

УДК 611.314.08 - 613.55

© Кузенко Є. В. Романюк А. М., 2011

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЇ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА КЛІТИНАХ СТОВБУРОВОЇ ЗОНИ АМЕЛОГЕНЕЗУ ЩУРІВ IN VITRO****Кузенко Є. В. Романюк А. М.***Сумський державний університет, Медичний інститут*

**Кузенко Є. В. Романюк А. М.** Дослідження впливу комбінації солей важких металів на клітинах стовбурової зони амелогенезу щурів *in vitro* // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 153-154.

У статті показано особливості росту клітин стовбурової зони амелогенезу щурів з невеликою концентрацією солей важких металів. Проведено якісний аналіз мітохондрій клітин стовбурової зони амелогенезу щурів.

**Ключові слова:** амелогенез, культивування, клітини стовбурової зони

**Кузенко Е. В. Романюк А. Н.** Исследование влияния комбинации солей тяжелых металлов на клетках стволовой зоны амелогенезу крыс *in vitro* // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С.153-154.

В статье показаны особенности роста клеток стволовой зоны амелогенезу крыс с небольшой концентрацией солей тяжелых металлов. Проведен качественный анализ митохондрий клеток стволовой зоны амелогенезу крыс.

**Ключевые слова:** амелогенез, культивирование, клетки стволовой зоны

**Kuzenko Y. V.** Investigation of the influence a combination of heavy metals salts in cells of the rats stem zone amelogenesis *in vitro* // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 153-154.

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.

**Key words.** amelogenesis, cultivation, cells of the stem zone.

**Вступ.** Сучасна стоматологія характеризується особливою складністю питань профілактики захворювань твердих тканин зубів. Враховуючи велику поширеність стоматологічних захворювань у дітей, рівень надання стоматологічної допомоги, проблема дослідження основних стоматологічних захворювань та їх раннє лікування в дитячому віці постійно перебувають в центрі уваги медиків [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 росту *in vitro* клітин стовбурової зони амелогенезу щурів-самців в інтактному середовищі та з додаванням комбінації солей важких металів.

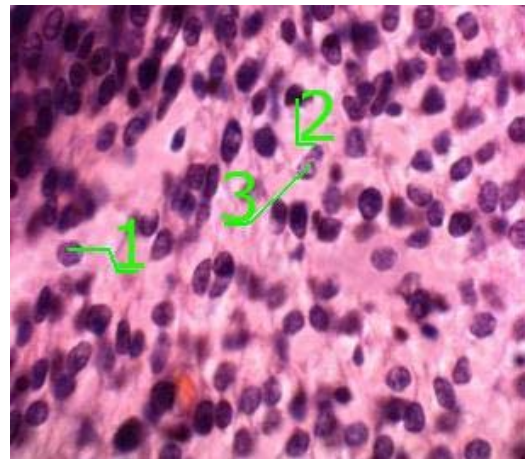
**Матеріали і методи дослідження.** Для досягнення поставленої мети під ефірним наркозом за допомогою хірургічної ложечки були взяті клітини стовбурової зони щурів-самців та поміщені в розчин живильного середовища. Першу групу (контроль) склали інтактні клітини від двох статевозрілих та статевозрілих щурів, які культивувалися в мінеральному середовищі Ігла з 10% ембріональної сироваткою теляти [2, 3]. Клітини 2-ї 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.

Для вивчення морфологічної будови клітини зафарбовували гематоксилін – еозином та гематоксиліном Гейденгайна. Фарбування проводилося за стандартними методами.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Закладка тимчасових та постійних зубів людини

відбувається внутрішньоутробно, 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 (рис. 1).

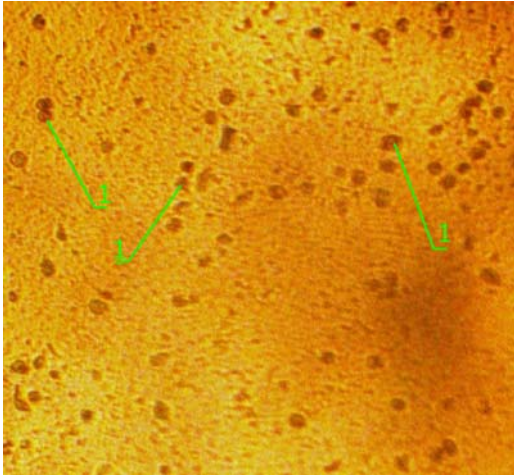


**Рисунок 1.** Стовбурова зона амелогенезу щурів. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення  $\times 1000$  Нормохромні ядра; Гіперхромні ядра; Гіпохромні ядра

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  $Ca^{++}$  та  $Mg^{++}$  для з'єднання.

