

УДК 599:539.1.047

АДАПТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ПЧЕЛИНОГО ЯДА ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

© 2007 г.

А.С. Корягин, Е.А. Ерофеева, О.И. Александрова

Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского

vestnik_nngu@mail.ru

Поступила в редакцию 12.04.2007

В опытах на крысах исследованы адаптогенные свойства яда пчелы медоносной (*Apis mellifera* L.) при повреждающем действии однократного γ -облучения в дозе 3 Гр и гипобарической гипоксии. Установлено, что предварительное многократное введение яда в нетоксичной дозе оказывает противолучевой эффект и уменьшает интенсивность стресса, вызванного гипоксией. Показано, что противолучевой эффект пчелиного яда в исследованной дозе обусловлен его основным компонентом – пептидом мелиттином. Полагают, что выявленные эффекты пчелиного яда и мелиттина во многом опосредованы развитием неспецифической адаптационной реакции активации.

Введение

В наше время при возрастании частоты стрессовых ситуаций и ухудшении экологической обстановки проблема поиска адаптогенов, эффективно повышающих устойчивость организма к экстремальным факторам самой различной природы, и изучения принципов их действия приобретает особую остроту. Изучение механизмов действия адаптогенов способствует пониманию закономерностей адаптационных процессов и открывает перспективу управления резистентностью организма, что не только повысит устойчивость к самым различным неблагоприятным факторам, но и в конечном итоге может привести к увеличению продолжительности жизни человека.

Целью работы было изучение адаптогенных свойств пчелиного яда в условиях однократного гамма-облучения и гипобарической гипоксии при многократном введении в нетоксичной дозе, а также выявление роли наиболее массового компонента пчелиного яда – пептида мелиттина в развитии противолучевого эффекта.

Экспериментальная часть

Исследования проводили на нелинейных белых крысах массой 200–250 г. В первой серии опытов изучали радиозащитный эффект пчелиного яда и его основного компонента – пептида мелиттина. Для этого животным предварительно в течение 7 дней с периодичностью 1 раз в сутки внутривентриально вводили яд в дозе

0,1 мг/кг, а мелиттин – в дозе 0,05 мг/кг, что соответствует содержанию мелиттина в использованной дозе пчелиного яда. Контрольным животным вводили растворитель пчелиного яда – физиологический раствор в том же объеме. Животные группы «контроль на облучение» подвергались только облучению. Однократное общее γ -облучение (^{60}Co) животных опытных и контрольных групп проводили на терапевтической установке «Агат-С» в дозе 3 Гр (мощность дозы 1 Гр/мин) через сутки после окончания инъекций. Интактные животные не подвергались никаким воздействиям.

На следующие сутки после γ -облучения животных забивали и выделяли костный мозг из бедренной кости крыс [1]. В камере Горяева определяли общее количество клеток красного костного мозга в одной бедренной кости. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в периферической крови определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА) [2]. Лейкоцитарную формулу подсчитывали на изготовленных по стандартной методике препаратах [3].

Во второй серии экспериментов пчелиный яд вводили аналогично первой серии опытов. Контрольным животным вводили растворитель пчелиного яда – физиологический раствор в том же объеме. Животным группы «гипоксия» инъекции не производили. Через сутки после окончания инъекций животных опытной, контрольной и группы «гипоксия» в течение 30 минут подвергали барометрической гипобарической гипоксии, соответствующей подъему на высоту 8000 м над уровнем моря. Сразу после гипоксии в крови определяли

содержание уровня продуктов ПОЛ – оснований Шиффа. Через 12 часов определяли содержание лейкоцитов в крови в камере Горяева [3] и количество клеток костного мозга в 1 бедренной кости [1].

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с помощью программы БИОСТАТИСТИКА [4]. Использовали параметрические критерии (однофакторный дисперсионный анализ и t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони), поскольку было установлено, что распределение исследованных параметров гомостаза существенно не отличается от нормального. Для определения характера распределения его проверяли на наличие асимметрии и эксцесса.

