

© Черкасов В.Г., Ковальчук О.І., Дзевульська І.В., 2010

УДК 611.16:611.33:615.9:547.271:57.08

## СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ГІСТАМІНПРОДУКУЮЧИХ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПІД ДІЄЮ МЕТИЛТРЕТБУТИЛОВОГО ЕФІРУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

*В.Г.Черкасов, О.І.Ковальчук, І.В.Дзевульська*

*Кафедра анатомії людини (зав. – проф. В.Г.Черкасов) Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, м. Київ*

**Резюме.** Установлено, що поєднане пошкодження тучних клітин та ЕСЛ-клітин у слизовій оболонці шлунка (СОШ) є наслідком токсичної дії метилтретбутилового ефіру (МТБЕ), а також одним з ймовірних пускових механізмів подальших структурних змін у судинах гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР), у сполучнотканинних клітинах та епітелії СОШ. Така реакція двох гістамінпродукуючих клітин СОШ може бути визначена як специфічна при дії МТБЕ і характеризується певною послідовністю: 1) спочатку (через 3 та 8 діб після введення МТБЕ) руйнуються тучні клітини дна шлунка; 2) далі (через 15 та 22 доби) відбувається некроз ЕСЛ-клітин дна шлунка. Ця послідовність збігається в часі з двома етапами кардинальних змін перебігу патологічного процесу в клітинах епітелію власної пластинки СОШ, підслизового прошарку та в судинах ГМЦР СОШ: I етап – переважно реактивні та некротичні зміни (через 3 та 8 діб); II етап – переважно апоптозні зміни (через 15 та 22 доби).

**Ключові слова:** шлунок, гістамінпродукуючі клітини, метилтретбутиловий ефір, світлова та електронна мікроскопія.

Широке застосування хімічних речовин і недосконалий контроль над їхнім використанням є однією з причин порушення екологічної рівноваги. Одним із глобальних забруднювачів довкілля став метилтретбутиловий ефір (МТБЕ), який є складовою високооктанового етильованого бензину [1]. Внаслідок виділення з вихлопних труб автомобілів або витікання з контейнерів МТБЕ осідає у ґрунтах, потрапляючи у ґрунтові води [2]. Тому через загрозу токсичного впливу МТБЕ на організм людини через забруднену питну воду [3, 4] першочерговим постає завдання – вивчити характерні зміни травного тракту. Екзогенні та ендогенні чинники призводять до виникнення структурних ушкоджень клітин і неклітинних компонентів слизової оболонки та гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) шлунка, порушень цитопротекторних механізмів, зміни функціональної активності секреторних клітин, нервових закінчень, кровотоку (В.Г.Передерий, 1997), що призводить до виникнення гіпоксії та оксида-

тивного стресу, руйнування цілісності структурних компонентів слизової оболонки та ГМЦР шлунка (G.Natale, 2004).

**Мета дослідження.** Вивчити морфофункціональний стан гістамінпродукуючих клітин слизової оболонки шлунка (СОШ) в нормі та під дією МТБЕ.

**Матеріал і методи.** Дослідження проведено на 90 нелінійних статевозрілих білих щурах-самців масою 200-220 г віком 7-8 міс. (4 експериментальні групи та контрольна група по 18 щурів у кожній) методами світлової мікроскопії та трансмісійної електронної мікроскопії. Всі маніпуляції проводили відповідно до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей" (1985), Директиви ЄЕС № 609 (1986). Щурам I групи щоденно одноразово вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда МТБЕ в олійному розчині в дозі 500 мг/кг, II групи – 50 мг/кг, III – 5 мг/кг, IV – 0,5 мг/кг; щурам контрольної групи вводили

тільки олію. Забір матеріалу проводили під ефірним наркозом через 1, 3, 8, 15, 22 та 60 діб. Ультратонкі зрізи вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-125К. Гістологічні зрізи вивчали та фотографували за допомогою мікроскопа OLYMPUS BX51.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Особлива роль у забезпеченні цілісності епітеліального бар'єру СОШ належить гістамін-продукуючим клітинам. Доведено, що у щурів є багато ECL-клітин, які містять гістамін, але дуже мало тучних клітин; у людини, навпаки, багато тучних клітин, але в ECL-клітинах немає гістаміну [5, 6]. У щурів ECL-клітини становлять 65-75 % ендокринних клітин, містять гістамін, хромогранін і ще неідентифіковані пептидні гормони [7].

