

УДК 616.5—006.6:612.017.1

М. З. БАХШИНЯН, В. И. НОЗДРИН, А. В. АЗНАУРЯН

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА А И ВАКЦИНЫ БЦЖ НА СОДЕРЖАНИЕ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК И ЛИМФОЦИТОВ В ДЕРМЕ ПРИ ХИМИЧЕСКОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ КОЖИ У МЫШЕЙ

Изучались количественные изменения иммунокомпетентных клеток в дерме кожи при химическом канцерогенезе, индуцированном накожным нанесением ДМБА.

Установлено, что при появлении у животных папиллом и раков кожи содержание лимфоцитов и плазматических клеток уменьшается. Из примененных адьювантов (витамин А и вакцина БЦЖ) стимулирующее влияние витамина А особенно наглядно.

Главными кооперирующими клетками при индукции иммунного ответа являются Т- и В-лимфоциты и мононуклеарные фагоциты. В литературе распространено мнение, что после захвата и переработки антигена мононуклеарными фагоцитами последние, вероятно, передают лимфоидным клеткам комплекс РНК-антиген, который стимулирует лимфоидные клетки к трансформации в плазматические являющиеся основными продуцентами иммуноглобулинов [2, 3, 6, 7, 9]. Естественные антитела выполняют физиологические функции, нарушение которых может составлять определенное звено в развитии злокачественных новообразований [6—8].

До настоящего времени остаются неизвестными причины прогрессии злокачественных опухолей. В силу каких-то причин Т-лимфоциты теряют способность к распознаванию чужеродного антигена, ассоциированного с опухолью [12]. Не исключено, что блокирующий фактор синтезирует Т-клетки. В настоящее время известно, что иммунодефицитный статус у опухоленосителей обусловлен нарушением отдельных этапов иммунопоэза: миграции Т- и В-лимфоцитов, их кооперативного взаимодействия [5].

В связи с вышеизложенным возникает определенный интерес к изучению количественных изменений лимфоцитов и плазматических клеток в дерме в условиях химического канцерогенеза при неспецифической стимуляции иммунокомпетентной системы.

Материал и методика исследований

Опыты поставлены на 120 беспородных мышках-самцах весом $18,5 \pm 1,5$ г. Химический канцерогенез индуцировали накожным нанесе-

нием бензолного 0,2% раствора 9,10-диметил-1,2-бензантрацена (ДМБА). В качестве витамина А использовали бензолный 2,5% раствор ретинола пальмитата. Препараты наносили на кожу межлопаточной области по 2 капли 3 раза в неделю пипеткой со стандартным диаметром концевого отверстия в течение 100 дней. Вакцину БЦЖ вводили подкожно в области нанесения канцерогена и витамина А по 4×10^{-6} г каждому животному в начале опыта и в период появления папиллом и раков. Животных разбили на 4 группы по 30 в каждой: I группа получала только ДМБА; II—ДМБА и витамин А; III—ДМБА и вакцину БЦЖ; IV—ДМБА, витамин А и БЦЖ. На 45 и 90-й дни опыта, когда развивались папиллома и рак, часть животных забивали, кожу фиксировали в 10% растворе формалина, заливали в парафин; срезы толщиной в 5—6 микрон окрашивали гематоксилин-эозином и по Браше. Лимфоциты и плазматические клетки подсчитывали в 100 полях зрения сосочкового и сетчатого слоев дермы в препаратах от каждого животного. Полученный материал был подвергнут статистической обработке. Данные подсчета приведены в табл. 1, 2.

