УДК 611.314.08 - 613.55

Дослідження впливу комбінації солей важких металів на клітини стовбурової зони амелогенезу щурів *in vitro*

Investigation of the Influence a Combination of Heavy Metals Salts in Cells of the Rats Stem Zone Amelogenesis *in vitro*

Кузенко Є.В.
Медичний інститут Сумського державного університету, каф. патоморфології (зав. — проф. А. М. Романюк)
Y.V. Kuzenko

Резюме У статті висвітлено особливості культивування клітин стовбурової зони амелогенезу щурів з невеликою концентрацією солей важких металів. Проведено якісний аналіз мітохондрій клітин стовбурової зони амелогенезу щурів.

Summary The article is hovering over the cultivation of stem cells rats from amelogenesis area with low concentration of heavy metals. A qualitative analysis of mitochondria in cultivation cells.

Ключові слова клітини, амелогенез, культивування, стовбурова зона

Key words cells, amelogenesis, cultivation, stem zone

У сучасній стоматології на особливу увагу заслуговують питання профілактики захворювань твердих тканин зубів. Враховуючи велику поширеність стоматологічних захворювань у дітей та рівень надання стоматологічної допомоги, дослідження основних стоматологічних захворювань та їх раннє лікування в дитячому віці постійно перебувають в центрі уваги вчених [1, 4].

Проблема екзогенних та ендогенних чинників, які впливають на формування та мінералізацію емалі, досі залишається актуальною.

Щурі мають постійний ріст твердих тканин зубів, тому можуть бути об'єктом для моделювання різних порушень амелогенезу [5].

Мета дослідження — встановити особливості культивування in vitro клітин стовбурової зони амелогенезу щурів-самців в інтактному середовищі та з додаванням комбінації солей важких металів.

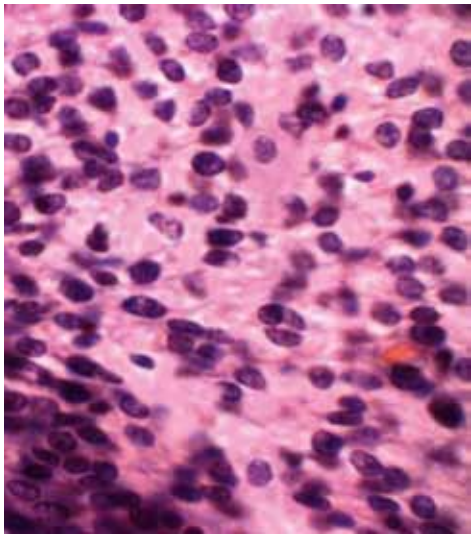
Матеріали та методи дослідження

Під ефірним наркозом за допомогою хірургічної ложечки взяли клітини стовбурової зони щурів-самців та помістили їх у розчин живильного середовища. Першу групу (контроль) становили інтактні клітини від двох статевонезрілих та статевозрілих щурів, які культивувалися в мінеральному середовищі Ігла з 10% ембріональною сироваткою теляти [2, 3]. Клітини другої групи культивувалися в живильному середовищі з додаванням СВМ (солі важких металів): цинку ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) — 0,5мг/л, міді ($CuSO_4 \times 5H_2O$) — 0,1 мг/л, заліза ($FeSO_4$) — 1,0 мг/л, марганцю ($MnSO_4 \times 5H_2O$) — 0,01мг/л, свинцю ($Pb(NO_3)_2$) — 0,01мг/л, хрому ($K_2Cr_2O_7$) — 0,01мг/л (кількість цинку, свинцю, хрому, заліза, міді, марганцю в розчині з клітинами зменшили в 10 разів порівняно з концентрацією у водоймах північних регіонів Сумської області). З метою вивчення морфологічної будови клітини препарату забарвлювали гематоксилін-еозином та гематоксиліном Гейденгайна для забарвлювання мітохондрій. Забарвлювання проводили за стандартними методами.