За нашими даними, у щурів ECL-клітини трапляються тільки у дні шлунка в ділянці основи залоз СОШ між парієтальними клітинами. Вони характеризуються великими ядрами, електронно світлою цитоплазмою, що виразно виділяє їх на тлі більш електронно щільних парієтальних клітин; основою примикають до базальної мембрани епітелію; цитоплазма заповнена секреторними гранулами, які сконцентровані у широкій основі клітини і оточені поодинокими дуже дрібними перигранулярними пухирцями. Секреторні гранули деяких ECL-клітин мають вміст різної електронної щільності, що, ймовірно, відповідає фазі активного утворення і накопичення секрету. Тучні клітини містяться у всіх оболонках шлункової стінки, однак найбільше їх зосереджено у сполучній тканині підслизового прошарку та власної пластинки СОШ. Виявлена тенденція до скупчення тучних клітин навколо судин, проток залоз, нервів, лімфоїдних вузликів та епітелію. Характерною особливістю тучних клітин є присутність у цитоплазмі метакроматичних гранул.

Перші ознаки впливу МТБЕ виявлені нами у СОШ тварин I групи вже через добу після введення речовини, що виражалось появою біля стінки окремих артеріол тучних клітин, які мали ознаки дегрануляції і, навіть, руйнування цитоплазми. Міоцити артеріального відділу ГМЦР СОШ у місцях безпосереднього контакту зі специфічними гранулами тучних клітин набрякли, електронна щільність їх цитоплазми зменшена. Локальна руйнація плазмолемени

дотеліоцитів артеріального відділу ГМЦР та розширення просвіту судин є найбільш поширеною ознакою пошкоджувальної дії МТБЕ через добу експерименту. Така реакція розслаблення міоцитів описана в науковій літературі як типова при дії гістаміну тучних клітин (Н.Т.Райхлин, 2000). Слід зазначити, що клітини підслизового прошарку та власної пластинки (крім описаних тучних клітин), а також епітелію СОШ щурів I групи через добу експерименту зберігають типову будову. Це також стосується й ультраструктури ECL-клітин.

У власній пластинці СОШ та підслизовому прошарку через 3 доби експерименту виявляються у значній кількості тучні клітини типової будови. В їх цитоплазмі розташовуються специфічні гранули різноманітної, частіше сферичної форми. Ці гранули оточені мембраною і заповнені дрібнозернистою речовиною, яка в окремих гранулах має різноманітну щільність – від помірної до високої. Вміст деяких гранул неоднорідний, він включає щільні часточки, занурені у світліший матрикс. Тучні клітини воротарної частини шлунка характеризуються, як правило, непошкодженою плазмолемою. При цьому виявляються дрібні перигранулярні везикули, які подекуди (або утворюючи ланцюжки) здійснюють транспорт речовин з тучної клітини до цитоплазми. У тучних клітинах дна шлунка дегрануляція здійснюється шляхом екзоцитозу, а плазмолема має дефекти і досить часто повністю руйнується. У зонах дегрануляції тучних клітин відбувається руйнація інших клітинних елементів та неклітинного матрикса з формуванням детриту.