Результаты и их обсуждение

В первой серии экспериментов было показано, что курсовое введение пчелиного яда в нетоксичной дозе 0,1 мг/кг приводит к повышению радиорезистентности системы крови и важнейшего органа кроветворения – костного мозга. Костный мозг признан критическим органом, состояние которого определяет глубину радиационного поражения и вероятность гибели облученного организма в ранние сроки после облучения.

У животных опытной группы по отношению к контролю отмечалось статистически значимое ($p < 0,05$) снижение интенсивности ПОЛ, увеличение количества выживших после облучения клеток красного костного мозга, снижение интенсивности стресса, о чем свидетельствовало увеличение в лейкоцитарной формуле процента лимфоцитов и снижение относительного количества нейтрофилов (табл. 1).

Сравнительный анализ противоположных свойств курсового введения пчелиного яда и мелиттина показал, что радиозащитные свойства пчелиного яда обусловлены в основном пептидным компонентом – мелиттином.

Изменения параметров системы крови при введении пчелиного яда и мелиттина достоверно не различались (табл. 1). Таким образом, полученные данные указывают на то, что выявленный противоположный эффект яда преимущественно обусловлен мелиттином.

Изучение адаптогенного действия пчелиного яда в условиях гипобарической гипоксии показало, что многократное введение яда в нетоксичной дозе перед созданием гипоксического состояния снижает у

животных интенсивность стресса, вызванного этим экстремальным фактором.

Известно, что при остром действии стресс-фактора наблюдается следующая динамика интенсивности ПОЛ, как у животных, так и растений [5]. В течение первых 10–15 мин после начала воздействия отмечается развитие первого пика увеличения содержания продуктов ПОЛ. Затем наступает фаза спада интенсивности ПОЛ (иногда даже ниже исходного уровня) вследствие активации антиоксидантной системы. При этом, чем сильнее стресс, тем быстрее наступает всплеск интенсивности процесса ПОЛ, а затем его спад и тем больше их амплитуда. Второй пик интенсивности ПОЛ отмечается примерно через сутки после начала действия стрессового фактора [5].

У животных опытной группы увеличение интенсивности ПОЛ развивалось достаточно медленно, что свидетельствует о снижении ядом силы стресса, поэтому в момент взятия крови отмечалось повышенное содержание оснований Шиффа по сравнению с контролем и интактными (табл. 2). У контрольной группы скорость этого процесса была больше, в связи с этим наблюдался спад интенсивности ПОЛ до уровня условной нормы (интактные животные). У группы «гипоксия» была наибольшая скорость развития всплеска ПОЛ и наиболее глубокий спад – ниже уровня интактных, что свидетельствует о развитии сильного стресса (табл. 2). Таким образом, пчелиный яд снижал интенсивность стресса, вызванного гипоксией, о чем свидетельствует достоверно более медленное повышение интенсивности ПОЛ по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Известно, что увеличение количества лейкоцитов является универсальным показателем стресс-реакции [1, 6]. У животных группы «гипоксия» при гипоксии содержание лейкоцитов увеличивалось по сравнению с условной нормой (интактные), пчелиный яд снижал данный показатель по отношению к контрольной группе (табл. 2).

Количество клеток костного мозга у животных групп контроль и «гипоксия» достоверно снижалось по сравнению с интактными. Напротив, пчелиный яд нормализовал данный показатель (табл. 2). Вероятно, лейкоцитоз в периферической крови при стрессе связан, кроме мобилизации простеночного пула клеток, и с выходом зрелых лейкоцитов из костного мозга. Это предположение подтверждается обнаруженной нами отрицательной корреляцией между количеством клеток костного мозга и

содержанием лейкоцитов в крови у животных всех групп, которые подвергались стрессующему действию гипоксии (по Спирмену: $r = -0,51$; $p = 0,018$). По-видимому, выявленная корреляция обусловлена преимущественно выходом нейтрофилов из костного мозга, так как известно, что при стрессе глюкокортикоиды вызывают нейтрофилез за счет усиления поступления зрелых нейтрофилов из костного мозга в кровь

1. Горизонтов, П.Д. Стресс и система крови / П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова. – М.: Медицина, 1983. – 823 с.
2. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биомембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 272 с.
3. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая. – М.: Медицина, 1987. – 364 с.

