

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

Белорусский Государственный Медицинский Университет

Представлены результаты исследования морфометрических показателей развития одонтобластов 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 одонтобластов. Установлено, что наибольшей вариабельностью и одновременно запаздыванием в развитии обладают одонтобласты на дистальных бугорках нижних моляров. Ключевые слова: одонтогенез, одонтобласт, площадь, форм-фактор, элонгация, избыточность, морфометрия.

На сегодняшний день одонтогенез является одним из наиболее актуальных вопросов в современной стоматологии и требует углубленного изучения. Это связано с тем, что, во-первых, стоматологам все чаще приходится сталкиваться с врожденными аномалиями челюстей и другими пороками развития органов челюстно-лицевой области. Во-вторых, сегодня впервые возникла возможность создания тканеинженерных конструкций для дентогенеза *de novo*.

В настоящее время технологии создания зубов методами тканевой инженерии развиваются двумя основными путями. Первый путь – прямой дентогенез. У эмбриона производится забор закладки зуба, и клеточная масса (энамелобласты, одонтобласты, низкодифференцированные эпителиальные, а также стромальные мезенхимальные клетки) суспензируется и совместно культивируется [1]. В качестве матрицы используют биodeградируемые полимеры на основе органических кислот, которые формируют трехмерную форму искусственного зуба [7]. Культура клеток наносится на матрицу, и препарат пересаживается в зубную альвеолу, где под воздействием факторов клеточного и тканевого микроокружения происходит дентогенез [6]. Второй путь – непрямой дентогенез, при котором развитие происходит внеальвеолярно (для пересадки используются сальник, окологпочечная или подкожная жировая клетчатка) [4].

Для формирования полноценной структуры зуба в эмбриогенезе необходимы клетки (энамелобласты, одонтобласты), образование которых возможно при взаимодействии клеток эктодермальной и мезенхимальной природы [5]. Именно поэтому первый этап нашего исследования был посвящен развитию энамелобластов [3].

Цель настоящего исследования заключается в изучении закономерностей развития одонтобластов на бугорках и фиссурах моляров верхней и нижней челюсти крыс в период эмбриогенеза с 17,5 по 21 сутки. Анализ коррелятивных связей эмбриогенеза крысы и человека позволяет определить, что изученные нами сроки соответствуют периоду развития зародыша человека с 48 по 60 сутки [Carnegie et al., 1992].

Материал и методы

Материалом послужили 10 серий сагиттальных срезов препаратов эмбрионов белых беспородных крыс в возрасте 17,5, 18,5, 19,5 и 21 суток, что соответствуют периоду эмбриогенеза человека с 48 по 59 сутки. Изображения срезов вводились в компьютер посредством системы "Bioscan" (увеличение микроскопа 40r, 100r, 200r, 400r, 1000r) и сканера "ScanJetADF" (1200dpi). 298 изображений развивающихся моляров крыс были исследованы при помощи морфометрического метода. Для полуавтоматической морфометрии использовалась программа "Scion Image", в которой методом контурных измерений определялись площадь, периметр, максимальная и минимальная длины ядер одонтобластов. В программе Microsoft Excel рассчитывались форм-фактор и элонгация ядер изучаемых клеток. Всего было выполнено 9600 измерений. Количественные данные были обработаны методом вариационной статистики Стьюдента. Для изучения популяционных характеристик применен информационный анализ. Определялась избыточность системы как показатель разнородности популяции и функциональной активности клеток [2].

Результаты и обсуждение

Максимальное значение средней площади ядер одонтобластов наблюдалось на дистальных бугорках нижних моляров на 19,5 сутки – $33,76 \pm 1,18$ ($p < 0,001$) (Рис.1).

