

УДК 577.1:57.086.83:546.48:591.465.2

ПРОЛІФЕРАТИВНИЙ РІСТ ФІДЕРНИХ КЛІТИН ЯЙЦЕПРОВІДІВ У КУЛЬТУРІ ПРИ ДІЇ ХЛОРИДІВ КАДМІЮ, МІДІ ТА НІКЕЛЮ

О. В. Штапенко, канд. с.-г. наук
Інститут біології тварин УААН, м. Львів

Вивчався вплив хлоридів натрію, міді та нікелю на проліферативну активність культури клітин яйцепроводів корів протягом 72 годин культивування. Помітне інгібування проліферативних клітин яйцеводів обумовлене додаванням до культурального середовища солей кадмію та міді. Хлорид нікелю викликає незначне інгібування проліферативної активності культури клітин яйцепроводів корів при збереженості життєдіяльності та функціональної активності клітин.

Ключові слова: кадмій, мідь, нікель, фідерні клітини.

Вступ. Проблема зростаючого антропогенного забруднення навколишнього природного середовища солями важких металів та іншими токсичними речовинами, їх вплив на живі організми набула значної актуальності. Дефіцит, надлишок чи дисбаланс есенціальних мікроелементів в організмі під час вагітності може зумовити репродуктивні порушення та вроджені вади розвитку нащадків, підвищувати пре- та перинатальну смертність. Доведено негативний вплив важких металів на протікання вагітності, зокрема, на розвиток плоду [1], що обумовлене чутливим періодом їх розвитку, внаслідок підвищеної інтенсивності проліферації клітин або зміни метаболічних процесів [2,3]. Внаслідок цього полютанти спричиняють зменшення рівня запліднення, імплантаційного розвитку плоду та можуть викликати уповільнення розвитку плоду.

З'ясування біохімічних механізмів, що лежать в основі порушення функціональної активності системи репродуктивних органів дозволить розробити способи корекції патологічних станів, які виникають за умов інтоксикації важкими металами.

Метою досліджень було дослідження впливу хлориду кадмію, нікелю та міді на проліферативний ріст нативної культури клітин яйцепроводів овець.

Матеріал та методи досліджень. Для дослідження була використана розморожена культура клітин яйцепроводів корів з власного кріобанку лабораторії. Посівна концентрація клітин становила 1,2 млн/мл. Об'єм середовища для культивування складав 2 см³.

Клітини контрольної групи інкубували в основному середовищі ДМЕМ з BSA та іншими необхідними складниками. До середовища, в якому культивувались клітини 1-ї та 2-ї дослідних груп додавали хлорид кадмію в концентрації 50 і 100 мкг/см³, до 3-ї та 4-ї — 100 і 200 мкг/см³ CuCl₂, до 5-ї та 6-ї дослідних груп — 100 і 250 мкг/см³ NiCl₂. Клітини інкубували впродовж 72

годин у термостаті за температури 38,5 °С, 5% CO₂ і максимальній вологості. Життєздатність та функціональну активність клітин визначали за результатами проліферації клітин яйцепроводів шляхом підрахунку їх у камері Горєва та показниками біохімічних досліджень середовища через кожних 24 години культивування впродовж трьох діб (табл. 1).

1.Схема досліджень з вивчення дії хлоридів кадмію, міді та нікелю на розморожену клітинну культуру

Групи	Характеристика груп	Маніпуляції
Культура клітин епітелія яйцепроводів		
Контрольна	ОС	Пересів кожні 24 години культивування, підрахунок проліфера-тивного росту клітин
Дослідна 1	ОС+Cd Cl ₂ 50 мкг/см ³	
Дослідна 2	ОС+ Cd Cl ₂ 100 мкг/см ³	
Дослідна 3	ОС+ Cu Cl ₂ 100 мкг/см ³	
Дослідна 4	ОС+ Cu Cl ₂ 200 мкг/см ³	
Дослідна 5	ОС+ Ni Cl ₂ 100 мкг/см ³	
Дослідна 6	ОС+ Ni Cl ₂ 150 мкг/см ³	

