

Helena Miszta, Zbigniew Dąbrowski[•]

Wpływ fluoru na komórki stromalne szpiku kostnego szczurów

Streszczenie

Badania przeprowadzono na szczurach rasy "Wistar". Zwierzęta podzielono na dwie grupy: kontrolną i doświadczalną. Szczury grupy kontrolnej, otrzymywały przez 7 dni dootrzewnowo 0,9% roztwór chlorku sodu, zaś szczury grupy doświadczalnej otrzymywały przez 7 dni dootrzewnowo roztwór fluorku sodu o stężeniu 60 mg/kg wagi ciała (tj. 27 mg czystego fluoru). W dziewiątym dniu, metodą hodowli pierwotnej, badano morfologię i aktywność enzymatyczną komórek stromalnych szpiku kostnego. Komórki hodowano w hodowlach płynnych o składzie: płyn Eagla wzbogacony 20% surowicą cielęcą i L-glutaminą. Zwracano uwagę na tempo wzrostu, rodzaj i liczbę komórek. Komórki badano testami histochemicznymi na aktywność niespecyficznej esterazy, zasadowej i kwaśnej fosfatazy.

Stwierdzono istotnie statystyczne różnice poszczególnych typów komórek stromalnych między grupą kontrolną i doświadczalną oraz różnice w wartościach "score" poszczególnych enzymów w różnych typach komórek stromalnych.

WSTĘP

W związku z rozwojem przemysłu olbrzymim problemem staje się wzrost substancji toksycznych w środowisku, szczególnie metali ciężkich oraz fluoru i jego związków.

Dla organizmów żywych niekorzystny jest niedobór tego pierwiastka jak i jego nadmiar. Fluor, po przedostaniu się

[•]Pracownia Hematologii i Toksykologii Zwierząt Zakładu Fizjologii Zwierząt
Instytutu Zoologii UJ

do krwi, przenika przez błony komórkowe do elementów morfo-
tycznych; aż 85% tego pierwiastka wiąże się z białkami (Ta-
vels, 1968a), głównie z albuminami (Tavels, 1968b). W prze-
wlekłych zatruciach fluorem zawartość białka we krwi jest na
ogół prawidłowa. Spadek stężenia białek w tkankach (Kathpo-
lia i Susheela, 1978) i w osoczu krwi, zwłaszcza albumin
(Kaur i inni, 1978), pojawia się dopiero w stanach ostrych
zatruc, wiąże się to prawdopodobnie z uszkodzeniem biosynte-
zy białka w wątrobie. Fluor upośledza inkorporację żelaza
i glicyny do protoporfiryn, co doprowadza do anemii hypochro-
micznej lub hypersideroplazmatycznej (De Bruin, 1976). Za-
ciera się i rozluźnia struktura kości, pojawiają się zgrubie-
nia beleczek części gąbczastej. Zmniejsza się ilość czynnego
szpiku, co w konsekwencji prowadzi do niedokrwistości
(Armstrong i inni, 1970).

Prowadzenie długoterminowych hodowli szpiku kostnego
w warunkach "in vitro" jednoznacznie pozwoliło stwierdzić,
że komórki stromalne stanowią podstawową substancję śródko-
mórkową, mikrośrodowisko dla samoodnawiania, różnicowania,
dojrzwiania i podtrzymywania hematopoezy (Curry i inni, 1967,
Dexter i Shaddock, 1980, Tavassoli i inni, 1972). Wynika
stąd, że hematopoeza na początkowym etapie regulowana jest
przez interakcje zachodzące między rozwijającymi się komór-
kami hemopoetycznymi a otaczającym je podścieliskiem. Dla-
tego też celowe wydawało się zbadanie wpływu fluoru na ko-
mórki stromalne szpiku kostnego szczurów.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na dwudziestu szczurach, samcach,
rasy "Wistar" o wadze 200 g (\pm 10 g). Zwierzęta podzielono
na dwie grupy:

1. grupę kontrolną (n = 10)
2. grupę doświadczalną (n = 10).

Szczury grupy kontrolnej otrzymywały przez 7 dni w iniekcjach dootrzewnowych 0,9% roztwór NaCl w objętości 0,5 ml (+ 0,025 ml w zależności od ciężaru ciała zwierzęcia). Natomiast szczury grupy doświadczalnej otrzymywały przez 7 dni w iniekcjach dootrzewnowych roztwór NaF o stężeniu 60 mg/kg wagi ciała (co odpowiada 27 mg czystego fluoru) w objętości 0,5 ml (+ 0,025 ml w zależności od ciężaru ciała zwierzęcia).

