

УДК 615.37.006

## МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ДНК, РНК-СУЛЬФАТИРОВАННЫХ И ШИК-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВИТАМИНА А, БЦЖ И 9-10-ДИМЕТИЛБЕНЗАНТРАЦЕНА В КЕРАТИНОЦИТАХ МЫШЕЙ

В. И. НОЗДРИН, М. З. БАХШИНЯН, А. В. АЗНАУРЯН, Н. Я. АРТЮХИНА

Выяснено, что витамин А и вакцина БЦЖ в условиях химически индуцированного канцерогенеза снижают в кератиноцитах содержание нуклеиновых кислот и сульфатированных веществ, повышают содержание ШИК-положительных веществ в шиповатом слое эпидермиса.

*Ключевые слова:* канцерогенез, кератиноциты, эпидермис.

Витамин А тормозит химический канцерогенез и вызывает обратное развитие химически индуцированных опухолей мышцы [3].

В опытах на грызунах было показано, что местное и общее применение умеренно повышенных доз витамина стимулирует синтез ДНК и активирует пролиферацию неизмененного и малигнизующегося эпителия кожи [8]. Если витамин А применялся длительное время, процесс ороговения угнетался и в кератиноцитах накапливались слизьсодержащие вещества, развивалась слизистая метаплазия. Пути влияния витамина А на процессы дифференцировки кератиноцитов в норме и в процессе канцерогенеза продолжают оставаться нераскрытыми.

В настоящей работе предпринята попытка сравнительного исследования дифференцировки кератиноцитов у животных, подвергнутых действию канцерогена, витамина А и вакцины БЦЖ.

*Материал и методика.* Опыты были поставлены на беспородных мышах-самцах, у которых индуцировали канцерогенез накожным нанесением 0,2%-ного 9, 10 диметил-1, 2 бензантрацена (ДМБА). В качестве витамина А использовали 2,5%-ный ретинол пальмитат. Вакцину БЦЖ вводили подкожно в области нанесения канцерогена и введения витамина А. Более подробное изложение условий эксперимента было опубликовано ранее [2]. Избранные адьюванты, как было показано ранее [6], задерживают химически индуцированный канцерогенез в коже.

Для морфометрического исследования использовали срезы кожи толщиной 5—6 мк, фиксированные в 10%-ном нейтральном формалине. Всю дальнейшую обработку материала проводили с соблюдением условий стандартизации [5]. Для определения содержания ДНК и РНК препараты окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами. Сульфатированные белки и сахара выявляли методом диасосочетания с использованием ДДД и прочного черного К. ШИК-положительные вещества были исследованы в препаратах, окрашенных шифф-йодной кислотой. Микрофотометрический анализ проводили на микроскопе «Карл Цейс» с микрофотометром «Зетопан-Райхерт» двухволновым методом при длинах волн 565 и 605 нм. При анализе содержания ДНК использовали зонд размером больше ядра; при микрофотометрии содержания веществ в цитоплазме подбирался зонд, соответствующий ширине цитоплазмы от ядра до цитолеммы. Измерения проводились в 500—700 клетках от 5—7 животных. О содержании веществ судили по средним величинам оптической плотности ядра и цитоплазмы, выраженным в условных единицах. Сравнимый материал обрабатывали методом вариационной статистики.

Таблица 1

Влияние совместного применения витамина А и вакцины БЦЖ на оптическую плотность нуклеиновых кислот в ядре и цитоплазме кератиноцитов при канцерогенезе у мышей. Окраска галлоцианин-хромовыми квасцами

Воздействие		Оптическая плотность ядра и цитоплазмы					
		на 45-й день			на 90-й день		
		базальный слой	шиповатый слой	зернистый слой	базальный слой	шиповатый слой	зернистый слой
0,2% ДМБА	ядро	43,0±0,4	46,0±0,4	50,0±0,3	45,0±0,4	51,0±0,5	50,0±0,5
	цитоплазма	50,0±0,2	47,0±0,3	50,0±0,4	51,0±0,6	57,0±0,4	54,0±0,5
0,2% ДМБА	ядро	30,0±0,1	40,0±0,1	34,0±0,8	27,0±0,4	32,0±0,3	29,0±0,4
2,5 % витамин А	цитоплазма	37,0±0,8	47,0±0,8	37,0±0,4	30,0±0,6	34,0±0,4	36,0±0,3
0,2% ДМБА	ядро	25,0±0,6	28,0±0,4	28,0±0,7	31,0±0,1	35,0±0,5	33,0±0,4
Вакцина БЦЖ	цитоплазма	36,0±0,5	36,0±0,6	30,0±0,6	42,0±0,5	42,0±0,4	34,0±0,4
0,2% ДМБА	ядро	35,0±0,2	38,0±0,6	37,0±0,3	28,0±0,6	38,0±0,4	35,0±0,5
2,5% витамин А	цитоплазма	39,0±0,4	44,0±0,4	38,0±0,4	39,0±0,4	40,0±0,4	40,0±0,4