Результати досліджень. Результати досліджень виявили тенденцію до інгібування проліферативної активності культури клітин яйцепроводів корів хлоридом кадмію у досліджуваних концентраціях (рис. 1). Хлорид кадмію у дозі 50 і 100 мкг/см³ викликав найбільше пригнічення проліферативного росту клітин впродовж 72 годин культивування. Встановлено, що в нижчій концентрації - 50 мкг/см³ солі кадмію викликають більш виражене зниження проліферації клітин, ніж у дозі 100 мкг/см³. Так, на 24 годину культивування кількість клітин в 1-й дослідній групі становила 1,34±0,04 проти 5,88±0,09 млн/см³ в контролі, а через 48-72 години зменшувалась у 12 раз відносно контролю.

Концентрація клітин в дослідній групі з вмістом солей кадмію 100 мкг/см³ впродовж всього періоду культивування була на одному рівні і в два рази нижчою за відповідну у контролі.

Таким чином, найбільш виражену інгібуючу дію на проліферацію клітин епітелія яйцепроводів серед досліджених важких металів проявляє хлорид кадмію при додаванні його в дозі – 50 мкг/см³, що очевидно пов'язано з тим, що кадмій блокує рецептори клітинних мембран, викликає конформаційні зміни у ферментах, пошкоджує третинну структуру хромосом.

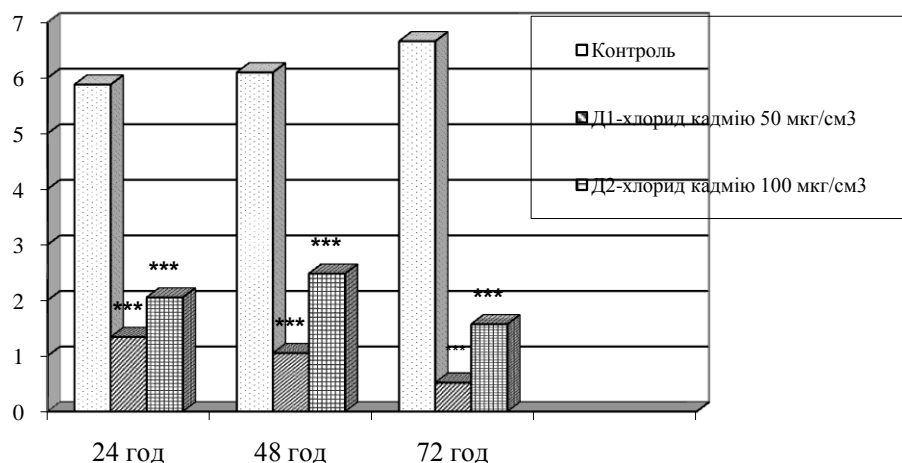


Рис. 1 Проліферативний ріст культури клітин яйцепроводів за умов впливу хлориду кадмію

Аналіз підрахунку клітин через 24 години культивування показав (рис. 2), що додавання до культурального середовища хлориду міді у 3-й і 4-й дослідній групах призводить до пригнічення інтенсивності проліферативного росту в 3-4 рази у порівнянні з контрольною групою. Однак, інгібування проліферативного процесу у 3-й дослідній групі, клітини якої культивували у середовищі з додаванням 100 мкг/см³ було більш вірогідним, ніж в 4-й дослідній групі. Після 48-годинного культивування в обох дослідних групах спостерігається тенденція до зниження активності проліферативних процесів в культурах клітин яйцепроводів корів, тоді як на 72 годину культивування виявлено зменшення кількості клітин в 3-й та 4-й дослідних групах у 12 та 5 разів у порівнянні з контрольною.