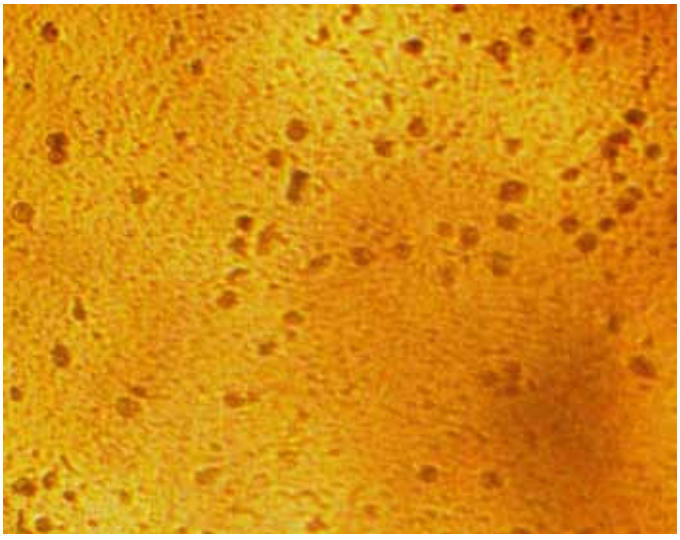
Результати досліджень та їх обговорення

Формування тимчасових та постійних зубів людини починається у внутрішньоутробний період, тому, на нашу думку, важливо знати, як фактори навколишнього середовища (зокрема, солі важких металів) впливають на амелогенез.

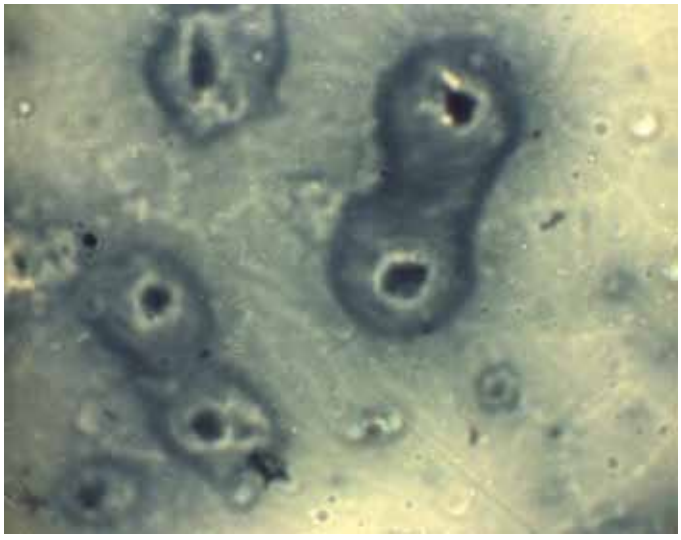
Стовбурова зона амелогенезу при гістологічному дослідженні представлена округлими клітинами. Ядра клітин мають різний вигляд та змінюються від округлої до овальної форми. Трапляються нормохромні, гіперхромні та гіпохромні ядра (мал. 1).



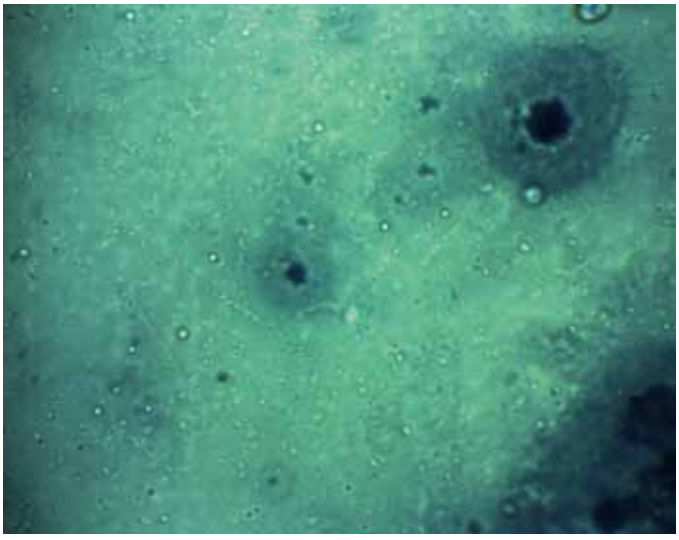
Мал. 1. Стовбурова зона амелогенезу щурів. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення ×1500



Мал. 2. Культивовані клітини стовбурової зони амелогенезу щурів у живильному середовищі на 2-гу добу культивування. Збільшення ×80



Мал. 3. Клітини першої групи щурів. Забарвлення гематоксиліном Гейденгайна. Збільшення ×1500



Мал. 4. Клітини другої групи щурів. Забарвлення гематоксиліном Гейденгайна. Збільшення ×1500

Клітини в рідкому середовищі і в тканинах приєднані одна до одної та до скла флакона для культивування за допомогою мукопротеїдів або колагену. Крім того, деякі клітини потребують великої кількості іонів Са++ та Mg++ для з'єднання.

