

*В.Л. Быков\** и *Е.А. Исеева*

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ПОКРОВНОГО ЭПИТЕЛИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПИЩЕВОДА

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. В.Л. Быков) Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова

В обзоре систематизированы и обобщены классические и современные представления о функциональной морфологии покровного эпителия слизистой оболочки пищевода, его архитектонике, ультраструктуре, дифференцировке, организации пролиферативного компартамента, распределении и активности стволовых клеток, параметрах клеточного цикла, механизмах его регуляции факторами роста и гормонами, процессах десквамации и апоптоза эпителиоцитов в норме, патологии и эксперименте. Приведенные данные показывают, что покровный эпителий пищевода представляет собой сложно организованную тканевую систему, в которой в физиологических условиях сбалансирована активность механизмов образования клеток, их дифференцировки и гибели путем апоптоза. Эпителий пищевода обладает высокой способностью к регенерации и располагает рядом защитных механизмов, противодействующих влиянию повреждающих факторов. Поломка механизмов, контролирующих тканевый гомеостаз, вследствие длительно повторяющихся повреждающих воздействий может приводить к развитию диспластических явлений и опухолевому росту.

**Ключевые слова:** *пищевод, покровный эпителий, ультраструктура, пролиферация, апоптоз.*

В последние десятилетия в различных странах мира отмечено многократное увеличение частоты заболеваний пищевода, в частности, рефлюкс-эзофагита, обусловленного так называемой гастроэзофагальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ), инфекционных поражений органа, а также его опухолей, в особенности аденокарцином [13, 87, 88, 114, 123]. Анализ патогенеза и морфогенеза указанных заболеваний, а также их эффективная гистологическая диагностика требуют детального знания нормального строения и гистофизиологии слизистой оболочки пищевода и, в первую очередь, ее эпителия. Вместе с тем, в литературе преобладают схематизированные его описания, а многочисленные исследования и единичные обзоры посвящены лишь частным вопросам [51, 61, 75, 99, 106]. Задачей настоящей обзорной статьи явилась систематизация сведений и критический анализ современных представлений о функциональной морфологии эпителия слизистой оболочки пищевода. В связи с направленностью изложения на задачи медицины основное внимание в нем уделено пищеводу человека, однако приводятся также некоторые данные сравнительного и экспериментального характера, касающиеся млекопитающих животных, которые способствуют более глубокому пониманию процессов, происходящих в эпителии. Основное внимание в обзоре уделено структурной организации покровного эпителия, вопросам регуляции его пролиферативной активности и апоптоза. Проблемы эмбрионального гистогенеза эпителия и его гистохимические характеристики в настоящей статье не рассматриваются, поскольку они нуждаются в детальном самостоятельном изложении.

**Общая характеристика и толщина эпителиального пласта.** Эпителий взрослых млекопитающих животных и человека — многослойный плоский, его пласт

имеет сравнительно большую толщину. Так, у взрослого человека она достигает 200–300 мкм [2, 3, 20, 21], а по некоторым данным, 500 мкм [99]. Величина этого показателя у детей в возрасте от 1 года до 5 лет составляет в среднем 136 мкм (колебания в пределах 104–169 мкм) [74], у детей более старшего возраста она равна 164 мкм [28, 122].

Как правило, авторами приводятся усредненные величины, хотя толщина эпителия существенно различается в тех участках, где он покрывает соединительнотканые сосочки собственной пластинки слизистой оболочки (СПСО) и тех, что находятся между ними (в области эпителиальных гребешков — интерпапиллярной зоне). В норме толщина эпителия над областью расположения длинных (высоких) соединительнотканых сосочков составляет около одной трети (примерно 33%) от максимальной толщины эпителиального пласта в интерпапиллярной зоне [46, 57, 105].

У животных толщина эпителия пищевода варьирует в широких пределах в зависимости от видовой принадлежности. У кошки она составляет 72–92 мкм вне сосочков и 49–62 мкм над сосочками. В этих же участках она равна у собаки 94–112 и 55–59 мкм, у свиньи — 373–425 и 238–306 мкм, у лошади — 247–260 и 148–166 мкм, у овцы — 315–343 и 192–231 мкм, у мыши — 60–70 и 47–70 мкм соответственно [104]. По нашим данным, толщина эпителия в пищеводе взрослой мыши колеблется в пределах 47–78 мкм. Отмечается, что в различных участках органа толщина эпителия пищевода как экспериментальных животных, так и человека существенно варьирует. В целом, в пищеводе человека она нарастает от средней трети органа к нижней [105]. Аналогичным образом она увеличивается от крадальной части к каудальной у кошки, собаки, мыши, но не ме-

\*E-mail: vbykov@spmu.rssi.ru

няется у свиньи, лошади и овцы [104]. Значительное увеличение толщины эпителия, в частности, сочетающееся с акантозом, рассматривают как патологический признак, поскольку оно отмечается при воспалительных процессах в органе — эзофагитах различной этиологии, а также при введении некоторых фармакологических препаратов [4, 6, 11, 74, 105, 113].

