

УДК 577.164.171+615.279:614.876

ЛЕЧЕБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПАРААМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ ПОСЛЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ВВЕДЕНИЯ В ОРГАНИЗМ (ИССЛЕДОВАНИЕ РОГОВИЦЫ КРЫСЫ)

© 1997 г. И. Г. Панова, И. И. Мельникова, О. Г. Строева

Представлено академиком Т.М. Турпаевым 10.11.96 г.

Поступило 13.11.96 г.

Парааминобензойная кислота (ПАБК) является природным соединением, известным как витамин Н, синтезируется бактериальными клетками и используется ими в синтезе фолиевой кислоты. Клетки млекопитающих не способны синтезировать ПАБК и получают ее из экзогенных источников, в частности используя ПАБК и фолиевую кислоту, синтезируемые кишечной палочкой (*Escherichia coli*); оба соединения всасываются в тонком кишечнике и попадают в кровь животных [1]. Свойства ПАБК в качестве полифункционального активатора фенотипических процессов были открыты И.А. Рапопортом на дрозофиле и затем многократно подтверждены на растениях и животных [2]. С помощью ПАБК удается также стимуляция отдельных процессов индивидуального развития и регенерации у млекопитающих [3, 4].

В предыдущем сообщении [5] было показано, что ПАБК оказывает радиозащитное и лечебное действие на роговицу взрослых крыс в условиях нанесения на нее раствора ПАБК до и после или только после рентгеновского облучения. Продолжая рекогносцировочные исследования на пути выяснения общих механизмов защитного действия этого соединения, мы провели сравнительный анализ цитологического состояния ядерного аппарата в базальном слое роговицы у крыс при двух разных способах введения ПАБК после рентгеновского облучения: 1) подкожных инъекциях и 2) нанесении раствора на роговицу. Полученные результаты представлены в настоящем сообщении.

Работа была выполнена на крысах-альбиносах Wistar в возрасте 16 сут после рождения – потомстве самок, полученных из питомника “Столбовая”. Использование крыс этого возраста позволяет брать для контроля и опыта животных из одного помета, что уменьшает разброс данных;

роговица крыс данного возраста по своему гистологическому строению не отличается от таковой взрослых животных.

Девять крысят из одного помета, массой 20.2 ± 0.5 г, были однократно облучены на установке РУМ-17 в дозе 5 Гр (мощность дозы 0.886 Гр/мин, фокусное расстояние 47 см, фильтры $\text{Cu } 0.5 \text{ мм} + 1.0 \text{ мм Al}$, 210 кВ, 15 мА, 5 мин 36 с). Три крысенка из этого помета после облучения не подвергались никаким дополнительным воздействиям и представляли собой облученный контроль (группа I). Трех другим крысятам, начиная со дня облучения, на роговицу обоих глаз ежедневно трехкратно в течение 5 дней наносили по 2 капли 0.007 % раствора ПАБК, приготовленного на 0.9% NaCl (группа II). Наконец, оставшимся трем крысятам в течение 5 дней ежедневно однократно подкожно инъецировали 0.007% раствора ПАБК из расчета 0.02 мл/г (группа III). Через 5 дней после облучения всех животных забивали декапитацией, глаза энуклеировали и фиксировали смесью формалин : 96% этанол : уксусная кислота (9 : 3 : 1) в течение 5 ч, затем промывали в проточной воде и хранили в 70% этаноле. Передний сектор глаза отрезали по лимбу и обрабатывали для цитологического исследования, используя для обезвоживания восходящий ряд спиртов – ксилол, и заливали в парафин; серийные срезы, фронтальные и поперечные, толщиной в 5 мкм, после депарафинирования окрашивали гематоксилином по Караччи и заключали в канадский бальзам. Объектом исследования был базальный слой переднего эпителия роговицы, в котором на светооптическом уровне (ок. 10 \times , иммерсия 100 \times) определяли митотический индекс (МИ) и индекс нормальных и патологически измененных ядер в среднем на 1000 ядер на фронтальных срезах в центральной зоне каждой роговицы. Как и в предыдущем сообщении [5], были идентифицированы следующие классы состояния ядер: 1) нормальные, округлой или овальной формы, с равномерно распределенным мелкодиспергированным хроматином; 2) слабоизмененные ядра с нарушением равномерности в распределении

Таблица 1. Встречаемость нормальных и измененных интерфазных ядер и митотический индекс в базальном слое эпителия роговицы у крыс Wistar после рентгеновского облучения

Группа опытов	Ядра разного типа*($x \pm m$, %)							
	1	2	3	4	5	6	7	МИ
I	17.9 ± 2.5	45.6 ± 4.0	1.0 ± 0.07	7.5 ± 2.6	1.1 ± 0.6	24.6 ± 4.4	1.6 ± 0.2	0.6 ± 0.07
II	33.9 ± 6.2	34.8 ± 3.4	0.3 ± 0.1	2.4 ± 0.9	0.2 ± 0.1	26.7 ± 7.4	1.4 ± 0.9	0.3 ± 0.07
III	41.8 ± 3.3	43.6 ± 5.4	0.1 ± 0.0	3.4 ± 1.3	1.7 ± 0.3	7.9 ± 3.7	0.8 ± 0.5	0.6 ± 0.07

* Типы ядер 1–7 см. в тексте.