Досліджуючи клітини стовбурової зони першої групи в живильному середовищі Ігла з 10% ембріональною сироваткою теляти (MCI 10), ми з'ясували, що клітини мали значну мітотичну активність — упродовж 3 тижнів не прикріплялися до скла флакона, де культивувалися (мал. 2). Під час дослідження росту клітин їх кількість упродовж 5 діб у незакріпленому на склі стані збільшилася в 12 разів. Темп росту клітин відповідав темпу росту клітин у субстраті за Dr. David Lewis. Під час забарвлювання гематоксиліном Гейденгайна було з'ясовано, що велика кількість мітохондрій міститься в цитоплазмі та дає інтенсивне синє забарвлення (мал. 3), а це свідчить про значну метаболічну активність досліджуваних клітин. Ядра клітин першої групи в культурі забарвлювалися нормохромно.

Пересіваючи клітини другої групи на середовище з додаванням солей важких металів, ми з'ясували, що: 1) клітини втрачали мітотичну активність, про що свідчить їх поодиноке перебування в середовищі та незначна інтенсивність забарвлення цитоплазми гематоксиліном Гейденгайна (мал. 4); 2) клітини переставали ділитися та нарощувати біомасу; 3) на склі середовища, де культивувалися клітини другої групи, починали з'являтися кристали солей середовища.

Висновки

У результаті дослідження було встановлено, що солі важких металів впливають на активність клітин стов-

бурової зони. Так, при зменшенні кількості солей важких металів у живильному середовищі в 10 разів, порівняно з базовою концентрацією у водоймах північних регіонів Сумської області, настало припинення активності клітин стовбурової зони амелогенезу. На основі проведених досліджень можна з упевненістю стверджувати про негативний вплив комбінації солей важких металів на амелогенез, як і про те, що профілактику стоматологічних захворювань твердих тканин треба починати внутрішньоутробно з 10-го тижня ембріогенезу.

Література

1. Антонішин Б. В. Хімічний склад емалі та її карієсрезистентність / Б. В. Антонішин, О. М. Наконечна // Український стоматологічний альманах. — 2001. — № 6. — С. 26 — 27.
2. Адамс Р. Методы, культуры клеток для биотехнологов / Р. Адамс. — М. : Мир, 1983. — 256 с.
3. Клеточная инженерия / [Бутенко Р.Г., Гусев М.В., Киркин А.Ф. та ін.]. — М. : Высшая школа, 1987. — 127 с.
4. Романюк А. М. Порівняльний аналіз розповсюдженості та інтенсивності карієсу серед дітей різних екологічних регіонів Сумщини / А. М. Романюк, Є. В. Кузенко, О. І. Кузенко // Вісник СумДУ. Серія Медицина. — 2011. — №1. — С. 198 — 201.
5. Wright J. T. Human and mouse enamel phenotypes resulting from mutation or altered expression of AMEL, ENAM, MMP20 and KLK4. / J. T. Wright, T. C. Hart, P. S. Hart, et al. // Cells Tissues Organs. — 2009. — 189. — P. 1— 4.

Рекомендовано Міністерством освіти і науки, молоді та спорту України як навчальний посібник для студентів вищих медичних навчальних закладів IV рівня акредитації

Стан слизової оболонки порожнини рота у дітей при гострих інфекційних захворюваннях

За редакцією д.м.н., проф. Р. В. Казакової

Казакова Р.В. Стан слизової оболонки порожнини рота у дітей при гострих інфекційних захворюваннях/Р.В. Казакова, Г.Б. Матейко, М.Н. Воляк та ін. – Львів : ГалДент, 2012.– 152 с., 43 мал.
Формат: А5, м'яка палітурка, українською мовою

GalDent Publishing

З питань придбання звертайтесь:

Видавництво «ГалДент», вул. Пасічна, 36, м. Львів, 79038, тел./факс: +38 (032) 271-20-22, +38 (032) 271-22-72; e-mail: info@galdent.com.ua, www.galdent.com.ua