Таблица 1

Некоторые показатели состояния системы крови и кроветворения у крыс через сутки после однократного гамма-облучения в дозе 3 Гр

Группы	Нейтрофилы, %	Лимфоциты, %	Общее кол-во клеток кост. мозга в 1 бедрен. кости ($\times 10^6$)	МДА, нмоль/мл крови
Интактные	18,00 \pm 4,14	77,63 \pm 0,75	7,94 \pm 0,67	4,10 \pm 0,18
Контроль (облучение)	45,50 \pm 7,00*	41,13 \pm 2,49*	4,43 \pm 0,09*	–
Контроль (физ. р-р)	49,50 \pm 0,47*	39,17 \pm 1,12*	4,43 \pm 0,15 *	5,02 \pm 0,21*
Яд пчелы, 0,1 мг/кг	25,50 \pm 0,96#+	64,38 \pm 0,94*#+	6,27 \pm 0,31*#+	4,17 \pm 0,16+
Мелиттин, 0,05 мг/кг	22,75 \pm 3,30#+	72,88 \pm 4,93#+	6,64 \pm 0,34#+	–

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к интактным; # – $p < 0,05$ по отношению к контролю (облучение); + – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

Таблица 2

Некоторые показатели состояния системы крови и кроветворения у крыс после гипобарической гипоксии

Группы	Лейкоциты, кл/мл крови ($\times 10^6$)	Общее кол-во клеток кост. мозга в 1 бедрен. кости ($\times 10^6$)	Основания Шиффа, отн. ед. опт. пл.
Интактные	19,87 \pm 2,28	8,88 \pm 0,61	0,082 \pm 0,014
Гипоксия	27,60 \pm 2,41*	5,25 \pm 0,25*	0,038 \pm 0,006*
Контроль (физ. р-р)	21,97 \pm 1,50#	5,20 \pm 0,26*	0,098 \pm 0,018#
Яд пчелы, 0,1 мг/кг	18,00 \pm 0,46#+	7,77 \pm 0,61#+	0,336 \pm 0,087*#+

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к интактным; # – $p < 0,05$ по отношению к группе «гипоксия»; + – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

и резкого уменьшения их диапедеза в ткани [7].

Таким образом, пчелиный яд проявляет адаптогенные свойства при действии экстремальных факторов самой различной природы, что указывает на значительную роль в этом явлении неспецифических механизмов реакции активации, которая развивается, как показано нами ранее [8], при введении использованной дозы токсина в условиях относительной нормы. При этом противолучевой эффект пчелиного яда в исследованной дозе обусловлен действием его наиболее массового компонента – пептида мелиттина.

Список литературы

4. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 452 с.
5. Барабой, В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы / В.А. Барабой. – Киев: Фитосоциентр, 2006. – 424 с.
6. Гаркави Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, Т.С. Кузьменко. – М.: ИМЕДИС, 1998. – 656 с.
7. Гаврилов, О.К. Клетки костного мозга и периферической крови / О.К. Гаврилов, Г.И. Козинец, Н.Б. Черняк. – М.: Медицина, 1985. – 288 с.
8. Корягин, А.С. Исследование адаптогенных свойств животных ядов к действию повреждающих факторов (на примере ионизирующей радиации) / А.С. Корягин, Е.А. Ерофеева // Поволжский

ADAPTOGENIC PROPERTIES OF BEE VENOM UNDER THE ACTION OF VARIOUS EXTREME FACTORS

A.S. Koryagin, E.A. Yerofeeva, O.I. Aleksandrova

We carry out experiments on rats to study adaptogenic properties of bee (*Apis mellifera* L.) venom under the action of such damaging factors as flash gamma-ray irradiation with the dose of 3 Gy and hypoxia. It is found that preliminary repeated injection of a nontoxic dose of the venom renders radioprotective effect and reduces the stress caused by hypoxia. It is shown that the radioprotective effect of the studied bee-venom dose is due to melittin peptide, its main component. It is believed that the revealed effects of bee venom and melittin are in many respects

экологический журнал. – 2004. – № 2. – С. 173–182.