Результаты и обсуждение

В результате исследования было обнаружено (табл. 1), что в течение эксперимента в дерме содержание плазматических клеток поддерживается на определенном постоянном уровне. Оно снижается лишь тогда, когда в эпителии развиваются качественные туморогенные изменения, такие как папилломатоз и инфильтрирующий рост. Нанесение на кожу канцерогена вместе с витамином А снижает содержание плазматических клеток как у животных с выраженными внешними проявлениями туморогенеза, так и без них. Стимуляция иммунокомпетентной системы организма хозяина подкожным введением БЦЖ вызывает к 45-му дню, как и в случае добавки витамина А, уменьшение частоты встречаемости плазматических клеток. Но в отличие от витамина А этот показатель к 90-му дню выравнивается. Подобное явление имело место как у тех животных, которые 90-му дню имели папилломы и раки, так и у тех, кожа которых внешне не была изменена. Совместное применение витамина А и БЦЖ задерживает снижение частоты встречаемости плазматических клеток, приближая этот показатель к соответствующему контролю.

Что касается лимфоцитов (табл. 2), то нанесение на кожу канцерогена сопровождается появлением в коже довольно значительного количества этих клеток, число которых по мере развития папиллом и раков уменьшается. Добавка к канцерогену витамина А, иммунизация животных вакциной БЦЖ, а также совместное применение этих воздействий в определенной мере препятствует такому снижению. При этом у вакцинированных животных с внешним проявлением туморогенеза увеличение количества лимфоцитов было особенно высоким.

Таблица 1

Влияние витамина А и вакцины БЦЖ на содержание плазматических клеток в дерме мышей в условиях канцерогенеза, индуцированного ДМБА

Группа	Воздействие	Содержание плазматических клеток у животных без видимых проявлений канцерогенеза		Содержание плазматических клеток у животных		
		45-й день	90-й день	с папилломами	с визуально различимыми раками	
I	ДМБА	247,6±15,3	246,6±2,5	180,75±5,46	183±5,3	
II	ДМБА+витамин А	197±13,8	105,5±14,4	138±5,5	100,5±20,6	
III	ДМБА+вакцина БЦЖ	122±12,1	240,1±13,3	80±9,8	423±23,3	
IV	ДМБА+витамин А+ +вакцина БЦЖ	122,4±20,1	212±21,4	187±10,7	132±8,0	
P ₁ между показателями 45 и 90-го дней в I группе				P ₁ <0,05	P _{1a} >0,05	P ₁₆ <0,01
P ₂ „ „ „ 45-го дня и папилломами в I группе				P ₂ >0,01	P _{2a} >0,02	P ₂₆ <0,01
P ₃ „ папилломами и раками в I группе				P ₃ >0,01	P _{3a} >0,05	P ₃₆ <0,05
P ₄ „ „ 90-го дня и папилломами в I группе				P ₄ >0,001	P _{4a} >0,02	P ₄₅ <0,5
P ₅ „ папилломами и раками в I группе				P ₅ >0,001	P _{5a} <0,05	P ₅₆ <0,05
P ₆ „ „ папиллом и раков в I группе				P ₆ <0,05	P _{6a} >0,001	P ₆₆ <0,1
P _{1a} —P _{6a} —те же данные во II группе						
P ₁₆ —P ₆₆ —те же данные в III группе						

Таблица 2

Влияние витамина А и вакцины БЦЖ на содержание лимфоцитов в дерме мышей в условиях канцерогенеза, индуцированного ДМБА

Группа	Воздействие	Содержание лимфоцитов			
		у животных без видимых проявлений канцерогенеза		у животных с папилломами	у животных с визуаль-но различными раками
		45 дней	90 дней		
I	ДМБА	569±31	472±32	541±64	375±23
II	ДМБА+витамин А	571±26	452±13	649±24	469±36
III	ДМБА+вакцина БЦЖ	572±1	459±81	517±64	679±21
IV	ДМБА+витамин А+ +вакцина БЦЖ	435±10	380±30	730±60	542±33
P ₁ — между показателями 45 и 90-го дней без проявлений канцерогенеза во II группе				P ₁ <0,01	P _{1a} >0,5
P ₂ — между показателями 45 дня и папилломами во II группе				P ₂ >0,01	P _{2a} >0,01
P ₃ — » » 45-го дня и раками во II группе				P ₃ <0,1	P _{3a} >0,05
P ₄ — » » 90-го дня и папилломами во II группе				P ₄ <0,001	P _{4a} >0,05
P ₅ — » » 90-го дня и раками во II группе				P ₅ <0,5	P _{5a} <0,01
P ₆ — » » папиллом и раков во II группе				P ₆ <0,01	P _{6a} >0,05
P _{1a} — P _{6a} — те же показатели в IV группе					