Общее количество слоев клеток в эпителиальном пласте варьирует в зависимости от видовой принадлежности и возраста. Так, эпителий пищевода грудных детей содержит 6–9 слоев клеток, а взрослых людей — до 22–24 слоев [20, 46, 57]. В эпителии пищевода кошки насчитывают 17–18 слоев клеток, собаки — 14–16, лошади — 72–78, мыши — 6–7 слоев (ядросодержащих клеток), овцы — 46–52 слоя [104]. По нашим данным, количество ядросодержащих слоев в эпителии пищевода взрослой мыши колеблется в пределах 4–7.

**Ороговение эпителия пищевода.** Хотя в целом эпителий слизистой оболочки пищевода млекопитающих построен по единому плану, для него характерны некоторые видовые различия, которые прежде всего определяются свойственным данному виду характером питания. Структурно-функциональные различия связаны с наличием процесса ороговения в поверхностных слоях эпителия, его выраженностью и характером (по типу орто- или паракератоза). У животных, питающихся грубой растительной пищей (например, у грызунов, жвачных, парнокопытных и др.), эпителий содержит хорошо выраженный роговой слой, напротив, у хищных млекопитающих эпителий — неороговевающий, а у животных со смешанным типом питания он может частично ороговеть, нередко с явлениями паракератоза [26, 36, 58, 104]. У человека в норме эпителий пищевода, по данным световой и электронной микроскопии, — многослойный плоский неороговевающий. В старческом возрасте может отмечаться слабо выраженное ороговение эпителия, обычно происходящее путем паракератоза [22, 37]. Причины этого явления, однако, остаются невыясненными — одни исследователи считают такое ороговение результатом возрастных изменений, другие — связывают его с питанием более грубой пищей вследствие потери зубов.

Вместе с тем, эпителий пищевода у человека сохраняет в полной мере способность к ороговению, которая проявляется в виде реактивных изменений или при некоторых патологических процессах. Так, в ответ на действие раздражающих факторов, например, при частом употреблении алкоголя, острой и чрезмерно горячей пищи, курении и в особенности при сочетании этих факторов, эпителий пищевода человека через ряд промежуточных стадий приобретает способность к ороговению, которая в полной мере проявляется в бластоматозном росте при развитии плоскоклеточных раков пищевода с ороговением [2, 37]. Значительно выраженное ороговение эпителия пищевода отмечается в случаях хронического эзофагита с лейкоплакией, когда эпителий утолщается в несколько раз и формирует роговой слой [21, 37]. При патологических состояниях ороговение в эпителии пищевода часто протекает по типу паракератоза. В частности, при эзофагите в эпителиоцитах

поверхностного слоя выявляются кератогиалиновые и паракератотические гранулы [54]. Эпителий с признаками паракератоза часто встречается в неизменной слизистой оболочке за пределами опухолей пищевода. На электронно-микроскопическом уровне это проявляется неполным ороговением эпителия с избыточным накоплением цитокератиновых промежуточных филаментов, ядерными изменениями, которые достигают стадий пикноза и лизиса, а также аномалиями десквамации [14, 42].

**Общий план строения и классификация слоев эпителия.** По строению эпителий пищевода человека очень сходен с аналогичными многослойными плоскими эпителиями других локализаций, например, в ротовой полости, влагалище, влагалищной части шейки матки [25]. На светооптическом уровне в многослойном плоском неороговевающем эпителии пищевода, в частности, у человека, гистологически обычно выделяют 3 слоя — базальный, шиповатый (промежуточный) и поверхностный, который именуют также функциональным [53, 63], а в ороговевающем эпителии — базальный, шиповатый, зернистый и роговой слои [20]. Базальный и шиповатый слои эпителия в отдельных участках врастают в подлежащую соединительную ткань собственной пластинки слизистой оболочки в виде эпителиальных гребешков; выросты собственной пластинки между гребешками образуют соединительнотканые сосочки [25, 63].

Согласно другой гистологической классификации, эпителий пищевода подразделяют на 2 зоны — базальную и зону дифференцированных клеток. Первая представлена несколькими слоями мелких малодифференцированных клеток, а вторая — состоит из многочисленных слоев терминально дифференцированных постепенно уплощающихся клеток. Базальная зона имеет сложное строение и содержит один слой клеток, располагающихся непосредственно на базальной мембране (базальный слой), и вариabельное число слоев клеток, расположенных над ним (эпибазальные слои) [46, 106]. На базальную зону приходится менее 10% толщины эпителия пищевода человека [46, 57].