W dziewiątym dniu zakładano hodowlę komórek szpiku kostnego szczura kontrolnego i doświadczalnego. Szczury zabijano przez dyslokację rdzenia kręgowego, następnie pobierano kości udowe, wypłukiwano z nich szpik kostny, który rozbijano na pojedyncze komórki przy pomocy igły ze strzykawką. Komórki zawieszano w płynie Eagla i liczone metodą tradycyjną w hemocytometrze. Wstępne inokulum stanowiła zawiesina komórek $1,5 \times 10^6$ /ml pożywki. Komórki hodowano w hodowlach płynnych o składzie: płyn Eagla (80%) wzbogacony surowicą cielęcą (20%), L-glutaminą (292 mg/L), zaś w celu utrzymania jałowości dodawano antybiotyki: penicylinę 120 j/ml i streptomycynę 100 ug/ml.

Komórki hodowano metodą jednej warstwy (monolayer) w buteleczkach Leightona, ze szkiełkiem nakrywkowym. Szkiełka te, pokryte w trakcie hodowli warstwą rosnących komórek umożliwiały ich obróbkę morfologiczną i histochemiczną. Hodowle prowadzono w 37°C przez 7 dni.

Badania morfologiczne

W czasie wzrostu obserwowano kinetykę rozwoju komórek. Z hodowli po 3, 5 i 7 dniach wycofywano kilka buteleczek i hodowlę barwiono metodą Wrighta (Harper, 1974), celem zaobserwowania zmian morfologicznych komórek. Zwracano uwagę na tempo wzrostu, rodzaj i liczbę komórek. Liczono ilość poszczególnych komórek do 100.

Badania histochemiczne

Po 7 dniach hodowli komórki rosnące na szkiełkach badano testami histochemicznymi na aktywność enzymów:

1. niespecyficzną esterazę (E.C.3.1.1.8)
2. zasadową fosfatazę (E.C.3.1.3.1)
3. kwaśną fosfatazę (E.C.3.1.3.2).

Ad.1. Reakcję na niespecyficzną esterazę wykonano wg metody Löfflera (Begemann, 1985). Komórki utrwalano w parach formaliny i inkubowano w świeżo przygotowywanym płynie inkubacyjnym z substratem: octanem alfa-naftyłu w temperaturze pokojowej.

Ad.2. Reakcję na zasadową fosfatazę wykonano wg zmodyfikowanej metody Kaplowa i Burnstone, 1964. Komórki utrwalano w parach formaliny i inkubowano w świeżo przygotowywanym płynie inkubacyjnym z substratem alfa-naftylofosforanem sodu w temperaturze 4°C.

Ad.3. Reakcję na kwaśną fosfatazę wykonano wg metody Gomorigo, 1953. Komórki utrwalano w parach formaliny i inkubowano w świeżo przygotowywanym płynie inkubacyjnym z substratem: beta-glicerofosforanem sodu w temperaturze 37°C.

Obliczenia

1. Istotności statystyczne poszczególnych typów komórek stromalnych w 3, 5 i 7 dniu hodowli w grupie doświadczalnej w stosunku do grupy kontrolnej obliczono stosując test t-Studenta, obliczono też błąd standardowy (S.E. - standard error).

2. W badaniach cytochemicznych aktywność enzymatyczną wyrażano za pomocą wskaźnika "score". Polega on na stopniowaniu aktywności enzymów, używając skali od 0 do 4, licząc 100 kolejnych komórek. Wskaźnik wartości globalnej "score" stanowi suma iloczynów stopnia aktywności enzymu pomnożona przez liczbę komórek w tym stopniu aktywności.

WYNIKI BADAN

Obserwacja zwierząt

U szczurów otrzymujących fluorek sodu w dziewiątym dniu stwierdzono zmiany w wyglądzie i zachowaniu charakterystyczne dla nadmiaru fluoru. Były to: skurcze i drżenie kończyn, biegunka, płytki oddech, zmniejszona ruchliwość, osłabiona reakcja na bodźce.

