция к более быстрому восстановлению белой крови: в этой группе ко-

личество лейкоцитов к 21 суткам составляло 81.0%, тогда как в контроле и в другой опытной группе – 76.7 и 72.5% соответственно.

Острая лучевая болезнь тяжелой степени сопровождалась более резкой лейкопенией. Минимальное количество лейкоцитов во всех группах наблюдалось на 1 и 7 сутки (табл. 4). В группе, где использовался яд в дозе 0.5 мг/кг, количество лейкоцитов к завершению периода наблюдений достоверно превышало контрольные значения (на 12.6%).

Пчелиный яд, вводимый после облучения, также обладал радиозащитными свойствами, хотя и менее выраженными, чем при его профилактическом применении.

При острой лучевой болезни средней степени тяжести (после облучения в дозе 3 Гр) у облученных животных отмечалась незначительная эритропения и анемия (табл. 5). На протяжении всего периода эксперимента наиболее выраженный защитный эффект наблюдался при введении пчелиного яда в дозе 0.1 мг/кг. В группе, где животным вводили эту дозу, количество эритроцитов было достоверно выше контрольных значений к 14 и 21 суткам после облучения, к завершению периода наблюдений количество эритроцитов не отличалось от исходного уровня ( $p > 0.05$ ).

Таблица 6

**Изменение количества лейкоцитов (тыс./мкл) в крови облученных животных (3 Гр)  
при последующем введении яда пчелы**

Группа	Интактные животные	Сутки после облучения		
		7	14	21
	<i>M±m</i>	<i>M±m</i>	<i>M±m</i>	<i>M±m</i>
Контроль	11.73±0.47	5.10±0.54	4.90±0.55	8.10±0.6
Пчелиный яд (0.1 мг/кг)	11.73±0.47	7.40±0.37*	6.60±0.44*	9.40±0.71
Пчелиный яд (0.5 мг/кг)	11.73±0.47	5.10±0.41	5.60±0.54	6.80±0.52*

Таблица 7

**Изменение количества лейкоцитов (тыс./мкл) в крови облученных животных (5 Гр)  
при последующем введении яда пчелы**

Группа	Интактные животные	Сутки после облучения		
		7	14	21
	<i>M±m</i>	<i>M±m</i>	<i>M±m</i>	<i>M±m</i>
Контроль	13.05±1.70	3.96±0.35	5.80±0.50	7.16±0.63
Пчелиный яд (0.1 мг/кг)	13.05±1.70	4.06±0.13	6.16±0.65	7.66±0.61
Пчелиный яд (0.5 мг/кг)	13.05±1.70	3.00±0.41	5.13±0.76	6.76±0.11

При тяжелой степени лучевой болезни картина поражения красной крови выражена более отчетливо. Так же, как и при облучении дозой 3 Гр, на 14-е сутки после окончания лечения наблюдалась выраженная эритропения и анемия. Так, в группе с дозой яда 0.1 мг/кг общее количество эритроцитов было на 5.6–10.4% выше, чем в контроле, но достоверным является лишь значение 7 суток. В группе с использованием дозы 0.5 мг/кг достоверных отличий от контроля не наблюдалось.

После воздействия радиации резко повышалось количество ретикулоцитов во всех группах, что связано, по-видимому, с неспецифическим компенсаторным выделением ретикулоцитов из кровяных депо в ответ на экстремальное воздействие как самого облучения, так и введения яда (табл. 5). О степени повреждения мембран эритроцитов свидетельствует и изменение кислотной резистентности. Терапия пчелиным ядом острой лучевой болезни (ОЛБ) средней степени тяжести приводит к стабилизации качественного состава эритроцитов к концу эксперимента.

По динамике изменения общего количества лейкоцитов после облучения 3 Гр также можно судить о терапевтическом действии пчелиного яда в дозе 0.1 мг/кг (табл. 6). Показатель в этой группе был достоверно выше контрольного на 7 и 14 сутки после облучения. К завершению эксперимента общее количество лейкоцитов достигало 80.1%, что на 11% выше, чем в контроле, и на 22.1% выше, чем в группе с дозой яда 0.5 мг/кг.