Нами встановлено, що до базальної мембрани епітелію СОШ в цей період примикають ECL-клітини. Вони, зазвичай, трикутної форми; їх апікальна частина не стикається з просвітом залоз або порожниною шлунка, що вказує на те, що це клітини закритого типу. Свідченням підвищеної секреторної активності ECL-клітин є збільшення (у порівнянні з нормою) кількості ізоморфних овальних гранул, що розрізняються за щільністю матрикса, поява ліпідних крапель і структур, які нагадують фагосоми. На периферії таких овальних фагосом концентруються секреторні гранули, що, враховуючи неоднорідність матрикса фагосом, дозволяє припустити механізм їх формування за рахунок злиття гранул.

Через 8 діб експерименту зміни у СОШ відбуваються на фоні дегрануляції тучних клітин та секреторної активності ECL-клітин. Через 15 діб (і особливо через 22 доби) у щурів I групи характерною є реакція мозаїчної зміни ECL-клітин: в одних ECL-клітинах кількість секреторних гранул збільшена, в інших зменшена. Однак загальним для всіх цих змін є поява в цитоплазмі вакуолей середнього розміру. Багато ECL-клітин зазнають некротичних змін, про що свідчить розпад органел і повна вакуолізація всієї цитоплазми (рисунок). Проте ядро зберігає звичайну форму, а хроматин типову організацію.

Через 60 днів у щурів I групи в ECL-клітинах визначається мала кількість секреторних гранул, а в окремих атипичних ECL-клітинах можна виявити тільки поодинокі секреторні гранули, мітохондрії та дрібні вакуолі. Такі ECL-клітини втрачають свою характерну форму, а їх цитоплазма і ядро стають пелюсткоподібними. Подібні зміни форми ядра і цитоплаз-

ми можна було б розцінити як апоптозні, якщо б ядро і цитоплазма не залишалися світлими. У будь-якому разі дані ультраструктурні зміни слід трактувати як факт не просто зниження, а повного виснаження секреторної функції (відбувається зникнення не тільки секреторних гранул, але й органел синтетичного апарату). В епітелії СОШ в цей період продовжуються апоптозні зміни, а в просвіті залоз виявляються апоптозні тіла.

Узагальнюючи наведене, слід зазначити, що результатом дії МТБЕ на клітини СОШ в найбільшій дозі (500 мг/кг) є: 1) зміни ядра і цитоплазми (і, як наслідок, інгібування гомеостатичних і репаративних механізмів); 2) відокремлення епітеліоцитів від прилеглих тканинних структур; 3) деградація структурних і регуляторних компонентів клітини (за рахунок поділу ядра і цитоплазми на апоптозні тіла); 4) злушення апоптозних епітеліоцитів у просвіті шлунка або їх фагоцитоз макрофагами власної пластинки СОШ.