Пролиферация клеток эпителия ограничена базальной зоной, откуда клетки постепенно мигрируют в направлении поверхностных слоев. Клетки эпибазальных слоев, в отличие от базального, уже вступили на путь дифференцировки в соответствии с программой многослойного плоского эпителия. Между тем, эти клетки все еще частично сохраняют способность к делению [106]. Миграция клеток к просвету органа сопровождается их фенотипическими и функциональными преобразованиями с последовательной экспрессией маркеров дифференцировки [61].

Некоторые авторы считают целесообразным выделение в эпителии пищевода человека герминативной зоны, в которую включают базальный и шиповатый слои, содержащие до 20 слоев клеток, и поверхностной защитной зоны толщиной в 3–5 слоев плоских клеток с уплощенными ядрами. У грызунов герминативная зона состоит из 4–5 слоев, имеется также тонкий зернистый слой с гранулами кератогиалина в цитоплазме клеток, поверхностный роговой слой не содержит ядер [2, 3].

**Базальный слой.** Этот наиболее глубокий слой образован кубическими или низкими призматическими клетками с базофильной цитоплазмой, которые лежат в 1–2 ряда. На этот слой у человека приходится около 15% всей толщины эпителия, а у крысы его клетки составляют до 62% совокупной толщины слоев ядросодержащих клеток [71]. Базальные клетки располагаются на непрерывной базальной мембране (пластинке) толщиной 50–80 нм, под которой находится слой ретикулярных волокон — ретикулярная пластинка толщиной 40 нм [51]. По другим данным, общая толщина базальной мембраны в пищеводе человека достигает 0,9–1,1 мкм [3]. Ретикулярная пластинка, как и базальная мембрана эпителия, характеризуется наличием многочисленных отверстий (пор) диаметром 3–5 мкм. Такие поры не выявляются в области соединительнотканых сосочков, но располагаются вокруг них. Поры являются каналами, посредством которых осуществляется связь между эпителием пищевода и подлежащей СПСО. В частности, в области этих пор отмечаются непосредственные контакты эпителиоцитов и фибробластов. Через них в эпителий и в обратном направлении мигрируют иммунокомпетентные клетки (лимфоциты, клетки Лангерганса) [3, 51]. Аналогичные каналы описаны, например, в тонкой кишке [112].

Базальная мембрана состоит из светлой и темной пластинок, от последней вглубь соединительной ткани идут петлеобразные нити якорных филаментов. От базальной поверхности клеток базального слоя в соединительную ткань вдаются многочисленные выросты (базальные отростки) [14, 25].

Базальные клетки связаны с базальной мембраной полудесмосомами, а между собой и с клетками шиповатого слоя — десмосомами; на их поверхности выявляются выросты цитоплазмы типа микроворсинок, обращенные в межклеточные пространства, которые в этом слое довольно широкие [14, 25, 53, 63, 73]. По данным электронной микроскопии и иммуногистохимических исследований (выявление коннексинов-26 и -43), между клетками базального слоя имеются также щелевые соединения [43, 73, 85, 104]. По данным электронно-микроскопического исследования, щелевые соединения в базальном слое эпителия пищевода человека менее многочисленны, чем в шиповатом [73]. Между тем, иммуноцитохимическая реакция выявления коннексинов в базальном слое выражена сильнее, чем в шиповатом [104], при этом в последней работе исследован эпителий пищевода ряда животных.

Для клеток базального слоя характерны признаки незрелости: высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение, преобладание эухроматина в ядре, слабо развитые органеллы. Ядра продолговатые, ориентированы своей длинной осью перпендикулярно базальной мембране, содержат 1–2 крупных ядрышка неправильной формы. В цитоплазме клеток этого слоя обнаружены многочисленные свободные рибосомы, рудиментарный комплекс Гольджи, отдельные цистерны гранулярной эндоплазматической сети и немногочисленные митохондрии. В ней присутствуют также в небольшом количестве пучки тонофиламентов, часто встречаются липидные включения [14, 25, 53, 63].

Базальный слой в отдельных участках обладает некоторыми важными структурно-функциональными особенностями вследствие того, что в эпителий пищевода внедряется подлежащая собственная пластинка слизистой оболочки в виде высоких соединительнотканых сосочков, которые располагаются закономерно на определенном расстоянии друг от друга. В результате этого базальный слой подразделяется на два компонента: расположенный между сосочками и имеющий сравнительно линейную конфигурацию (межсосочковый, или интерпапиллярный, базальный слой — МБС), и покрывающий сосочки (сосочковый, или папиллярный, базальный слой — СБС) [106, 107].

