

Оценка развития энамелобластов моляров крыс на поздних стадиях эмбриогенеза с использованием морфометрического метода исследования

Белорусский государственный медицинский университет

Представлены результаты исследования морфометрических показателей развития энамелобластов моляров крыс в период позднего эмбриогенеза. Показатели площади, форм-фактора, элонгации и избыточности количественно отражают динамику морфогенеза клеток и могут служить для объективной оценки развития энамелобластов и эмалевого органа в целом. Выделено 2 периода в развитии эмалевого органа в изученные сроки: 17,5-18,5 сутки и 19,5-21 сутки, в начале каждого из которых темпы развития органа замедлены а в конце – ускорены.

Ключевые слова: одонтогенез, эмалевый орган, энамелобласт, площадь, форм-фактор, элонгация, избыточность, морфометрия

Одонтогенез требует углубленного изучения стоматологами, так как им часто приходится сталкиваться с различными врожденными аномалиями зубов. Кроме того, прогресс современной органотипической медицины подвигает исследователей к поиску технологий замещения зубов естественными трансплантатами. Создание тканеинженерных конструкций для дентогенеза de novo – реальная перспектива сегодняшнего дня ?7?.

В основном данные о развитии органов полости рта были получены около 40 лет назад и нуждаются в дополнении и уточнении [6,8]. Одной из самых новых в этой области является работа, авторы которой изучали распределение биологически активных веществ в развивающемся зубе на поздних этапах эмбриогенеза [5].

В настоящее время разработан системный морфометрический анализ основных патологических процессов и наиболее распространенных заболеваний. Подобные данные в отношении одонтогенеза немногочисленны [1,2]. Исследования пренатального развития зубов представлены единственной работой, авторы которой изучали морфометрию изменений одонтогенеза у крыс, вызванных малыми дозами ионизирующей радиации [4]. Однако в данном исследовании была произведена морфометрия изменений не отдельных клеток, а целых структур зачатков зубов.

Целью данного исследования явилось изучение морфометрических характеристик и закономерностей развития энамелобластов моляров верхней и нижней челюсти на разных участках эмалевого органа в эмбриогенезе крыс.

Материал и методы

В ходе исследования нами было изучено 10 серий эмбрионов белых крыс в возрасте 17,5; 18,5; 19,5 и 21 суток, что соответствуют периоду эмбриогенеза человека с 48 по 59 сутки. Толщина срезов – 10 мкм, окраска – гематоксилин и эозин. Изображения в компьютер вводились при помощи системы "Bioscan" при увеличении 40?, 100?, 200?, 400? и 1000?. Кариометрия энамелобластов произведена в программе "Scion Image". Определялись площадь, периметр, максимальная и минимальная длины ядер энамелобластов в фиссурах, а также на медиальных и дистальных бугорках моляров верхней и нижней челюсти. Обработка полученных количественных данных

проводилась в программе "Microsoft Excel" с определением элонгации и фактора формы. Элонгация является показателем функциональной активности клеток. Фактор формы является важной характеристикой, показывающей степень митотической активности клеток.

Всего было выполнено 2465 измерений. Цифровые данные обработаны методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Для изучения популяционных характеристик применен информационный анализ. Определялась избыточность системы как показатель разнородности популяции и функциональной активности клеток ??.

Результаты и обсуждение

В результате качественного визуального изучения энамелобластов можно было сделать заключение о неоднородности в форме и размерах клеток на разных поверхностях эмалевого органа (Рис. 1,2,3). Величина этих различий также была оценена количественно.

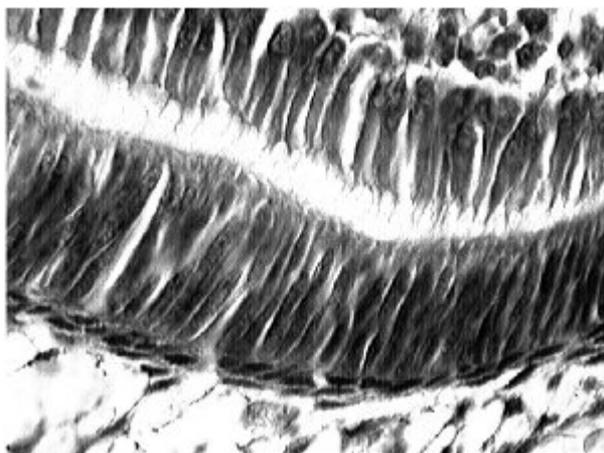


Рис.1. Энамелобласты на медиальном бугорке моляра верхней челюсти на 21 сутки эмбриогенеза крысы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 1000.