Badania morfologiczne (tab. 1)

Tabela 1

Pszczególne rodzaje komórek stromalnych szpiku kostnego zwierząt kontrolnych i doświadczalnych w kinetyce rozwoju

Rodzaje komórek stromalnych	Dni hodowli	Zwierzęta kontrolne		Zwierzęta doświadczalne	
		\bar{x}	\pm S.E.	\bar{x}	\pm S.E.
Fibroblasty	3	12,8	0,9	5,2	0,5
	5	24,7	1,7	37,0	1,3
	7	44,1	1,0	48,8	1,4
Makrofagi	3	70,4	1,0	80,4	1,1
	5	44,1	2,3	30,6	1,7
	7	19,3	1,7	20,2	1,6
Adipocyty	3	16,8	0,5	14,4	0,8
	5	31,2	1,1	31,7	1,2
	7	36,6	1,0	31,0	1,0

Po 24 godzinach komórki stromalne szpiku kostnego szczurów były przytwierdzone do szkiełek. Zaobserwowano: fibroblasty, makrofagi i adipocyty (komórki we wczesnym stadium

gromadzenia tłuszczu). Po 7 dniach komórki tworzyły kolonie (fig. 1).

Fibroblasty (fig. 1a)

Liczba fibroblastów w 3 dniu hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 12,8$, w grupie doświadczalnej zaś $\bar{x} = 5,2$. Różnice tych średnich wartości są istotne statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Liczba fibroblastów w 5 dniu hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 24,7$, a w grupie doświadczalnej $\bar{x} = 37,0$. Różnice tych średnich wartości są istotne statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Liczba fibroblastów w 7 dniu hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 44,1$, natomiast w grupie doświadczalnej $\bar{x} = 48,8$. Różnice tych średnich wartości są istotne statystycznie na poziomie $p < 0,01$.

Makrofagi (fig. 1b)

Liczba makrofagów po 3 dniach hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 70,4$, w grupie doświadczalnej $\bar{x} = 80,4$. Różnice tych średnich wartości są istotne statystycznie na poziomie $p < 0,001$.

Liczba makrofagów po 5 dniach hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 44,1$, w grupie doświadczalnej $\bar{x} = 30,6$. Różnice tych średnich wartości są istotne statystycznie na poziomie $p < 0,001$.

Liczba makrofagów po 7 dniach hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 19,3$, w grupie doświadczalnej $\bar{x} = 20,2$. Różnice między tymi średnimi wartościami nie są istotne statystycznie.

Adipocyty (fig. 1c)

Liczba adipocytów po 3 dniach hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 16,8$, w grupie doświadczalnej $\bar{x} = 14,4$. Róż-

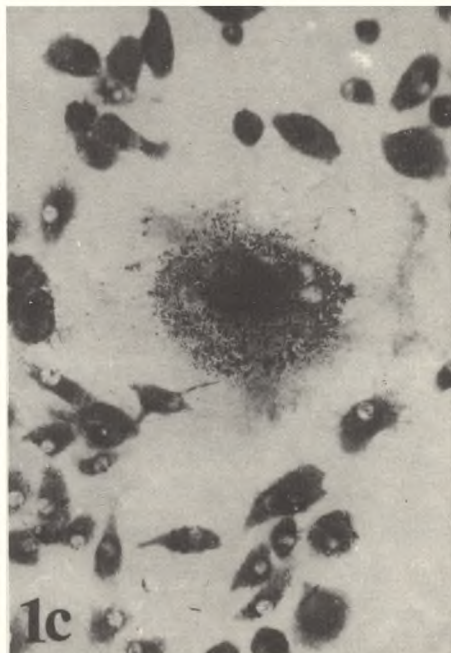
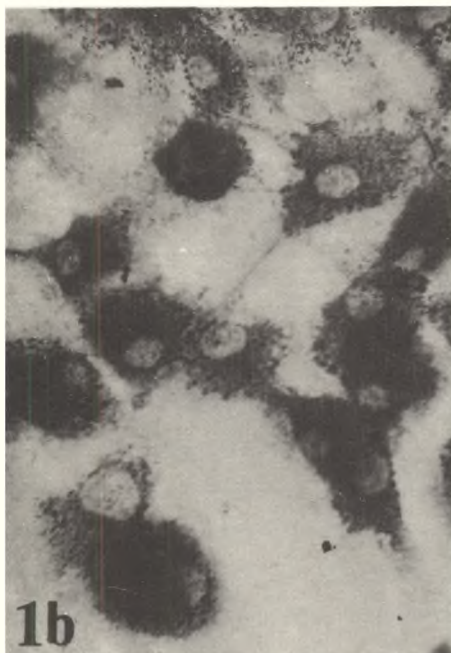
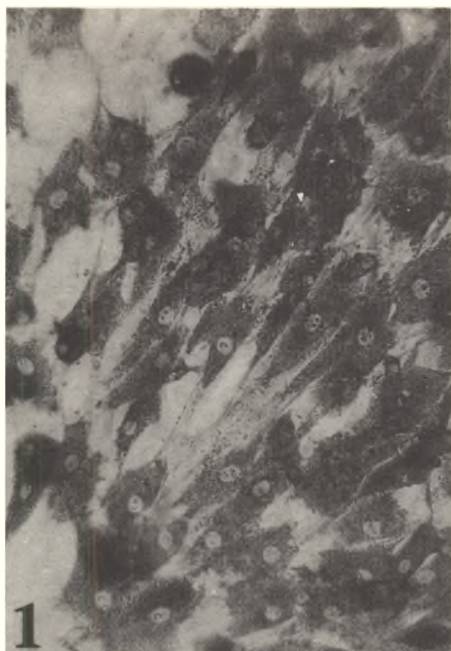


