

С.Є.Дейнека, І.С.Давиденко

## ЦИТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В КУЛЬТУРАХ КЛІТИН ЗА ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ СПОЛУК МЕТАЛІВ

Лабораторія промислової гігієни (зав. – д.мед.н. С.Є.Дейнека)  
НДІ медико-екологічних проблем МОЗ України, м.Чернівці

**Резюме.** Виділено такі типи уражень культур клітин за токсичного впливу сполук металів – порушення адгезії клітин до скла, незворотні зміни ядра, зміна мітотичної активності клітин культури та порушення накопичення ними вітального барвника. Найбільша об'єктивність оцінки цитотоксичної дії солей металів може бути досягнута на основі комплексного цитоморфологічного дослідження з врахуванням різних типів ураження клітин.

**Ключові слова:** цитоморфологія, культура клітин, сполуки металів.

**Вступ.** Альтернативні методи досліджень *in vitro*, серед яких чільне місце займають експерименти з культурами клітин, потребують коректної реєстрації змін вказаних тест-об'єктів, оскільки недостатньо вивченим залишається питання вибору критеріїв оцінки цитотоксичної дії ксенобіотиків, не розроблені методичні підходи щодо реєстрації цитоморфологічних змін у культурах клітин, які культивувались у присутності різних класів хімічних сполук [1-3].

**Мета дослідження.** Дослідити типи цитоморфологічних змін у культурах клітин за токсичного впливу сполук металів.

**Матеріал і методи.** Після інкубації у стандартних умовах культур клітин Нер-2, Rh і HeLa з досліджуваними сполуками металів проводилось цитоморфологічне вивчення культур клітин. При цьому досліджували нативні препарати, препарати, забарвлені гематоксиліном та еозином після фіксації в 10%-вому нейтральному формаліні (10 хв) і препарати, забарвлені вітально 1%-вим розчином нейтрального червоного з наступною фіксацією в 10%-вому розчині нейтрального формаліну (10 хв). Час забарвлення 60 с. Виділення барвника з цитоплазми клітини за вказаний час не відбувається.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Цитоморфологічні дослідження культур клітин за токсичної дії солей металів дозволили виділити такі типи уражень. Перший – порушення адгезії клітин до скла, наслідком якого є повна або вогнищева десквамація клітин (рис. 1), що свідчить про ураження цитолеми, за якого адгезія стає неможливою. Може бути ізольоване ураження тільки цитолеми. Тоді клітини, які залишаються в острівцях, мають звичайні морфологічні властивості.

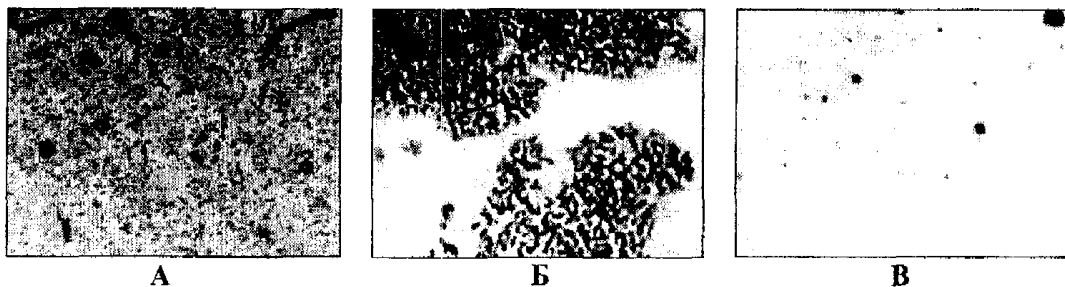


Рис. 1. Культура клітин Rh, нативний препарат, зб. х80. А - контроль, культура представлена суцільним моношаром; Б - натрій щавлевокислий, 250 мкг/мл; майже повна десквамація клітин; В - свинець оцтовокислий, 250 мкг/мл; острівцева десквамація клітин.

В іншому варіанті може уражатися вся клітина: цитолема, цитоплазма з органелами, ядро. У такому випадку в тих клітинах, які не злушилися, спостерігаються ті чи інші явища альтерації: каріопікноз, каріорексис, каріолізис, плазмопікноз, плазморексис, поява незвичайних цитоплазматичних включень, втрата відростків та інше.

Другий тип уражень – незворотні зміни ядра (рис. 2). Таке ураження свідчить про те, що токсикант легко долає як цитолему, так і каріолему, проникає в ядро, де уражує перш за все ДНК. При такому типі ураження клітини зберігають або втрачають адгезивні властивості.

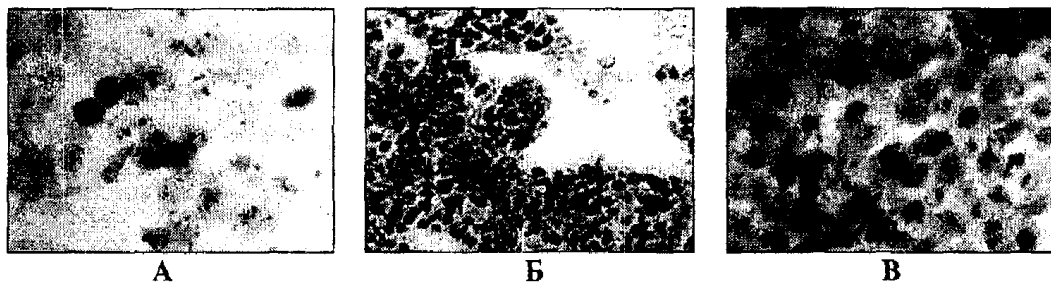


Рис. 2. Культура клітин Нер-2. А - контроль; гематоксилін-еозин після фіксації нейтральним формаліном; масляна імерсія; зб.  $\times 900$ ; Б - залізо (III) шавлевокисле, 125 мкг/мл; гематоксилін-еозин після фіксації нейтральним формаліном; масляна імерсія; зб.  $\times 900$ ; В - мідь оцтовокисла, 250 мкг/мл; вітальне забарвлення нейтральним червоним; зб.  $\times 200$ .