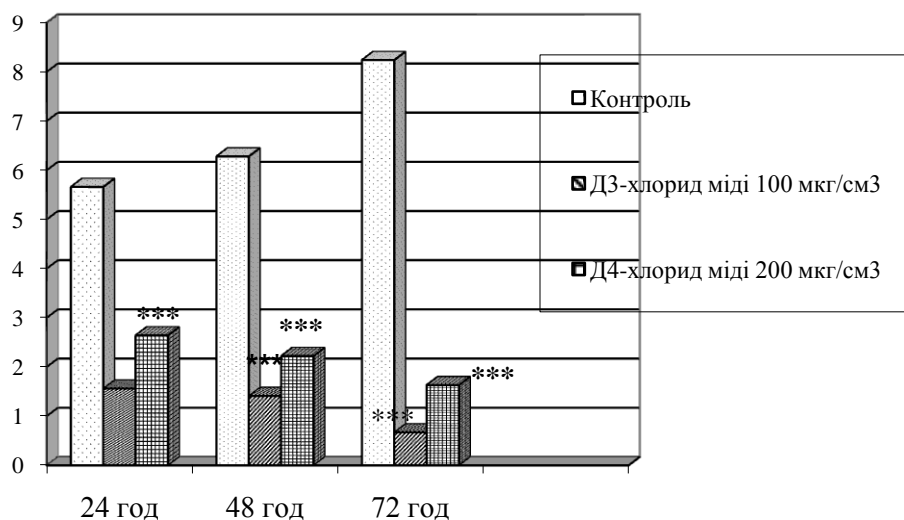


Рис. 2 Проліферативний ріст культури клітин яйцепроводів за умов впливу хлориду міді

Присутність солей нікелю у культуральному середовищі впродовж 24-х годин незначно пригнічує проліферативний ріст епітеліальних клітин яйцепроводів в дослідних групах у порівнянні з контрольною (рис. 3). Так, концентрація клітин 5-ї та 6-ї групи становила відповідно $3,76 \pm 0,24$ млн/см³ та $3,27 \pm 0,05$ млн/см³ клітин проти $4,35 \pm 0,04$ млн/см³ в контрольній. Кількість клітин яйцепроводів на 48 годину культивування в обох дослідних групах була приблизно на одному рівні та дещо нижчою за контрольну. Через 72 години культивування в дослідних групах виявлено інгібування активності проліферативного росту клітин в 1,3-1,5 раз в порівнянні з контрольною групою. Відомо, що нікель є кофактором біля восьми клітинних ферментів, іони Ni²⁺ стабілізує структуру нуклеїнових кислот та рибосом [4,5], однак надлишок нікелю змінюється протікання процесів біосинтезу білка внаслідок гідролізу тРНК.

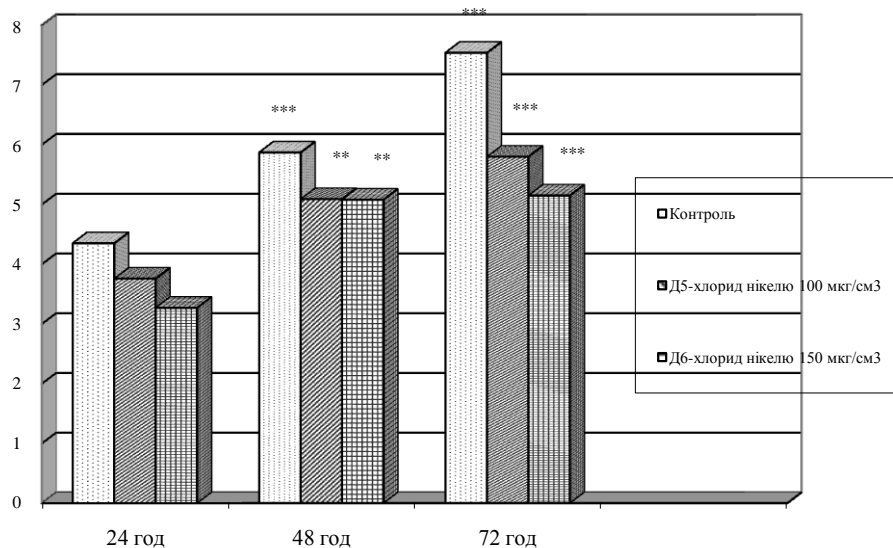


Рис. 3 Проліферативний ріст культури клітин яйцепроводів корів за умов впливу хлориду нікелю