Fig. 1. Jednowarstwowa kolonia komórek fibroblastycznych. Barwienie Wrighta, pow.160x.Seria kontrolna

Fig. 1a - pojedyncze fibroblasty, **1b** - pojedyncze makrofagi, **1c** - pojedynczy /pośrodku/ adipocyt. Barwienie Wrighta, pow. 300x

nice tych średnich wartości są istotne statystycznie na poziomie $p < 0,05$.

Liczba adipocytów po 5 dniach hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 31,2$, w grupie doświadczalnej $\bar{x} = 31,7$. Różnice między tymi średnimi wartościami nie są istotne statystycznie.

Liczba adipocytów po 7 dniach hodowli wynosiła w grupie kontrolnej $\bar{x} = 36,6$, w grupie doświadczalnej $\bar{x} = 31,0$. Różnice tych średnich wartości są istotne statystycznie na poziomie $p < 0,01$.

Badania histochemiczne (tab. 2)

Tabela 2

Wskaźnik wartości globalnej "score" poszczególnych enzymów w różnych rodzajach komórek stromalnych szpiku kostnego zwierząt kontrolnych (K) i doświadczalnych (D)

Rodzaje komórek stromalnych	Niespecyficzna esteraza		Zasadowa fosfataza		Kwaśna fosfataza	
	K	D	K	D	K	D
Fibroblasty	318,9	174,7	308,6	352,7	295,3	230,3
Makrofagi	354,8	253,2	355,9	393,6	299,1	242,7
Adipocyty	288,8	147,5	306,4	326,5	312,3	204,7

1. Niespecyficzna esteraza - wskaźnik wartości globalnej "score" dla fibroblastów, makrofagów i adipocytów jest niższy w grupie doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną.

2. Zasadowa fosfataza - wskaźnik wartości globalnej "score" dla fibroblastów, makrofagów i adipocytów jest wyższy w grupie doświadczalnej aniżeli w grupie kontrolnej.

3. Kwaśna fosfataza - wskaźnik wartości globalnej "score" dla fibroblastów, makrofagów i adipocytów jest niższy w grupie doświadczalnej niż w grupie kontrolnej.

DYSKUSJA

Związek mikrośrodowiska, na które składają się komórki stromalne szpiku, z hematopoezą udowodniono wieloma badaniami (Bradley i Metcalfi, 1966, Brockbank i VanPeer, 1983, Dexter i inni, 1977, 1983). Większość komórek szpiku kostnego, łącznie z prekursorami hematopoezy, ginie w piątym dniu hodowli. Szybka śmierć "in vitro" może być powstrzymana przez pasażowanie komórek szpiku kostnego na powierzchnię komórek stromalnych tworzących zwartą warstwę. W tego rodzaju hodowli prekursorzy komórek poszczególnych linii komórkowych mogą być utrzymywane przez 12 tygodni, a nawet dłużej, przy zapewnieniu odpowiednich warunków hodowli (medium, temperatura, pH).