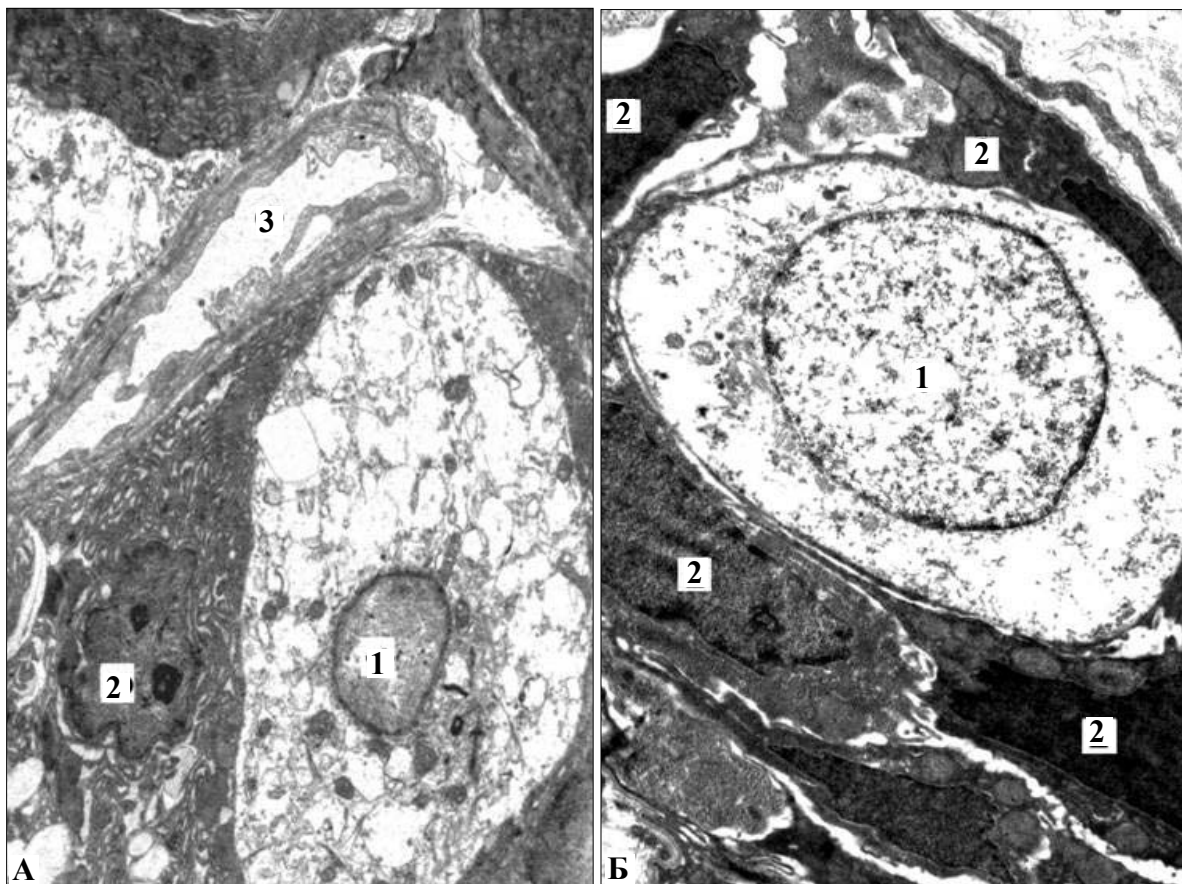


Рис. Вакуолізована (А) і некроз ECL-клітини та апоптозні зміни паріетальних клітин (Б) слизової оболонки дна шлунка щура I групи через 22 доби експерименту. А (зб. 5000х): 1 – ядро ECL-клітини; 2 – ядро паріетальної клітини; 3 – просвіт кровоносного капіляра. Б (зб. 6000х): 1 – ядро ECL-клітини; 2 – апоптозні епітеліоцити та їх апоптозні тіла.

У щурів II групи через добу спостерігається дегрануляція періартеріолярних тучних клітин. Для тучних клітин підслизового прошарку та власної пластинки слизової оболонки дна шлунка через 3 доби дії МТБЕ типовим є екзоцитоз секреторних гранул, які в значній кількості виявляються у клітинному детриті між колагеновими волокнами, та руйнування цитоплазми. ECL-клітини слизової оболонки дна шлунка характеризуються наявністю в цитоплазмі великої кількості секреторних гранул із вмістом різної електронної щільності фагосом, ліпідних крапель. Через 8 діб експерименту в місцях, де відбувається екзоцитоз тучних клітин слизової оболонки дна шлунка, утворюються вогнища клітинного детриту. ECL-клітини слизової оболонки дна шлунка у цей період виявляють структурні ознаки підвищеної секреторної активності. Зазвичай, секреторні гранули ECL-клітин у цей період експерименту мають щільнішу серцевину (оточену електронно-світлим ореолом) і виявляють тенденцію до взаємного злиття. Через 15 діб у цитоплазмі ECL-клітин (зокрема й тих, що мають всі структурні ознаки активної секреції) виявляються великі вакуолі. Через 22 доби можна виявити окремі ECL-клітини з ознаками різкого зниження секреторної активності (свідченням чого є істотне зменшення кількості секреторних гранул) і з великими вакуолями, які, іноді, зливаються у пухирці. Такі зміни ECL-клітин супроводжуються появою великих вакуолей у цитоплазмі суміжних парієтальних клітин, хоча в інших ділянках слизової оболонки дна та воротарної частини шлунка епітеліальні клітини невакуолізовані. Більше того, частина їх зазнає апоптозних змін. Свідченням цього є наявність параневральних та паравазальних макрофагів з фагоцитованими апоптозними тілами. У щурів II групи через 60 діб експерименту структура СОШ наближається до норми. Слід зауважити, що в цитоплазмі ECL-клітин у цей період мало секреторних гранул, містяться окремі вакуолі середнього і малого розміру.