Влияние совместного применения витамина А и вакцины БЦЖ на оптическую плотность веществ, содержащих SH-группы (а), и ШИК-положительных веществ (б) в кератиноцитах при канцерогенезе, индуцированном ДМБА у мышей. Окраска ДДД, прочным черным К и шифф-йодной кислотой.

Воздействие		Оптическая плотность цитоплазмы					
		на 45-й день			на 90-й день		
		базальный слой	шиповатый слой	зернистый слой	базальный слой	шиповатый слой	зернистый слой
0,2% ДМБА	а) SH — группы	11,0±0,3	22,0±0,4	30,0±0,5	9,0±0,1	18,0±0,4	22,0±0,1
	б) ШИК — положительные вещества	—	26,0±0,4	41,0±0,3	—	29,0±0,4	37,0±0,3
0,2% ДМБА	а) SH — группы	8,0±0,1	12,0±0,2	16,0±0,2	8,0±0,1	12,0±0,1	16,0±0,2
2,5% вит. А	б) ШИК — положительные вещества	—	31,0±0,2	40,0±0,4	—	31,0±0,6	38,0±0,4
0,2% ДМБА	а) SH — группы	12,0±0,5	24,0±0,4	31,0±0,3	7,0±0,7	12,0±0,1	17,0±0,8
	б) ШИК — положительные вещества	—	29,0±0,1	37,0±0,6	—	31,0±0,4	36,0±0,2
0,2% ДМБА	а) SH — группы	9,0±0,1	15,0±0,5	21,0±0,7	11,0±0,4	19,0±0,5	19,0±0,6
2,5% вит. А, вакцина БЦЖ	б) ШИК — положительные вещества	—	32,0±0,6	43,0±0,5	—	30,0±0,3	39,0±0,2

*Результаты и обсуждение.* В сравнении с предыдущими исследованиями, в которых было показано, что в кератиноцитах неизменной кожи содержание ДНК и РНК возрастает от базального слоя к шиповатому и вновь уменьшается по мере перехода клеток от шиповатого к зернистому слою [10, 13, 14], на коже нанесение ДМБА, при той же тенденции в целом, делало ее менее выраженной. Витамин А и вакцина не изменяли динамики этих показателей: кератиноциты продолжали увеличивать содержание ДНК и РНК от базального к шиповатому слою и снижать его от шиповатого к зернистому. Видимо, этот процесс отражает генетически закрепленную прочность направления дифференцировки этого вида эпителия. Совместное нанесение на кожу ДМБА и витамина А снижало эти показатели, что оказалось еще более выраженным как при иммунизации животных вакциной БЦЖ, так и при совместном применении этих двух адъювантов (табл. 1). Таким образом, витамин А и вакцина БЦЖ снижают в кератиноцитах содержание нуклеиновых кислот путем омоложения клеточной популяции. Из этих данных следует, что витамин А и вакцина БЦЖ в своем влиянии на пролиферацию кератиноцитов имеют общие точки приложения. Таковой может стать их способность неспецифически стимулировать иммунную защиту (эта способность доказана как в отношении вакцины БЦЖ, так и витамина А) [1, 3, 6].

Сходные изменения прослеживаются и в содержании сульфатированных и ШИК-положительных веществ. Снижение содержания сульфатированных веществ под действием витамина А развивается раньше, чем под действием БЦЖ, и отмечается уже к 45-му дню. Что касается ШИК-положительных веществ, то их количество увеличивается под действием раздельного и совместного применения обоих адъювантов в шиповатом слое на 45-й и 90-й дни опыта (табл. 2). Все это может означать, что способность угнетать кератинизацию и стимулировать мукоидизацию кератиноцитов не является исключительной особенностью механизма действия витамина А—регуляция этого процесса может быть опосредованной и неспецифичной.