В базальном слое встречаются митотически делящиеся клетки и, вероятно, сосредоточены стволовые клетки эпителия пищевода. В пищеводе мыши делящиеся эпителиальные клетки произвольно распределены по базальному слою [59, 76]. Вместе с тем, расположение делящихся и стволовых клеток в пищеводе человека связано с их локализацией относительно сосочков СПСО. Так, установлено, что в пределах базального слоя митотически делящиеся клетки встречаются примерно в 4 раза чаще в СБС, чем в МБС. Более того, фигуры митоза в базальном слое ориентированы неодинаково. В СБС деление клеток происходит симметрично по отношению к подлежащей СПСО, причем обе образующиеся дочерние клетки контактируют с базальной мембраной. Напротив, в МБС клеточное деление происходит асимметрично. Большинство фигур митоза в МБС ориентировано под прямым углом к базальной мембране, в результате чего одна дочерняя клетка остается в базальном слое, тогда как вторая — смещается в эпибазальные слои. На основании этих наблюдений делается заключение, что клетки в МБС можно рассматривать как вероятные стволовые клетки (кандидаты в стволовые клетки) эпителия пищевода. В условиях *in vivo* они пролиферируют относительно редко, а при делении дают одну дочернюю клетку, которая остается в области низкой пролиферативной активности (презумптивную стволовую клетку), и вторую, которая вступает в область высокой пролиферативной активности (презумптивную транзиторно-амплифицирующую клетку) [106, 107].

Деление базальных стволовых клеток сочетает симметричные (эквивалентные) или асимметричные (дифференцирующие) митозы [63, 70, 76]. При делении стволовой клетки в базальном слое могут образоваться: 1) две клетки базального слоя (эквивалентный базальный митоз); 2) одна клетка базального слоя и одна — шиповатого (дифференцирующий митоз); 3) две клетки шиповатого слоя (эквивалентный выделяющий митоз). После однократного введения животным  $^3\text{H}$ -тимидина уже в течение нескольких суток происходит снижение содержания и последующая полная потеря метки в клетках базального слоя, что указывает на достаточно быстрое их обновление. Начало миграции клеток базального слоя отмечается уже спустя краткий срок после введения изотопа, однако первоначально число таких клеток невелико. Так, через 12 ч лишь 3% этих клеток вступают в шиповатый слой; по-видимому, эта клеточная фракция

состоит из клеток, образованных в результате дифференцирующих митозов. К 24 ч значительно большее число клеток базального слоя перемещаются в шиповатый, причем скорость их миграции составляет примерно 1% в час. Средняя длительность периода обновления клеток базального слоя составляет около 4,5 сут [63, 71].

Клетки СБС мигрируют в вышележащие слои. Этому соответствует супрабазальная экспрессия интегринов [107]. Такое явление наблюдается в эпидермисе, когда быстро пролиферирующие клетки мигрируют из базального слоя [94]. В отличие от эпидермиса, в базальном слое которого одновременно присутствуют как стволовые, так и транзиторно-амплифицирующие клетки, в эпителии пищевода эти клетки располагаются в различных тканевых компартментах [106].

По сравнению с эпидермисом, в котором судьба дочерних клеток, образующихся из стволовых клеток в базальном слое, определяется так называемой популяционной асимметрией [117], деление стволовых клеток в МБС с образованием дочерних клеток, образующих транзиторно-амплифицирующий слой, происходит единообразно: под прямым углом к подлежащей базальной мембране и одна дочерняя клетка неизменно перемещается в эпибазальный транзиторный компартмент. Это явление напоминает то, что происходит со стволовыми клетками в некоторых эмбриональных структурах, но, по-видимому, встречается довольно редко в зрелых эпителиях у млекопитающих и не наблюдается в эпидермисе [106, 117].

Очень важную роль в регуляции поведения стволовых клеток эпителия играет базальная мембрана. Последняя, взаимодействуя с эпителиальными клетками, обуславливает асимметричную ориентацию клеточного деления в базальном слое и определяет архитектуру ткани в целом. При культивировании эпителиальных клеток пищевода на лишенной клеток дерме фигуры митоза в базальном слое эпителия ориентированы произвольно. При этом граница между эпителием и подлежащим матриксом — плоская. Напротив, если эти клетки культивируют на лишенной клеток соединительной ткани СПСО пищевода, покрытой базальной мембраной, деление эпителиальных клеток происходит преимущественно асимметрично, причем отмечается формирование отчетливо выраженных соединительнотканых сосочков, которые напоминают таковые, имеющиеся в органе *in vivo* [107]. Предполагается, что особенности ориентации фигур митоза эпителиальных клеток в разных участках базального слоя пищевода зависят от неодинаковых адгезивных взаимодействий этих клеток с базальной мембраной. Хотя точный состав базальной мембраны эпителия пищевода остается неизученным, показано, что содержание некоторых изоформ ламинина варьирует в участках мембраны, связанных с МБС и СБС [106, 107].