Komórki stromalne szpiku kostnego "in vitro" to mieszanina trzech typów komórek: fibroblastów, makrofagów i adipocytów. Fibroblasty organizują się w kolonie, natomiast makrofagi i adipocyty są rozproszone między nimi, co wskazuje, że obserwowane typy komórek nie pochodzą od wspólnej komórki prekursorowej (Zipori i Bol, 1979).

Komórki stromalne wg Curry'ego i innych tworzą mikrośrodowisko indukujące hematopoezę (hematopoietic inductive microenvironment - HIM). Komórki mikrośrodowiska tworzą tzw. "nisze", w których zlokalizowane są komórki macierzyste (stem cells). Jakakolwiek ingerencja czynników toksycznych powoduje zachwianie równowagi między mikrośrodowiskiem a hematopoezą.

Niniejsze doświadczenie jednoznacznie wskazuje na silne toksyczne oddziaływanie NaF na komórki stromalne szpiku kostnego. Fluor spowodował bowiem zatrucie zwierząt, zmiany komórkowe i enzymatyczne. Po trzech dniach hodowli było znacznie mniej fibroblastów w grupie zwierząt doświadczalnych niż kontrolnych. (Z danych literaturowych wynika, że fibroblasty pozostają w ścisłym związku z rozwojem komórek linii erytroidalnej). W 5 i 7 dniu hodowli fibroblasty inten-

sywniej dzieliły się w grupie doświadczalnej. Liczba makrofagów po 3, 5 i 7 dniach hodowli zarówno w grupie kontrolnej, jak i doświadczalnej zmniejszyła się. Liczba adipocytów natomiast po 3, 5 i 7 dniach hodowli w grupie kontrolnej i doświadczalnej wzrosła, co jest zjawiskiem typowym w warunkach hodowli "in vitro".

Niewiele jest danych na temat zmian cytoenzymatycznych w komórkach stromalnych szpiku kostnego, a z nich wiele jest kontrowersyjnych. Mendelow i inni (1980) stwierdzili, że młodociane komórki tłuszczowe nie wykazują reakcji na obecność peroksydazy, natomiast wykazują pozytywną reakcję na niespecyficzną esterazę oraz kwaśną i zasadową fosfatazę.

Janotte i inni (1982) stwierdzili, że u myszy fosfataza zasadowa wywołała wyraźną reakcję pozytywną, natomiast kwaśna fosfataza dawała reakcję negatywną w komórkach stromalnych.

Quesenberry i inni (1985) stwierdzili u myszy niczym nie traktowanych, że alkaliczna fosfataza była w makrofagach negatywna, a w komórkach epitelialnych pozytywna, kwaśna fosfataza zaś w makrofagach pozytywna w komórkach epitelialnych okazała się negatywna, niespecyficzną esterazę w makrofagach była pozytywna, natomiast w komórkach epitelialnych - negatywna.

Miszta (1987) stwierdziła w komórkach stromalnych szpiku kostnego szczurów po acetylofenylohydrazynie wzrost aktywności niespecyficznego esterazy w fibroblastach, makrofagach i adipocytach. Aktywność zasadowej fosfatazy w fibroblastach i adipocytach wzrosła, w makrofagach zaś zmalała. Aktywność kwaśnej fosfatazy wzrosła, i zmalała w adipocytach, w fibroblastach i makrofagach.

Badane enzymy: niespecyficzną esterazę, zasadową i kwaśną fosfatazę pod wpływem NaF zareagowały zmianą aktywności. W przypadku niespecyficznego esterazy wskaźnik wartości globalnej "score" grupy doświadczalnej zwierząt dla fibroblastów, makrofagów i adipocytów jest niższy od wskaźnika "score" zwierząt grupy kontrolnej.

Wskaźnik wartości globalnej "score" w przypadku zasadowej fosfatazy w grupie doświadczalnej zwierząt dla fibroblastów, makrofagów i adipocytów jest wyższy od wskaźnika "score" zwierząt grupy kontrolnej.

Wskaźnik wartości globalnej "score" dla kwaśnej fosfatazy w grupie doświadczalnej zwierząt dla fibroblastów, makrofagów i adipocytów jest niższy od wskaźnika "score" zwierząt grupy kontrolnej.