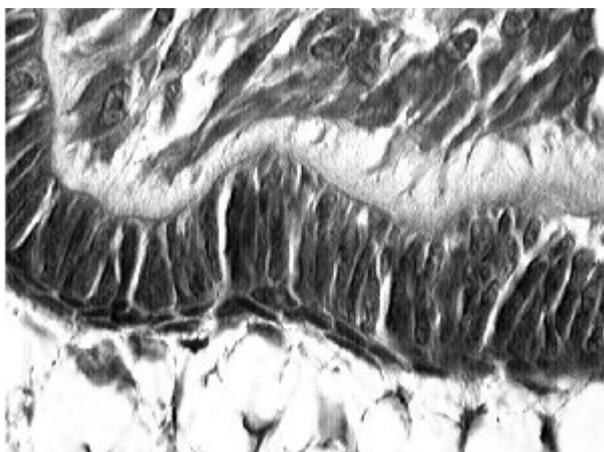


Рис.2. Энамелобласты в фиссуре моляра верхней челюсти на 21 сутки эмбриогенеза крысы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 1000.

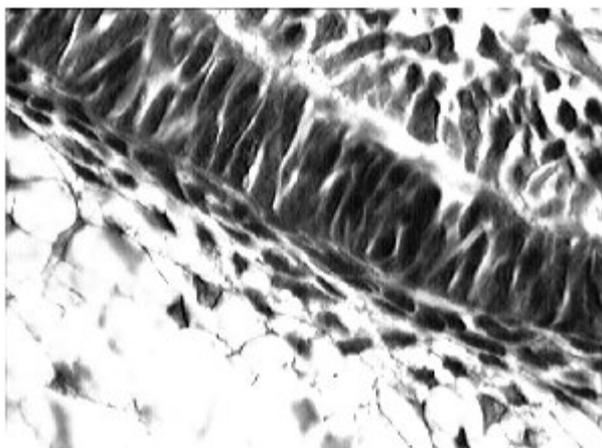


Рис.3. Энамелобласты на дистальном бугорке моляра верхней челюсти на 21 сутки эмбриогенеза крысы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 1000.

Наибольший прирост площади ядер энамелобластов наблюдался в фиссурах моляров: с $22,15 \pm 0,71$ на 17,5 сутки до $31,39 \pm 0,88$ ($p < 0,001$) на 21 сутки на нижней челюсти и с $18,21 \pm 0,50$ ($p < 0,001$) до $34,79 \pm 0,80$ мкм² соответственно на верхней челюсти. На дистальных бугорках площадь нарастала медленнее: с $20,85 \pm 0,42$ ($p < 0,001$) на 17,5 сутки до $26,90 \pm 0,90$ на 21 сутки на молярах нижней челюсти и с $18,56 \pm 0,53$ ($p < 0,001$) до $26,49 \pm 0,87$ мкм² соответственно на верхней челюсти. Во все сроки показатели площадей преобладали на медиальных бугорках, изменяясь при этом незначительно. Отсутствие динамики при высоких показателях площади может косвенно свидетельствовать о низкой митотической активности ядер энамелобластов на медиальных бугорках (Рис.4).

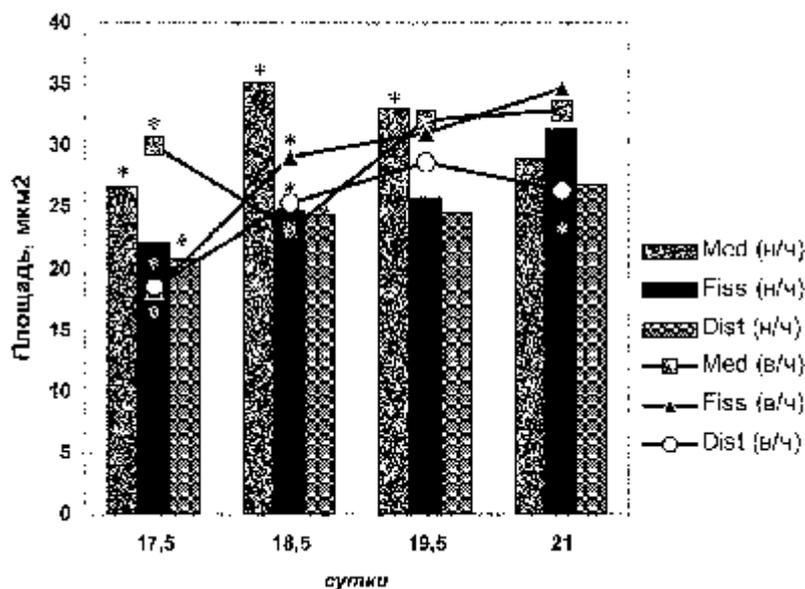


Рис.4. Динамика показателей площади энамелобластов.