Результаты подсчета плазматических клеток выявили к 45-му дню эксперимента их наиболее высокое содержание у животных, получавших ДМБА. Эти данные позволяют нам разделить точку зрения Л. Л. Хунданова [7], что именно в ранние сроки канцерогенеза организм оказывается наиболее активным в мобилизации процесса антителообразования. Однако использованные адьюванты не способствовали увеличению числа названных клеток в указанные сроки, а напротив, уменьшали содержание плазматических клеток, особенно у животных III и IV групп. Механизм действия адьювантов окончательно не выяснен, но накапливаются сведения о том, что стимуляция иммунной системы адьювантами происходит в результате их вмешательства в самые начальные этапы антителообразования, предшествующие образованию специфической молекулы антитела.

Возможно, точкой приложения адьювантов на этой стадии канцерогенеза являются не плазматические клетки, а мононуклеарные фагоциты, поскольку в этой стадии именно они синтезируют и выделяют множество медиаторов, участвующих в формировании воспалительного процесса [4]. Полученные результаты можно объяснить также сильно выраженной воспалительной реакцией, вызванной адьювантами, ибо необходим какой-то оптимальный уровень воспаления, чтобы оно оказало благоприятное влияние на иммуногенез. Слабая воспалительная реакция не сказывается на уровне антителообразования, а сильная может привести к ее угнетению [4].

На 90-й день эксперимента, пока еще не различаются визуальные проявления канцерогенеза, картина несколько иная — наиболее высокое число плазматических клеток у животных I группы и примерно таково же оно в III группе. В целом в эти сроки влияние адьювантов более выражено, что сказывается в некотором возрастании числа плазматических клеток. Особенно это касается вакцины БЦЖ.

При появлении папиллом и раков число плазматических клеток заметно уменьшается во всех группах. В I группе это, вероятно, можно объяснить блокирующим влиянием опухолевого антигена на продукцию антител. Наиболее высоко в этот период число указанных клеток в IV группе, что, вероятно, следует объяснить весьма эффективным совместным влиянием адьювантов на данные иммуноциты, при раздельном же их применении в этот период канцерогенеза наиболее эффективен витамин А. Совместное использование указанных веществ при появлении раков не вызывает заметного увеличения числа плазматических клеток, чего нельзя сказать о вакцине БЦЖ, под влиянием которой в этот срок наблюдается резкое возрастание числа антителопродукцирующих клеток в дерме.

В отношении лимфоцитов можно отметить следующее: к 45-му дню эксперимента количество лимфоцитов у животных всех групп примерно одинаково. Отсутствие выраженного влияния адьювантов в эти сроки можно объяснить тем, что точкой их приложения в этот период, видимо, являются не лимфоциты, а мононуклеарные фагоциты.

Ряд авторов [11] на основании собственных исследований заключают, что терапевтический эффект липополисахаридных эндотоксина и вакцины БЦЖ в онкологии основывается на их влиянии на мононуклеарные фагоциты, вследствие чего последние выделяют фактор, цитотоксически действующий на клетки с нарушенным циклом деления.

На 90-й день эксперимента во всех группах число лимфоцитов уменьшается. Это, видимо, является местным отражением той иммунодепрессии, которую вызвал канцероген.

В критические периоды туморогенеза—при появлении у животных контрольной группы папиллом и раков—раздельное и в большей мере совместное применение адьювантов сопровождается существенным повышением содержания лимфоцитов в дерме. Такой процесс развивается параллельно с торможением внешнего проявления канцерогенеза [1].

Эти наблюдения в определенной мере позволяют допустить, что адьюванты стимулируют пролиферацию каких-либо клонов лимфоцитов, которые ответственны или принимают участие в выбраковке опухолевых клеток и сдерживании опухолевого роста.