Zmiany patologiczne wywołane fluorem są skutkiem działania tego pierwiastka na poziomie molekularnym. Zmiany w aktywności enzymów są efektem powinowactwa fluoru do jonów Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} i Zn^{2+} . Zdolność łączenia się fluoru z tymi jonami jest przyczyną blokady enzymów aktywowanych przez te jony (Wiktor, 1968). Inni autorzy przyjmują bezpośrednie wiązanie się jonów fluorkowych z enzymami (Ferguson, 1971, Jenkins, 1970, Messer i inni, 1975). Jon fluorkowy działa hamująco przede wszystkim na enzymy zależne od jonu Mg^{2+} jako aktywatora (Bogin i inni, 1976).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono:

- 1) zatrucie zwierząt, objawiające się zmianami w wyglądzie i zachowaniu;
- 2) zmiany w ilości i szybkości proliferacji fibroblastów w grupie doświadczalnej zwierząt;
- 3) badane enzymy reagowały zmianą aktywności: w przypadku spadku aktywności enzymu dawka NaF okazała się bardzo toksyczna dla tego enzymu, natomiast wzrost aktywności enzymu dowodził mobilizacji reakcji obronnej komórek na skutek działania substancji toksycznej.

LITERATURA

1. Armstrong W.D., Gedalia J., Singer I., Weatherell I.A., 1970, Distribution of fluorides. Fluorides and human health. WHO, Genewa.

2. Begemann H., 1985, *Praktische Hamatologie. Differential-diagnose. Therapie. Methodik.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
3. Bogin E., Abrams M., Avidar Y., Israeli B., 1976, Effect of fluoride on enzymes from serum, liver, kidney, skeletal and heart muscle of mice. *Fluoride* 9, 42-46.
4. Brockbank K.G.M., VanPeer H.J., 1983, Colony stimulating activity production by hemopoietic fibroblastoid cells in vitro. *Acta Haemat.*, 69, 369-375.
5. Bradley T., Metcalf D., 1966, The growth of mouse bone marrow cells in vitro. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 44, 287-300.
6. Curry J.L., Trentin J.J., Wolf N., 1967, Hemopoietic spleen colony studies. *Erythropoiesis. J. Exp. Med.*, 125, 703.
7. De Bruin A., 1976, *Biochemical toxicology of environmental agents.* Elsevier/North-Holland Biomedical Press.
8. Dexter T.M., Allen T.D., Lajtha L.G., 1977, Conditions controlling the proliferation of hemopoietic stem cells in vitro. *J. Cell. Physiol.*, 91, 335-344.
9. Dexter T.M., Shadduck R.K., 1980, The regulation of haemopoiesis in long-term bone marrow cultures. *J. Cell. Physiol.*, 102, 279-286.
10. Dexter T.M., Spooncer E., Varga J., Allen T.D., Lanotte M., 1983, Stromal cells and diffusible factors in the regulation of haemopoietic cell development. In: *Haemopoietic Stem Cells. Characterization, proliferation, regulation.* eds. S.V. - A.A. Killmann, E.P. Cronkite. C.N. Muller-Berat. Munksgaard, Copenhagen.
11. Ferguson D.B., 1971, Effects of low doses of fluoride on serum proteins and a serum enzyme in men. *Nat. New Biol.*, 231, 159-160.
12. Gomori G., 1953, *Microscopic histochemistry. Principles and practice.* The University of Chicago Press.