• - $p < 0,001$

Максимальный форм-фактор наблюдался на 17,5 и 19,5 сутки эмбриогенеза. На 17,5 сутки он составил $0,37 \pm 0,01$ на медиальных бугорках, $0,47 \pm 0,01$ ($p < 0,001$) в фиссурах, $0,63 \pm 0,01$ ($p < 0,001$) на дистальных бугорках моляров нижней челюсти и $0,44 \pm 0,01$, $0,63 \pm 0,01$ ($p < 0,001$), $0,58 \pm 0,01$ ($p < 0,001$) на верхней челюсти соответственно. На 19,5 сутки фактор формы составил $0,44 \pm 0,01$, $0,53 \pm 0,01$ ($p < 0,001$), $0,58 \pm 0,01$ ($p < 0,001$) на нижней и $0,45 \pm 0,01$ ($p < 0,001$), $0,37 \pm 0,01$ ($p < 0,001$), $0,50 \pm 0,01$ ($p < 0,001$) на верхней челюсти (Рис.5).

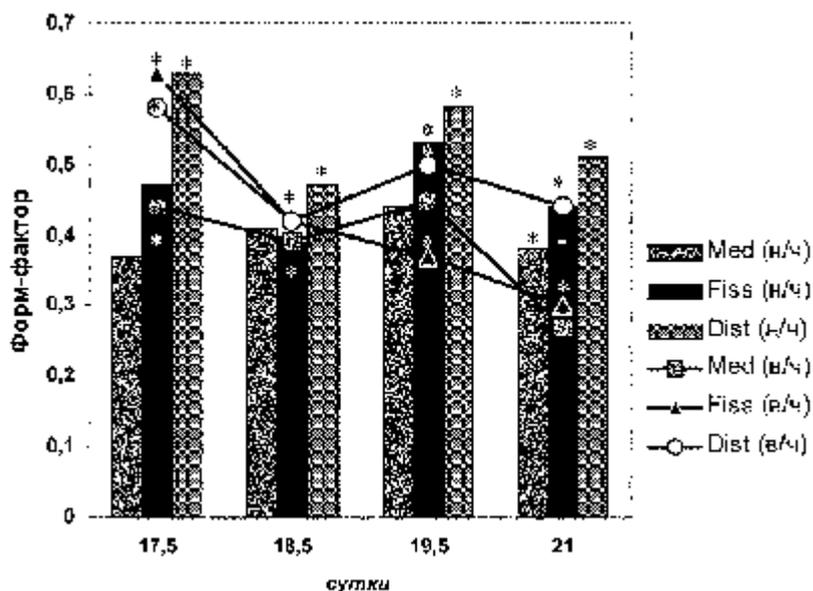


Рис.5. Динамика показателей форм-фактора энамелобластов.

• - $p < 0,001$

Наибольшие значения элонгации приходятся на медиальные бугорки моляров как нижней, так и верхней челюсти на всех стадиях развития. На нижней челюсти элонгация составила 5,27±0,13 на 17,5, 4,75±0,17 на 18,5, 4,18±0,14 на 19,5, 5,55±0,24 ($p < 0,001$) на 21 сутки. На верхней челюсти она равна 4,26±0,10 ($p < 0,001$), 5,16±0,19 ($p < 0,001$), 4,16±0,14 ($p < 0,001$) и 7,32±0,20 ($p < 0,001$) на 17,5, 18,5, 19,5 и 21 сутки соответственно. Высокие показатели элонгации свидетельствуют о наибольшей функциональной активности энамелобластов на медиальных бугорках на всех стадиях развития (Рис.6).

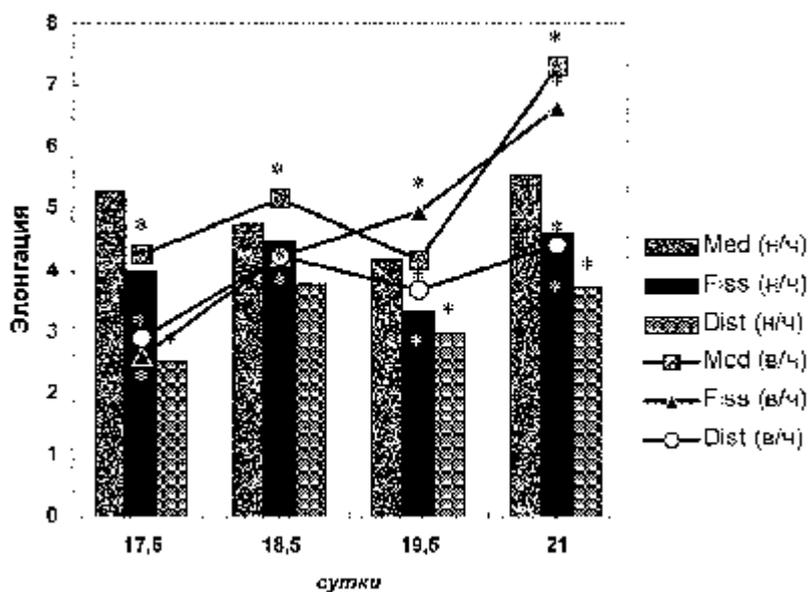


Рис.6. Динамика показателей элонгации энамелобластов.