Кафедра гистологии
I ММИ и Ереванского
медицинского института

Поступила 16/III 1979 г.

Մ. Ջ. ԲԱԽՇԻՆՏԱՆ, Վ. Ի. ՆՈԶԴՐԻՆ, Ա. Վ. ԱԶՆԱՍԻՐՅԱՆ

Ա ՎԻՏԱՄԻՆԻ ԵՎ ԲՅԺ ՎԱԿՑԻՆԱՅԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՊԼԱԶՄԱՏԻԿ
ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԵՎ ԼԻՄՖՈՑԻՏՆԵՐԻ ՔԱՆԱԿԻ ՎՐԱ ԲՈՒՆ ՄԱՇԿՈՒՄ
ՔԻՄԻԱԿԱՆ ԿԱՆՑԵՐՈԳԵՆԵԶԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ՄԿՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ուսումնասիրվել են պլազմատիկ բջիջների և լիմֆոցիտների քանակական փոփոխությունները մկների քուն մաշկում Ա վիտամինի և ԲՅԺ վակցինայի ադեցիտների հետևանքով քիմիական կանցրոգենեզի ժամանակ, որը առաջացվել է 9,10 դիմեթիլ 1,2 բենզանտրացենի միջոցով:

Հետազոտության շնորհիվ պարզվել է, որ պլազմատիկ բջիջների քանակը պակասում է փորձի ուշ շրջաններում, երբ առաջանում են շարորակ ուռուցքներ: ԲՅԺ վակցինային օգտագործելու հետևանքով վերոհիշյալ բջիջների քանակը որոշ չափով ավելանում է:

Լիմֆոցիտների քանակը զգալիորեն ավելանում է Ա վիտամինի և ԲՅԺ վակցինայի օգտագործման հետևանքով:

M. Z. BAKHSHINIAN, V. I. NOZDRIN, A. V. AZNAURIAN

THE EFFECT OF VITAMIN A AND BCG VACCINE ON PLASMATIC
CELLS AND THE LYMPHOCYTE QUANTITY IN DERMA IN
CHEMICAL CANCEROGENESIS IN MICE

There have been studied the quantitative changes of immunocompetent cells in derma in chemical cancerogenesis, induced by epicuta-

neous infliction of DMBA. It is established, that in development of papillomas and carcinomas of the skin in animals the content of lymphocytes and plasmatic cells decreases. Among the adjuvants used (vitamin A and BCG) the stimulating effect of vitamin A is particularly obvious.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ноздрин В. И., Артюхина Н. Я., Трофимов В. М. Тезисы докладов III зональной межвузовской конференции по условиям регенерации органов и тканей животных и ее стимуляции. Ереван, 1978, стр. 60.
2. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Батырбеков А. А. ДАН. 1970, 226, стр. 1446.
3. Хаитов Р. М., Петров Р. В., Гамбаров С. С., Норимов А. Ш., Блинов В. А. Вестник 4, стр. 990.
4. Учитель И. Я. Макрофаги в иммунитете. М., 1978.
5. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Атауллаханов Р. И., Сидорович И. Г. ДАН, 1977, 237, АМН СССР, 1976, стр. 8.
6. Хунданова Л. Л. Вопросы онкологии, 1970, 16, 2, стр. 119.
7. Хунданова Л. Л., Хунданов Л. Л. Иммунология канцерогенеза: М., 1978.
8. Шевченко В. С. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1969, 68, 4, в. 8, стр. 65.
9. Chase M. W. J. Exper. Med., 1974, 86, 489.
10. Hellström K., Hellström J. Advances Immunol., 1974, 18, 209.
11. Hibbs J., Lambert L., Remington J. Science, 1972, 117, 998.
12. Klein G. Harvey Lect., 1973, 69, N-Y. 1975, 71.
13. Martin E., Martin W. Inter. J. Cancer, 1978, 15, 4, 653.