Встановлено, що життєздатність та функціональна активність культури клітин яйцепроводів корів за умов дії на них хлориду нікелю знижується, але зберігається на певному стабільному рівні, що можливо пов'язане з адаптацією культури до досліджуваних концентрацій металу. Отже, додавання солей міді та нікелю до культурального середовища в низьких дозах з метою стимуляції проліферативного росту вимагає подальших досліджень з метою з'ясування оптимальних органічних сполук та їх доз, що дозволить розробити нові культуральні середовища для культивування клітин.

Висновки

1. Встановлено, що хлориди кадмію і міді у вибраних концентраціях викликають значне інгібування проліферативної активності фідерних клітин, тоді як хлорид нікелю зумовлює незначне зниження проліферативного росту культури.

2. Найбільш виражену інгібуючу дію на проліферацію клітин епітелія яйцепроводів корів серед досліджених важких металів проявляє хлорид кадмію в дозі – 50 мкг/см³, тоді як хлорид нікелю в концентрації 100 мкг/см³ викликає найменш значне пригнічення проліферативного росту культури.

Список літератури

1. Harold H. Messer, Elsa J. Murray, Nancy K. Goebel Removal of trace metals from culture media and sera for in vitro deficiency studies //J. of Nutrition. — 2008. — Vol. 7. — P. 652-657.
2. Conato C et al. Copper complexes of glycyl-histidyl-lysine and two of its synthetic analogues: chemical behaviour and biological activity //Biochim Biophys Acta. — 2001. — Vol. 1526(2). — P. 199-210.
3. Mitsuhashi J. Development of highly nutritive culture media //In Vitro Cell Dev. Biol. Anim. — 2001. — Vol. 37(6). — P. 330–337.
4. Brunella Perfetto, Monica Lamberti, Maria Teresa Giuliano et al. Analysis of the signal transduction pathway of nickel-induced matrix metalloproteinase-2 expression in the human keratinocytes *in vitro*: preliminary findings //J. of Cutaneous Pathology. — 2006. — Vol. 34 (6). — P. 441-447.
5. Forgacs Z et al. Specific amino acids moderate the effects on Ni²⁺ on the testosterone production of mouse leydig cells in vitro //Toxicol Environ Health A. — 2001. — Vol. 62(5). — P. 349-358.

Штапенко О.В. Проліферативний рост фідерних кліток яйцепроводов у культурі при дії хлоридів кадмія, міді і нікелю.

Изучено влияние хлоридов кадмия, меди и никеля на пролиферативную активность культуры клеток яйцепроводов коров на протяжении 72 часов культивирования. Значительное ингибирование пролиферативного роста клеток яйцепроводов обуславливало добавление к культуральной брече хлоридов кадмия и меди. Хлорид никеля вызывает незначительное ингибирование пролиферативной активности культуры клеток яйцепроводов коров при сохранении жизнедеятельности и функциональной активности клеток.

Ключевые слова: кадмий, медь, никель, фидерные клетки.

Shtapenko O.V. Proliferative growth of cattle oviducts cells in cultural medium under cadmium, copper and nickel chloride influence.

Cadmium, copper, nickel chloride influence on the proliferative activity of oviducts cells cultures during 72 hours cultivation was studied. It was shown that cadmium and copper chloride inhibit the proliferative growth of these cellular cultures. Nickel chloride decrease the cattle oviducts cells culture proliferative activity with viability and functional activity of cells does not change.

Keywords: Cadmium, copper, nickel, oviducts cells.