Исходя из этих данных, в качестве рабочей гипотезы можно высказать предположение о том, что витамин А, связываясь с клетками-мишенями, делает их чувствительными (более чувствительными) к лимфоцитарному регулирующему влиянию и в то же время, являясь адъювантом, активизирует это влияние. С этим коррелируют данные, согласно которым иммунодепрессанты, в частности гидрокортизон, снимают противоопухолевое действие витамина А [8], а также данные о том, что опухоли, не имеющие белков-рецепторов к витамину А, не чувствительны к его действию [12].

Ерванский государственный медицинский институт

Поступило 16.I 1981 г.

ԳՆԹ, ՌՆԹ ՇԻԿ-ԳՐԱԿԱՆ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ՄՈՐՖՈՄԵՏՐԻԿ ԱՆԱԼԻԶԸ ՄԿՆԵՐԻ  
ԿԵՐԱՏԻՆՈՑԻՏՆԵՐՈՒՄ ՎԻՏԱՄԻՆ Ա-Ի, ԲՅԺ-Ի ԵՎ 9—10  
ԴՄԲԱ-Ի ԱԶԳԵՅՈՒԹՅԱՄԲ

Վ. Ի. ՆՈՋԴՐԻՆ, Մ. Զ. ԲԱԽՇԻՆՅԱՆ, Ա. Վ. ԱՋՆԱՌԻՅԱՆ, Ն. ՅԱ. ԱՐՏՅՈՒՆԻՆԱ

Կատարված հետազոտությունը ցույց է տվել, որ քիմիական կանցերո-  
ղինեզի ժամանակ վիրտամին Ա-ի և ԲՅԺ-վակցինայի ազդեցության հետևան-  
քով տեղի է ունենում կերատինոցիտներում նուկլեինաթթուների և սուլֆա-  
տա՜ նյութերի նվազում էպիդերմիտի փշաձև բջիջներում, Շիկ-դրական նյու-  
թերի ավելացում:

THE MORPHOMETRIC ANALYSIS OF DNA, RNA, SULPHATE  
AND SHIK POSITIVE SUBSTANCE CONTENT UNDER  
THE EFFECT OF VITAMIN A, BCG  
AND 9—10 LIMEHYLBENSANTRACENE  
IN KERATINOCYTES OF MICE

V. I. NOSDRIN, M. Z. BAKHSHINIAN, A. V. ASNAURIAN,  
N. Ya: ARTYUKHINA

It has been shown that vitamin A and the vaccin BCG under the  
conditions of induced cancerogenesis decrease the content of nucleic  
acid and sulphate substances in keratinocytes and increase the content  
of Shik-positive substances in separate layer of epidermis.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Афанасьев Ю. И., Ноздрин В. И., Бахшиян М. З. Седьмой нац. конгр. по анатомии, гистологии, эмбриологии. 3, Варна, 1978.
2. Бахшиян М. З., Ноздрин В. И., Азнаурян А. В. Журн. exper. и клинич. медицины, 19, 5, 19—25, 1979.
3. Ноздрин В. И., Артюхина Н. Я., Трофимов Н. В. Мат-лы 3-й зональной межвузовск. конф. по условиям регенерации органов и тканей живогных и ее стимуляции, 60—61, Ереван, 1978.
4. Ноздрин В. И., Бахшиян М. З., Артюхина Н. Я. Мат-лы II Всесоюзн. симп. по соматической полиплоидии, 80—84, Ереван, 1977.
5. Ноздрин В. И., Янковский А. Н., Мурников В. Г. Тез. докл. 3-го семинара «Развитие общей теории функциональных систем», 173—176, М., 1977.
6. Afanasjew Y. Y., Nosdrin W. J. Folia morphologica, 28, 294—297, 1980.
7. Gobbi M., Rugerri D., Vaccarani M. Haematologia, 5, 62, 529—536, 1977.
8. Holder Y. W., Boutwell A. Fed. Proc., 37 (3), 232, 1978.
9. Kennedy I., Novar Th. Int. I. Radiol and Oncol. Biol., 2, 7—8, 685—691, 1977.
10. Levi J. S., Polliack A. Pathol. Microbiol. (Basel), 5, 34, 282—288, 1969.
11. Olsson L., Florentin Y., Kiger W., Mathe G. J. Nat. Cancer. Inst., 59, 4, 1297—1306, 1977.
12. Wiggert B., Russel P., Lewis M., Chader G. Biochem., Biophys. Res. Comm., 79(1), 218—225, 1977.
13. Polliack A., Levi J. S. Oncology, 22 (2—3), 129—135, 1963.
14. Polliack A., Levi J. S. Ann. Ital. Dermatol. Clin. Sper., 25(2), 184—191, 1971.