• - $p < 0,001$

Максимальная избыточность наблюдалась на 17,5 и 19,5 сутки. На 17,5 сутки она составляла 32 в фиссурах, 50 на дистальных и 39 на медиальных бугорках моляров нижней челюсти и 45, 48, 37 на соответствующих участках моляров верхней челюсти.

На 19,5 сутки эти же показатели оказались равными 45, 35, 33 на нижней и 26, 33, 27 на верхней челюсти. В то же время показатели избыточности на 18,5 и 21 сутки ниже таковых на 17,5 и 19,5 сутки в 1,5 – 2 раза. Максимальная избыточность системы энамелобластов, наблюдаемая на 17,5 и 19,5 сутки, свидетельствует о низкой разнородности популяции клеток и одновременно высокой ее устойчивости к повреждающим факторам в эти сроки (Рис.7).

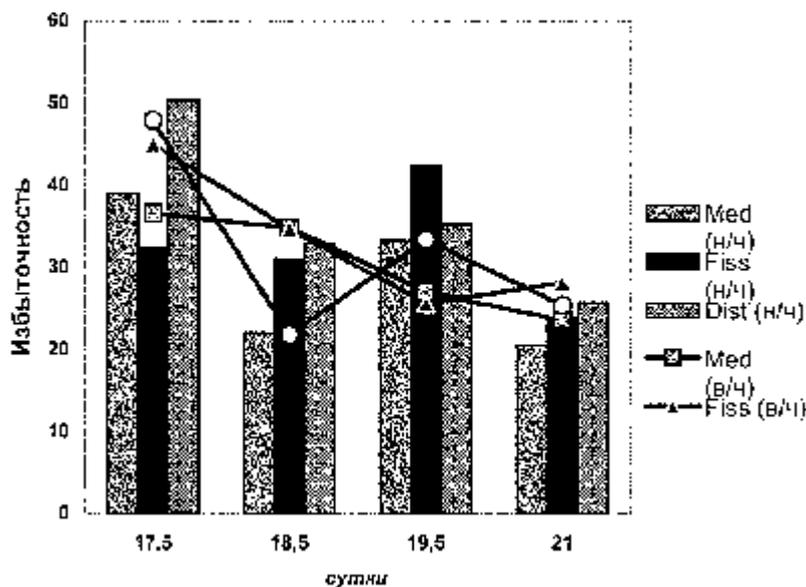


Рис.7. Динамика показателей избыточности энамелобластов.

Таким образом, полученные данные позволяют выявить 2 периода в развитии эмалевого органа в изученные сроки: 17,5-18,5 сутки и 19,5-21 сутки. В начале каждого из них замедляются темпы развития органа в связи с детерминацией системы; а в конце периода – ускоряются темпы развития и нарастает гетерогенность клеточной популяции.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. – М., 1973.
2. Автандилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. – М., 1984.
3. Леонтьук А.С., Леонтьук Л.А., Сыкало А.И. Информационный анализ в морфологических исследованиях. – Минск: Наука и техника, 1981. – 160 с. – С.45 – 57.
4. Мельниченко Э.М., Чешко Н.Н., Берлов Г.А., Рубенчик А.Я., Недзьведь А.М., Шевчук Т.А. Морфометрия изменений одонтогенеза у крыс, вызванных малыми дозами ионизирующей радиации//Здравоохранение. – 1997. – №10. – С.19 – 21.
5. Московский А.В., Любовцева Л.А., Московский В.Ф. Распределение биологически активных веществ в развивающемся зубе на поздних этапах эмбриогенеза//Стоматология. – 2003 – №1 – С.4 – 6.
6. Фалин Л.И. Гистология органов полости рта и зубов. М.1963. – С.26 – 45.
7. Duailibi M.T. et al. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells// J. Dent. Res. 2004 – 83;7 – P.523 – 528.
8. Thesleff I., Hurmerinta K. Tissue interactions in tooth development// Differentiation. – 1981 – V.19 – P.75 – 88