Під час дослідження клітин стовбурової зони першої групи в живильному середовищі Ігла з 10% ембріональної сироваткою теляти (МСІ 10) було з'ясовано, що клітини мали значну мітотичну активність. Клітини впродовж 3 тижнів не

прикріплялися до скла флакона, де культивува-  
лися (рис. 2). Під час дослідження росту клітин  
їх кількість впродовж 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 фарбування гематок-  
силіном Гейденгайна було з'ясовано, що велика  
кількість мітохондрій знаходиться в цитоплазмі  
та дає інтенсивне синє забарвлення (рис. 3), що  
свідчить про велику метаболічну активність до-  
сліджуваних клітин. Ядра клітин першої групи в  
культури забарвлювалися нормохромно.



**Рисунок 2.** Клітини стовбурової зони амелогене-  
зу щурів у живильному середовищі на 2-гу добу куль-  
тивування. Збільшення  $\times 80$ . 1 Клітини в живильному  
середовищі

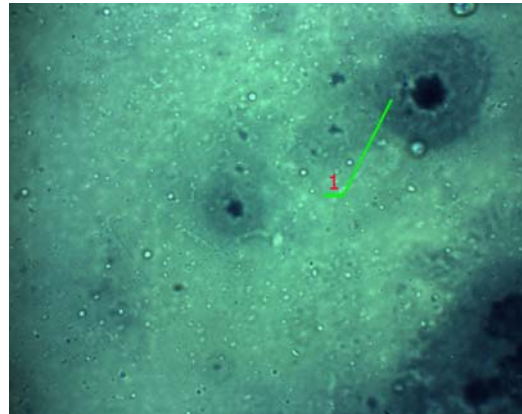


**Рисунок 3.** Клітини першої групи щурів. Забар-  
влення гематоксиліном Гейденгайна. Збільшення  
 $\times 1000$ . 1 Поділ клітин; 2 Інтенсивно зафарбована  
цитоплазма

При пересіванні клітин другої групи на сере-  
довище з додаванням солей важких металів нами  
було з'ясовано наступне: 1) клітини втрачали  
мітотичну активність, про що свідчать їх пооди-  
ноке перебування в середовищі та мала інтен-  
сивність забарвлення цитоплазми гематоксиліном  
Гейденгайна (рис. 4); 2) клітини не ділилися та  
не нарощували біомасу; 3) на склі середовища,  
де культивувалися клітини другої групи, почи-  
нали з'являтися кристали солей середовища.

**Висновки:** У результаті дослідження було  
встановлено, що солі важких металів впливають на

активність клітин стовбурової зони. Так, при зме-  
ншенні кількості солей важких металів у живиль-  
ному середовищі в десять разів стосовно базової  
концентрації у водоймах північних регіонів Сумсь-  
кої області настало припинення активності клітин  
стовбурової зони амелогенезу. На основі проведе-  
них досліджень можна з упевненістю стверджува-  
ти про негативний вплив комбінації солей важких  
металів на амелогенез. Також на підставі проведе-  
них досліджень можна зробити висновок, що  
профілактику стоматологічних захворювань твер-  
дих тканин треба починати внутрішньоутробно з  
10-го тижня ембріогенезу.



**Рисунок 4.** Клітини другої групи щурів. Забар-  
влення гематоксиліном Гейденгайна. Збільшення  
 $\times 1000$ . 1 Слабко забарвлена цитоплазма клітин

**Перспективи подальших досліджень.**  
Клітини стовбурової зони амелогенезу щурів  
перевірити CD-маркерами на наявність проана-  
мелобластів, проодонтобластів та стовбурових  
клітин. Отримати моношар анамелобластів,  
одонтобластів та провести їх диференціювання.

#### 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. Бутенко Р. Г. Клеточная инженерия / Р. Г. Бутенко, М. В. Гусев, А. Ф. Киркин, Т. Г. Корженевская, Е. Н. Маркарова. М.: Высшая школа, 1987 - 127 с.
4. Романюк А. М. Порівняльний аналіз розповсюженості 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.

Надійшла 14.09.2011 р.  
Рецензент: проф. В.І.Лузін