13. Harper T.A., 1974, The peripheral blood film. Butterworths and Co. Ltd.
14. Jenkins G.N., 1970, Mechanism of action of fluoride in reducing dental caries. Fluoride in Medicine. Hans Hubner Publisher, Bern.
15. Kaplow L.S., Burnstone M.S., 1964, Cytochemical demonstration of acid phosphatase in hematopoietic cells in health and in various hematological disorders using azo-dye techniques. J. Histochem. Cytochem. 12, 805-811.
16. Katholia A., Susheela A.K., 1978, Effect of sodium fluoride on tissue protein in rabbits. Fluoride 12, 125-129.
17. Kaur R., Singh P., Maklini S.S., 1978, Longterm effects of fluoride administration - an experimental study. II Effect on serum proteins. Fluoride 11, 25-28.
18. Lanotte M., Metcalf D., Dexter T.M., 1982, Production of monocyte-macrophage CSF by preadipocyte cell lines derived from murine marrow stroma. J. Cell. Physiol., 112, 123-127.
19. Mendelow B., Grabicki D., De La Hunt M., Katz J., Metz J., 1980, Characterization of bone marrow stromal cells in suspension and monolayer cultures. Brit. J. Haematol., 46, 15-22.
20. Messer H.H., Armstrong W.P., Singer F., 1975, Fluoride, parathyroid, hormone and calcitonium effects on metabolic processes involved in bone resorption. Calc. Tiss. Res., 23, 227-233.
21. Miszta H., 1987, Effects of acetylphenylhydrazine (APHZ) on the stromal cells of the bone marrow in rats (in vitro). Folia Histochem. Cytochem. (w druku).
22. Quesenberry P., Song Z., Alberico T., Gualtieri R., Stewart M., Innes D., McGrath E., Cranston S., Kleeman E., 1985, Bone marrow adherent cell hemopoietic growth factor production. In: Hematopoietic Stem Cell Physiology. eds. E.P. Cronkite, N. Dainiak, R.P. McCaffrey, J. Palek, P.J. Quesenberry. Alan R. Liss, INC, New York.

23. Tavassoli M., Maniatis A., Crosby W.H., 1972, The effect of phenylhydrazine-induced haemolysis on the behaviour of regenerating marrow stroma. Br. J. Haematol., 23, 707.
24. Tavel D.R., 1968a, Electrophoretic mobility of serum fluoride. Nature 220, 582-583.
25. Tavel D.R., 1968b, Evidence that there are two forms of fluoride in human serum. Nature 217, 1050-1051.
26. Wiktor Z., 1968, Metabolizm fluoru w organizmie ludzkim i zwierzęcym. Materiały Sesji Nauk. Tow. Nauk., Wrocław.
27. Zipori D., Bol S., 1979, The role of fibroblastoid cells and macrophages from mouse bone marrow in the "in vitro". Growth promotion of haemopoietic tumour cells. Exp. Hemat., 7, 206-218.

Helena Miszta, Zbigniew Dąbrowski

EFFECTS OF SODIUM FLUORIDE (NaF) ON THE STROMAL CELLS
OF THE BONE MARROW IN RATS

Abstract

The study has been carried out on "Wistar" rats. The animals were divided into two groups: control and experimental. The control rats received 0,9% saline solution peritoneally in seven consecutive days while the experimental animals received sodium fluoride in the dose of 60 mg/1 kg of body weight (which corresponds to 27 mg of fluoride per 1 kg of body weight) peritoneally again in seven days.

On the ninth day of the primary tissue culture, the morphology and enzymatic activity of the stromal cells of the bone marrow were determined. The cells were grown in liquid cultures as monolayers. On a culture medium of Eagle's liquid enriched by 20% calf serum and L-glutamine.

Such parameters as type, numbers and rate of growth of cells were monitored. The cells were submitted to histochemical tests to determine the activities of nonspecific esterase as well as acid and alkaline phosphatases.

Statistically significant differences between the control and experimental animals were found in both the numbers of stromal cells and the differences in "score" values for activity of particular enzymes for various types of cells.

Хелена Мишта, Збигнев Домбровски

ВЛИЯНИЕ ФТОРА НА СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КОСТНОГО МОЗГА КРЫС

Резюме

Авторы проводили исследования на крысах породы "Wistar" Животных поделили на две группы: контрольную и опытную. В организм крыс контрольной группы, на протяжении 7 дней, вводили внутривенно 0,9% раствор хлористого натрия, в организм же крыс опытной группы также на протяжении 7 дней вводили раствор NaF концентрацией 60 мг/кг веса тела /то есть 27 мг чистого фтора/. На девятый день путём первичной культивации исследовали морфологию и энзиматическую активность стромальных клеток костного мозга. Клетки выращивали в жидких культурах, в состав которых входили: раствор Eagle с 20% сывороткой теленка и -глутамином. Авторами учитывался темп роста, тип и количество клеток. Активность клеток исследовалась путем гистохимических тестов: неспецифической эстеразы, щелочной и кислой фосфатазы. Констатировали статистически существенные различия отдельных типов стромальных клеток между контрольной и опытной группой, а также различия в величинах "score" отдельных энзимов, заключающихся в разных типах стромальных клеток.