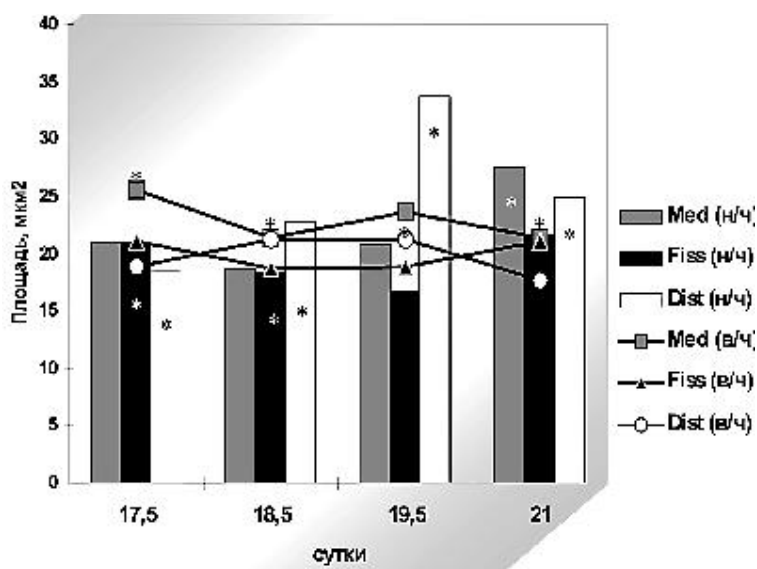


Рис.1. Динамика площади ядер одонтобластов моляров крыс. *- $p < 0,001$

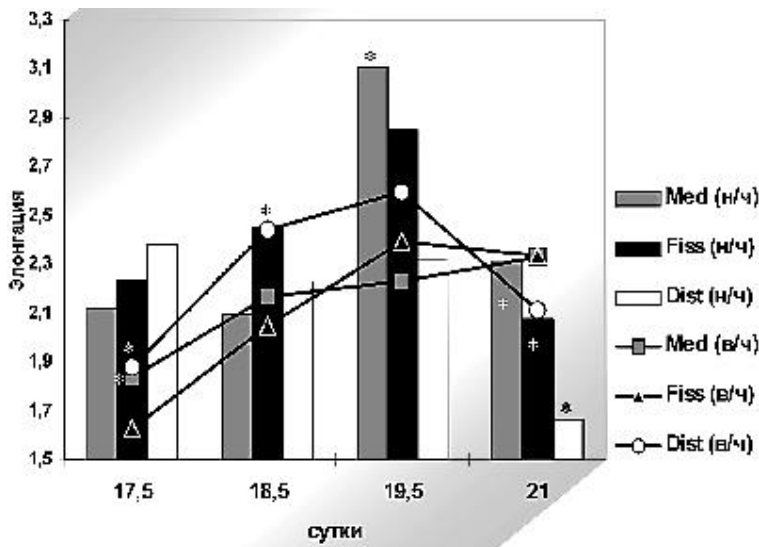


Рис.2. Динамика элонгации ядер одонтобластов моляров крыс. * $p < 0.001$

Максимальная элонгация ядер была выявлена на 19,5 сутки на всех поверхностях моляров как верхней, так и нижней челюсти, что свидетельствует о наибольшей функциональной активности клеток в этот период (Рис.2). На дистальных бугорках моляров нижней челюсти элонгация резко снижается к 21 суткам и составляет $1,66 \pm 0,05$ ($p < 0,001$).

Форм-фактор, косвенно свидетельствующий о митотической активности клеток, заметно падает на 19,5 сутки. В то же время он максимален на дистальных бугорках моляров нижней челюсти – $0,68 \pm 0,02$ (Рис.3).