Таблица 2. Соотношение нормальных и патологических митозов в базальном слое эпителия роговицы у крыс Wistar после рентгеновского облучения

Группа опытов	Общее число митозов	Фаза митоза											
		профаза			метафаза			анафаза			телофаза		
		об. ч.	нор.	пат.	об. ч.	нор.	пат.	об. ч.	нор.	пат.	об. ч.	нор.	пат.
I	123 (100)	61 (49.6)	6 (4.9)	55 (44.7)	32 (26.0)	0 (0.0)	32 (26.0)	12 (9.7)	0 (0.0)	12 (9.7)	18 (14.6)	0 (0.0)	18 (14.6)
II	121 (100)	69 (57.8)	47 (38.8)	22 (18.2)	33 (27.3)	14 (11.6)	19 (15.7)	9 (7.4)	1 (0.8)	8 (6.6)	10 (8.3)	4 (3.3)	6 (5.0)
III	156 (100)	98 (62.8)	73 (46.8)	25 (16.0)	18 (11.5)	5 (3.2)	13 (8.3)	15 (9.6)	4 (2.6)	11 (7.0)	25 (16.0)	19 (12.2)	6 (3.8)

Примечание. Общее число митозов (об. ч.); нормальные митозы (нор.); патологические митозы (пат.). В скобках – в процентах.

Таблица 3. Абсолютная величина разности (А) и отношение показателей (Б) между опытом и контролем по критерию нормальных ядер и митозов в эпителии роговицы у крыс Wistar после рентгеновского облучения

Сравниваемые группы опытов	Интерфазные ядра		Митозы	
	А, %	Б	А, %	Б
II-I	33.9 – 17.9 = 16.0	33.9/17.9 = 1.9	54.5 – 4.9 = 49.6	54.5/4.9 = 11.1
III-I	41.8 – 17.9 = 23.9	41.8/17.9 = 2.3	64.7 – 4.9 = 59.8	64.7/4.9 = 13.2
V*-II*	38.3 – 3.2 = 35.0	38.3/3.2 = 12.0	36.2 – 0.7 = 35.5	36.2/0.7 = 51.7

Примечание. V*-II* – из [1].

мелкодиспергированного хроматина; 3) уплотненные гомогенно гиперхромные; 4) с разорванной ядерной оболочкой; 5) вакуолизированные; 6) серповидные; 7) пикнотические (табл. 1). Для выявления патологически измененных митозов просматривали все серийные срезы, фронтальные и поперечные, суммируя данные по трем роговицам от каждой группы. Учитывались следующие категории патологически измененных митозов [6]: задержка митозов в профазе; асимметричные митозы и звездчатые метафазы с фрагментами; двугрупповые, трехполосные и веерообразные метафазы с фрагментами; атипичные анафазы и телофазы с мостами и фрагментами; набухание и слипание хромосом. Долю патологически измененных митозов выражали в процентах по отно-

шению к общему числу обнаруженных митозов (табл. 2). Числовые данные были обработаны статистически с оценкой достоверности различий по Стьюденту. Эффект поражения при сравнении трех групп облученных крысят оценивали по абсолютной величине разности между опытом и контролем и отношением показателей между опытом и контролем согласно С.П. Ярмоненко [7], сравнивая индексы нормальных ядер и митозов.

Результаты настоящего исследования подтвердили вывод предыдущего сообщения о защитном действии парааминобензойной кислоты, установленном на роговице взрослых крыс [5]. Оценка лечебного эффекта ПАБК по процентному соотношению нормальных и патологически измененных ядер (табл. 1) и митозов (табл. 2) показывает, что

в обоих опытах, где животные получили курс ПАБК, число нормальных ядер и митозов в базальном слое роговицы значительно превышало таковое в облученном контроле. При этом не было найдено статистически значимых различий между показателями в группах II и III, хотя улавливается тенденция более высоких значений в группе III, где животные получали ПАБК в виде подкожных инъекций. При данной выборке клеток не было найдено принципиальных различий в величине митотического индекса в изученных трех группах крысят.

Сравнение абсолютной величины разности между опытом и контролем и отношение показателей опыта и контроля (табл. 3), полученных в настоящем исследовании и в предыдущем [5], показывает, что в аналогичном опыте на роговице взрослых крыс, облученных той же дозой и получавших ПАБК в том же режиме после облучения, что и молодые (группа II), защитное действие ПАБК у взрослых оказалось более эффективным, чем у молодых крыс. Этот вывод вытекает из того, что в облученном контроле у взрослых поражение ядер в базальном слое переднего эпителия роговицы было более сильным, а увеличение числа нормальных ядер в результате действия ПАБК у молодых и взрослых было одинаковым. Та же тенденция в целом остается справедливой и для митозов.

Тот факт, что ПАБК оказала лечебный эффект на роговицу облученных крыс при подкожных инъекциях, показывает, что это действие осуществляется на общеорганизменном уровне. Это позволяет ожидать, что ПАБК может быть использована в качестве лечебного препарата по отношению и к другим органам, что будет предметом наших последующих исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 96-04-50696).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rong N., Selhub J., Coldin B.R., Rosenberg I.H. // J. Nutr. 1991. V. 121. № 12. P. 1955-1959.
2. Химические мутагены и парааминобензойная кислота в повышении урожайности сельскохозяйственных растений / Под ред. И.А. Рапопорта. М.: Наука, 1989.
3. Строева О.Г., Поплинская В.А., Хорошилова-Маслова И.П., Рапопорт И.А. // ДАН. 1990. Т. 314. № 2. С. 483-487.
4. Сологуб А.А., Панова И.Г., Строева О.Г. // Онтогенез. 1994. Т. 25. № 6. С. 54-59.
5. Строева О.Г., Панова И.Г., Мельникова И.И. // ДАН. 1997. Т. 355. № 4. С. 564-566.
6. Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. М.: Медицина, 1972. 264 с.
7. Ярмоненко С.П. Радиобиология человека и животных. М.: Высш. школа, 1988. С. 94-97.