У щурів III групи у СОШ активація тучних клітин збігається з появою структурних проявів синтезу і накопичення та активної дегрануляції ECL-клітин слизової оболонки дна шлунка, які іноді розташовуються групами (по 2-3 клітини). Перигранулярні везикули в цитоплазмі ECL-

клітин мають більші розміри, ніж в нормі, заповнені електроннощільним вмістом, формують у базальному полюсі клітини "ланцюжки" і "канали". Вже через 3 доби експерименту реактивні зміни артеріол та ECL-клітин СОШ зникають. Упродовж подальших термінів спостереження епітеліальний шар, власна пластинка, підслизова основа і ланки ГМЦР зберігають характерну для норми будову. У щурів IV групи у СОШ істотних змін не виявлено.

Топографічні особливості формування ушкоджень СОШ щура під впливом введених внутрішньошлунково одноразових різних (500, 50, 5 та 0,5 мг/кг) щодобових доз МТБЕ пов'язані з мозаїчним ураженням судин ГМЦР та реакцією паравазальних клітин, в першу чергу тучних клітин, макрофагів і еозинофільних гранулоцитів. Одним з ефектів дії МТБЕ є активація дегрануляції тучних клітин СОШ в межах дна та воротарної частини. При цьому в тучних клітинах воротарної частини шлунка дегрануляція здійснюється за рахунок везикулярної секреції, а в тучних клітинах дна шлунка – екзоцитозу; це супроводжується ушкодженням плазмолемі та, іноді, повною руйнацією окремих тучних клітин.

Динаміка часових параметрів і просторових характеристик змін ультраструктури тучних клітин шлунка після впливу різних доз МТБЕ збігається з ультраструктурними змінами ECL-клітин СОШ. Встановлена активна поляризація цитоплазми ECL-клітин епітелію СОШ після дії МТБЕ. Секреторні гранули синтезуються і накопичуються в цитоплазмі широкого базального (прилегло до базальної мембрани епітелію) полюса; в цій же ділянці відбувається активна дегрануляція ECL-клітини, структурними ознаками якої є: 1) збільшення кількості дрібних перигранулярних пухирців; 2) їх концентрація у вигляді "полів" та "ланцюжків"; 3) їх злиття з формуванням "каналів", які відкриваються на прилеглий до базальної мембрани епітелію плазмолемі ECL-клітини. Є всі підстави вважати, що продукти секреції ECL-клітин (і, в першу чергу, гістамін) виділяються, головним чином, у власну пластинку СОШ. Слід зазначити, що це свідчить про однакову спрямованість реакції тучних та ECL-клітин на виділення гістаміну, головною мішенню якого є прилегла до базальної

мембрани епітелію сполучна тканина.

Отже, зміни гістамінпродукуючих клітин СОШ щурів I та II експериментальних груп характеризуються певною послідовністю: 1) спочатку (через 3 та 8 діб введення МТБЕ) руйнуються тучні клітини дна шлунка; 2) далі (через 15 та 22 доби) відбувається некроз ЕСЛ-клітин дна шлунка. Ця послідовність збігається в часі з двома етапами кардинальних змін перебігу патологічного процесу в клітинах епітелію власної пластинки, підслизового прошарку та судинах ГМЦР СОШ: I етап – переважно реактивні та некротичні зміни (через 3 та 8 діб); II етап – переважно апоптозні зміни (через 15 та 22 доби).