Перший варіант (при ураженні клітин із збереженням адгезивних властивостей) свідчить про те, що адгезивні властивості цитолемі практично не змінюються. Клітини у культурі розташовуються в суцільний моношар, а в самих клітинах будуть мати місце ознаки ураження ядра – найчастіше каріопікноз, рідше – каріорексис і зовсім рідкісним явищем є каріолізис. Другий варіант (при ураженні клітин із втратою адгезивних властивостей) свідчить про те, що разом з ядром суттєві зміни відбуваються і в цитолемі. У такому разі спостерігалась часткова або повна десквамація клітин. У незлучених клітинах були виявлені вищезгадані ознаки ураження клітинного ядра.

Третій тип уражень – зміна мітотичної активності клітин культури (рис. 3).

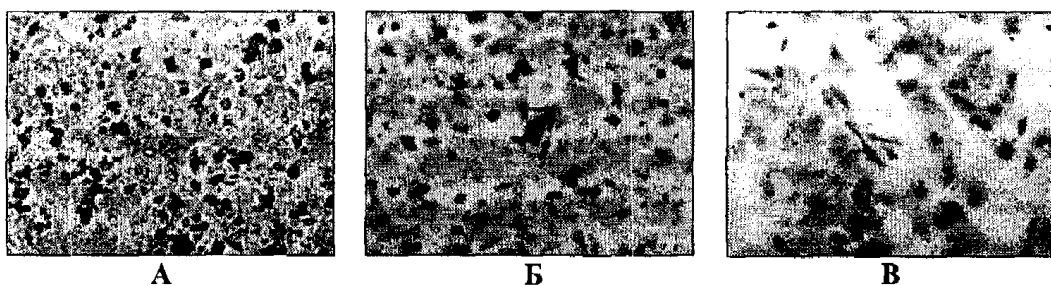


Рис. 3. Культура клітин Нер-2; вітальне забарвлення нейтральним червоним. А - контроль, зб.  $\times 400$ ; Б - срібло стеариновокисле, 62,5 мкг/мл; зб.  $\times 400$ ; В - цинк шавлевокислий, 62,5 мкг/мл; зб.  $\times 200$ .

Як правило, зниження мітотичної активності можна спостерігати тоді, коли ще немає грубих альтеративних змін ядер (каріопікнозу, каріорексису). Зміна мітотичної активності свідчить щонайменше про дві обставини: долання токсикантом цитолемі та ураження структур, які забезпечують мітоз. Значно рідше при деяких концентраціях солей металів виявлялось посилення мітотичної активності.

Четвертий тип уражень – зміни, які можна виявити за допомогою, так званих вітальних (прижиттєвих) барвників. Вітальні барвники у порівняно невеликих кількостях здатні долати цитолему неуражених живих клітин, в результаті чого барвник відкладається у вигляді гранул у цитоплазмі. У каріоплазмі неуражених клітин вітальний барвник не проникає. При ураженні клітин виявлено два основні варіанти порушення накопичення вітального барвника. Перший варіант – послаблення проникнення вітального барвника через цитолему, другий – дифузне забарвлення цитоплазми і каріоплазми клітин без утворення гранул барвника.

**Висновок.** Найбільша об'єктивність оцінки цитотоксичної дії солей металів може бути досягнута на основі комплексного цитоморфологічного дослідження з врахуванням різних типів ураження клітин.

**Література.** 1. Fentem J. The use of human tissues in in vitro of toxicology: Summary of general discussions of the society of Toxicology symposium // Hum. and Exp. Toxicol. – 1994. – V. 13, № 6. – P. 445-449. 2. Fry J.R., Hammond A.H., Atmaca M. Toxicity testing with hepatocytes: Some methodological aspects // ATLA. – 1995. – V. 23, № 1. – P. 91-96. 3. Van Esch E., Organon N.V. Morphometry in toxicological pathology // Hum. and Exp. Toxicol. – 1994. – V. 13, № 10. – P. 722.

**CYTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN CELLULAR CULTURES  
UNDER THE TOXIC INFLUENCE OF METALS COMPOUNDS**

*S.Ye.Dejneka, I.S.Davydenko*

**Abstract.** The following types of impairments in cellular cultures have been isolated under the influence of metal compounds-disturbances of cellular adhesion to glass, irreversible nuclear changes, a change of the mitotic activity of a culture cell and their impaired accumulation of the vital dye. The greatest objectivity of an estimation of the cytotoxic action of metal salts may be obtained on the basis of a multimodality cytomorphologic study with due regard for various types of cellular damage.

**Key words:** cytomorphology, culture of cells, compounds of metals.

Research Institute of Medico-Ecological Problems (Chernivtsi)

*Надійшла до редакції 05.03.2001 року*