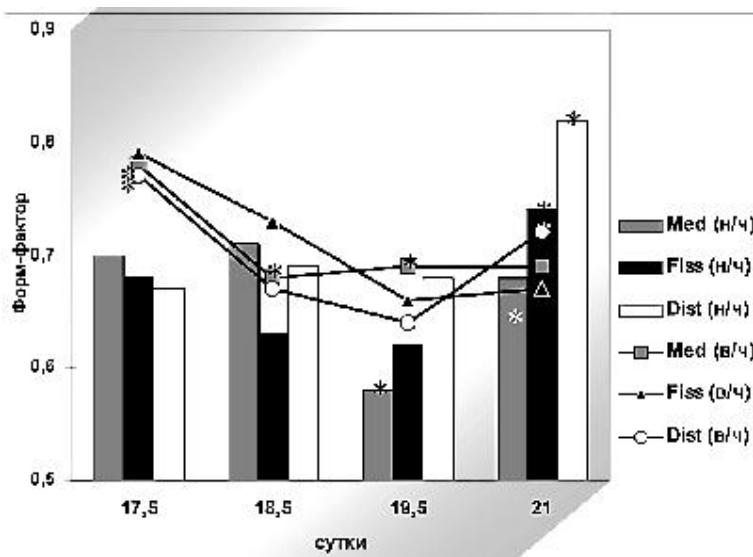


Рис.3. Динамика форм-фактора ядер одонтобластов моляров крыс. * $-p < 0,001$

Избыточность – информационный показатель, отражающий степень гетерогенности системы. Наиболее резкий спад избыточности приходится на дистальные бугорки моляров нижней челюсти на 19,5 сутки (20,55%), что говорит о гетерогенности клеточной популяции и малой устойчивости к повреждающим факторам в этот период (Рис.4).

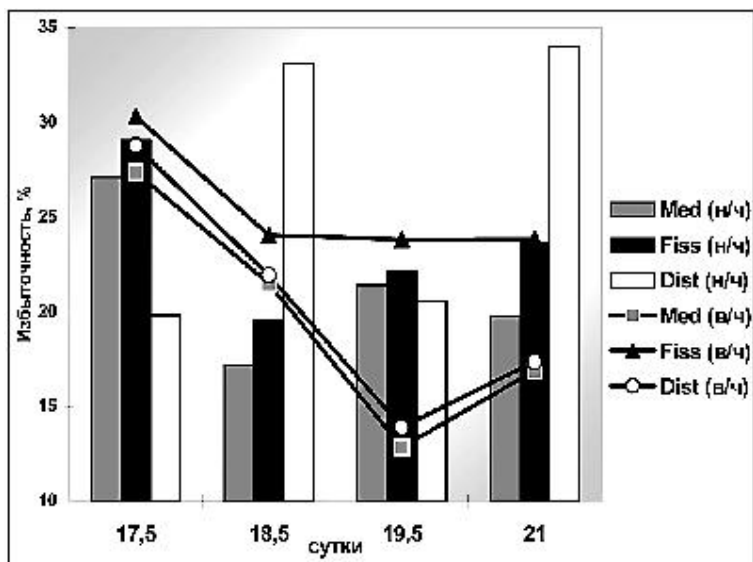


Рис.4. Динамика избыточности ядер одонтобластов моляров крыс

Выводы

1. Количественные и информационные показатели отражают системные изменения, происходящие в организме крысиного эмбриона и связанные с гормональной перестройкой на 19,5 суток эмбриогенеза.
2. Количественные показатели позволили определить вариабельность одонтобластов на разных участках моляров. Наибольшей вариабельностью обладают одонтобласты на дистальных бугорках моляров нижней челюсти. Именно эти клетки наиболее быстро реагируют на изменения внутренней среды, происходящие в организме зародыша крысы на 19,5 суток.
3. Информационный анализ позволил выявить гетерохронию в развитии одонтобластов на разных поверхностях моляров. Наблюдается запаздывание в развитии одонтобластов на дистальных бугорках моляров нижней челюсти.

Литература

1. Волков А. Перспективы создания зуба методами тканевой инженерии.//Клеточная трансплантология. – 2004 – №4 – С.16 – 17.
2. Леонтьук А.С., Леонтьук Л.А., Сыкало А.И. Информационный анализ в морфологических исследованиях. – Минск: Наука и техника, 1981. – 160 с.
3. Пинчук Т.В., Манак Т.Н., Янченко Н.В.. Оценка развития энамелобластов моляров крыс на поздних стадиях эмбриогенеза с использованием морфометрического метода исследования//Медицинский журнал. – 2006 – №1 – С.77 – 78.
4. Duailibi M.T. et al. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells//J. Dent. Res. 2004 – 83;7 – P.523 – 528.
5. Murray P., Garcia-Godoy F. Stem cell responses in tooth regeneration//Stem Cells and Development. 2004 – №13. – P.255 – 262.
6. Smith A. Tooth tissue engineering and regeneration – a translation vision//J. Dent. Res. 2004 – 83;7 – P.517.
7. Young C.S. et al. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds// J. Dent. Res. 2004 – 81;10 – P.695 – 700.