Нами з'ясовано, що МТБЕ може діяти як безпосередньо на клітини СОШ, так і непрямо – через гістамінпродукуючі та гастринзалежні ЕСЛ-клітини: 1) спостерігається ушкодження епітеліальних клітин, які на значній частині були десквамовані у просвіт шлунка, що відображає процеси некрозу та апоптозу в локальних ділянках епітелію та прилеглий сполучній тканині; 2) значною мірою руйнуються клітини шлункових залоз – на початку слизові клітини перешийка та шийки залози, а також парієтальні та головні клітини; 3) серед дезорганізованих мас основної речовини виявлені макрофаги, тучні клітини та фібробласти, цитоплазма яких лізована; 4) кровоносні капіляри мають зруйновану стінку, їхні просвіти заповнені еритроцитами на різних етапах гемолізу та тромбоцитами, що свідчить про розвиток гіпоксії та зміни у коагуляційній та фібринолітичній системах крові; 5) порушується мікрогемодинаміка внаслідок утворення коагулятів у судинах, деструктивні зміни відбуваються в нервових волокнах та їх закінченнях. Нами відмічено, що тучні (особливо параартеріолярні тучні клітини) і

ЕСЛ-клітини є клітинами найближчого мікроточення судин ГМЦР СОШ. Тому структурні зміни в цих гістамінпродукуючих клітинах зумовлюють структурні зміни судин ГМЦР, які у щурів III-IV експериментальних груп мають переважно реактивний характер, а у щурів I-II груп відбуваються у 2 етапи: I етап – переважно реактивні та некротичні зміни (через 3 та 8 діб); II етап – переважно апоптозні зміни (через 15 та 22 доби). Встановлено, що при дії МТБЕ в дозах 500 та 50 мг/кг упродовж усіх термінів спостереження розвиваються і поступово прогресують порушення у структурі СОШ (причому найбільш суттєві реактивні і деструктивні процеси відбуваються у сполучній тканині). В той же час МТБЕ в дозах 5 та 0,5 мг/кг викликає досить помірні структурні зміни СОШ.

**Висновок та перспективи подальших досліджень.** 1. Поєднане пошкодження двох гістамінпродукуючих клітин у слизовій оболонці дна шлунка (тучних клітин та ЕСЛ-клітин) є наслідком токсичної дії метилтретбутилового ефіру (МТБЕ), а також одним із ймовірних пускових механізмів подальших структурних змін у судинах гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР), у сполучнотканинних клітинах і в епітелії слизової оболонки шлунка (СОШ). Така реакція двох гістамінпродукуючих клітин СОШ може бути визначена як специфічна при дії МТБЕ. 2. Викладеними вище фактами та їх аналізом зумовлена необхідність подальшого дослідження дії МТБЕ на стан СОШ та інших органів людини для з'ясування механізмів токсичної дії, профілактики професійних захворювань і обґрунтування необхідності запобігання забрудненню продуктами згоряння бензину ґрунту та доквілля.

### Література

1. Паустовський Ю.О. Еколого-токсикологічна оцінка глобального забруднювача доквілля – метилтретбутилового ефіру (стан та перспективи) / Ю.А.Паустовский // *Пріоритетні пробл. гігієни праці, проф. та виробничо зумовленої захворюваності в Україні: зб. наук. праць; за ред. О.Яворовського та ін.* – К.: НМУ, 2008. – С. 150-159.
2. Vojdani A. Abnormal apoptosis and cell cycle progression in humans exposed to methyl tertiary-butyl ether and benzene contaminating water / A.Vojdani, E.Mordechai, N.Brautbar // *Hum. and Exp. Toxicol.* – 1997. – Vol. 16, № 9. – P. 485-494.
3. Safarzadeh-Amiri A. O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tretment of Methyl tert-Butyl Ether (MTBE) in contaminated waters / A.Safarzadeh-Amiri // *Wat. Res.* – 2001. – Vol. 35. – P. 3706-3714.
4. Sutherland J. Treatment of MTBE by air stripping, carbon adsorption, and advanced oxidation: technical and economic comparison for five groundwaters / J.Sutherland, C.Adams, J.Kekobad // *Wat. Res.* – 2004. – Vol. 38. – P. 193-205.
5. Особенности цитохимии тучных клеток в некоторых органах крысы / А.Е.Коцюба, В.М.Черток, Е.П.Коцюба, Е.В.Бабич // *Цитол.* – 2008. – Т. 50, № 12. – С. 1023-1029.
6. Histamin containing endocrine cells in the human