Острую лучевую болезнь тяжелой степени сопровождала выраженная лейкопения (табл. 7). Количество лейкоцитов во всех группах падало до 23–30.3% на 7 сутки после облучения, причем наименьшее количество отмечено в группе с дозой яда 0.5 мг/кг. Медленнее всего восста-

новление происходило в группе с дозой яда 0.5 мг/кг и к 21 суткам количество лейкоцитов составляло 51.8% по сравнению с интактными животными. По всей видимости, следует говорить о токсическом действии яда, который накладывался на радиационный эффект.

Таким образом, согласно полученным результатам, терапия пчелиным ядом лучевой болезни эффективна лишь при малых дозах облучения. Лечение ОЛБ тяжелой степени оказывалось эффективным лишь в отношении красной крови, которая, как известно, более радиорезистентна. Пчелиный яд дозе 0.1 мг/кг обладал более выраженным защитным действием по сравнению с дозой 0.5 мг/кг при лечении ОЛБ тяжелой и, особенно, средней степеней тяжести. Введение 0.5 мг/кг пчелиного яда усугубляло тяжесть поражения при ОЛБ тяжелой степени и, очевидно, вызывало токсический эффект.

При профилактическом введении яда наблюдалась другая закономерность: наиболее выраженным радиопротекторным действием обладал пчелиный яд в дозе 0.5 мг/кг при моделировании у крыс ОЛБ тяжелой степени.

*Список литературы*

1. Легеза В.И., Владимиров В.Г. Новая классификация профилактических противолучевых средств // Радиационная биология. Радиоэкология. 1998. Т. 38. № 3. С. 416–423.
2. Крылов В.Н., Хомутов А.Е., Корягин А.С., Ошевенский Л.В. Исследование механизмов адаптогенного действия зоотоксинов на организм человека и животных // Важнейшие научные результаты. Сборник кратких описаний. Н. Новгород.: Изд-во ННГУ, 1999. С. 175–176.
3. Корягин А.С., Ерофеева Е.А., Александрова О.И. Адаптогенные свойства пчелиного яда при действии экстремальных факторов различной природы // Вестник ННГУ. 2007. № 3. С. 113–115.

4. Гительзон И.И., Терсков И.А. Эритрограммы как метод клинического исследования. Красноярск: Изд-во Красноярского ун-та, 1959. 246 с.
5. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина, 1987. 367 с.
6. Поливода Б.И., Конев В.В., Попов Г.А. Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран. М.: Энергоатомиздат, 1990. 154 с.
7. Фоменко Б.С., Акоев И.Г. Структурные изменения плазматической мембраны под действием ионизирующей радиации // Успехи современной биологии. М.: Наука, 1982. 320 с.
8. Goodhead D.T. Radiation effects in living cells // *Can. J. Phys.* 1990. V. 68. № 9. P. 872–882.
9. Denecamp J., Rojas A. Cell kinetics and radiation pathology // *Experimentia*. 1989. V. 45. № 3. P. 33–41.
10. Dewey W.C., Ling C.C., Meyn R.E. Radiation-induced apoptosis: relevance to radiotherapy // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1995. V. 33. № 3. P. 781–796.
11. Мишурова Е., Мацкова Н., Кропачова К. Изменения содержания рибонуклеиновой кислоты в клетках и плазме крови в сопоставлении с гематологическими индикаторами радиационно-индуцированного поражения у крыс // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 1997. Т. 37. Вып. 2. С. 148–153.

#### COMPARATIVE ANALYSIS OF RADIOPROTECTIVE ACTION OF BEE VENOM ON THE RAT BLOOD SYSTEM

*A.A. Nikolaeva*

Radioprotective properties of bee venom have been studied using different methods of its application. The effects of venom introduction on the rat blood system are analyzed before and after total-body  $\gamma$ -irradiation. Intraperitoneal injections of the venom (at doses of 0.1 mg/kg and 0.5 mg/kg) are shown to have anti-radiation action manifesting in the improvement of a number of hematological parameters. Bee venom, administered in doses of 0.1 mg/kg and 0.5 mg/kg after the exposure, alleviates the acute radiation disease of moderate severity stimulating regeneration processes in the rat blood system.

*Keywords:* bee venom,  $\gamma$ -irradiation, blood system, radiation sickness.