stomach / H.Lonroth, R.Hakanson, L.Lundell, F.Sundler // Gut. – 1990. – Vol. 31. – P. 383-388. 7. The biology and physiology of the ECL cell / R.Hakanson, D.Chen, K.Andersson [et al.] // Yale J. Biol. Med. – 1994. – Vol. 67, № 3-4. – P. 123-134.

**СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИСТАМИНПРОДУЦИРУЮЩИХ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ МЕТИЛТРЕТБУТИЛОВОГО ЭФИРА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Резюме.** Установлено, что одновременное повреждение тучных клеток и ECL-клеток в слизистой оболочке желудка (СОЖ) является следствием токсического воздействия метилтретбутилового эфира (МТБЭ), а также одним из вероятных механизмов последующих структурных изменений в сосудах гемомикроциркуляторного русла (ГМЦР), в клетках соединительной ткани и эпителии СОЖ. Такая реакция гистаминпродуцирующих клеток СОЖ может быть определена как специфическая под воздействием МТБЭ и характеризуется определенной последовательностью: 1) сначала (через 3 и 8 суток после введения МТБЭ) разрушаются тучные клетки дна желудка; 2) далее (через 15 и 22 суток) возникает некроз ECL-клеток дна желудка. Эта последовательность совпадает с двумя этапами кардинальных изменений протекания патологического процесса в клетках эпителии собственной пластинки СОЖ, подслизистой основы и в сосудах ГМЦР СОЖ: I этап – преимущественно реактивные и некротические изменения (через 3 и 8 суток); II – преимущественно апоптозные изменения (через 15 та 22 суток).  
**Ключевые слова:** желудок, гистаминпродуцирующие клетки, метилтретбутиловый эфир, световая и электронная микроскопия.

**STRUCTURAL CHANGES OF HISTAMINE-PRODUCING CELLS OF THE MUCOUS COAT OF THE STOMACH UNDER THE ACTION OF METHYL TERTIARY BUTYL ETHER IN AN EXPERIMENT**

**Abstract.** It has been established that a combined damage of the most cells and ECL-cells in the mucous coat of the stomach (MCS) is a consequence of the toxic action of methyl tert-butyl ether (MTBE) and one of the vessels of the hemimicrocirculatory channel (HMCC), in the connective tissue cells and the MCS epithelium. Such a reaction of two histamine-producing cells of the MCS may be determined as a specific one under the action of MTBE and is characterized by a certain sequence: 1) initially (in 3 and 8 24-hour periods upon the introduction of MTBE) the most cells of the stomach fundus are destructed; 2) later on (in 15 and 22 24-hour periods) necrosis of te ECL-cells of the gastric fundus ensues. This sequence coincides in time with two stages of cardinal changes of the course of the pathological process in the epithelial cells of the MCS lamina propria, the submucous layer and in the vessels of the HMCC and MCS: stage I – primarily reactive and necrotic changes (in 3 and 8 24-hour periods); stage II – primarily apoptotic changes (in 15 and 22 circadian periods).  
**Key words:** stomach, histamine-producing cells, methyl tertiary butyl ether, light and electron microscopy.

O.O.Bohomolets National Medical University (Kyiv)

Надійшла 01.02.2010 р.

Рецензент – д. мед. н. Л.Я.Федонюк (Чернівці)