Традиционно стволовые клетки взрослого организма считались строго тканеспецифическими вследствие их необратимой детерминации (коммитирования) в эмбриональном периоде. Вместе с тем, новейшие представления о пластичности стволовых клеток и возможности их перепрограммирования в

соответствии с характером микроокружения, в котором происходит их развитие [39], требуют более глубокого анализа этого вопроса с привлечением экспериментальных и клинических данных. В связи со сказанным представляют несомненный интерес сведения о том, что у пациентов, которым проводили трансплантацию костного мозга от доноров противоположного пола, порядка 0,4–4,6% эпителиальных клеток пищевода, желудка, тонкой и толстой кишки в дальнейшем соответствовали донору по своей половой принадлежности. Таким образом, подтверждено предположение, что стволовые клетки костного мозга могут дифференцироваться в различные типы клеток, в частности, способны заселять эпителии пищеварительного тракта человека. В особенности значимое заселение донорскими клетками происходило при регенерации тканей пищеварительного тракта в случаях болезни «трансплантат—против хозяина» и формирования язв. Участие клеток донора костномозгового происхождения в регенерации эпителиев пищеварительного тракта человека указывает на потенциальную возможность клинического использования этих клеток для восстановления эпителия, поврежденного различными патологическими процессами [82]. Характеристика митотической активности эпителия пищевода приведена ниже в разделе «Регенерация эпителия».

**Шиповатый слой.** Клетки шиповатого слоя образуются в результате дифференцировки клеток базального слоя и их миграции в направлении просвета органа. У крысы на клетки этого слоя приходится около 30% ядродержащих клеток эпителиального пласта. Клетки шиповатого слоя имеют полигональную форму и характеризуются многочисленными цитоплазматическими пальцевидными выростами, которые выступают в межклеточные пространства и формируют связи с аналогичными выростами соседних клеток посредством десмосом. Последние наиболее многочисленны именно в этом слое [73]. Межклеточные пространства в шиповатом слое, как и в базальном, сравнительно широкие и содержат детрит в виде гранулярного и мембранного материала.

Эпителиоциты образуют также выросты типа микроворсинок, местами обнаруживаются так называемые поля десмосом [14, 22, 53, 73]. Между этими клетками отмечены также другие типы соединений, в частности, щелевые и плотные [73]. Присутствие цитоплазматических выпячиваний, имеющих сходство с шипами, послужило основанием к наименованию данного слоя. В цитоплазме клеток располагаются многочисленные пучки тонофиламентов, которые формируют сеть внутри клеток и связаны с десмосомами. По мере миграции в направлении функционального слоя в клетках шиповатого слоя проявляются признаки дифференцировки, которые однако неодинаковы у представителей различных видов. В пищеводе человека эти клетки постепенно уплощаются, тонофиламенты накапливаются во все большем количестве, в цитоплазме появляются скопления гранул гликогена, которые образуют розетки, а также кератиносомы, называемые также мембрано-покрывающими, или пластинчатыми (ламеллярными) гранулами. Эти гранулы появляются в области



комплекса Гольджи и вдоль апикальной поверхности плазмолеммы клеток, расположенных в наружных частях шиповатого слоя. Они имеют размер 200–300 нм, округлую форму, электронно-плотные ободок и центральную часть. Кератиносомы характеризуются сравнительно высокой электронной плотностью и лишь изредка имеют пластинчатое строение, такое же как в клетках эпидермиса [14, 22, 25, 53, 42]. Они располагаются вблизи наружной поверхности клеток и, поскольку содержат кислую фосфатазу, их считают частью лизосомального аппарата. Выделение их содержимого в межклеточное пространство способствует разрушению десмосом в поверхностном слое, обеспечивающему десквамацию. Содержание гликогена и кератиносом в клетках прогрессивно нарастает в направлении наружной части шиповатого слоя [53]. У кролика клетки шиповатого слоя эпителия пищевода образуют мелкие гранулы, причем экзоцитоз их содержимого в межклеточное пространство обеспечивает его барьерные свойства, препятствуя парацеллюлярным механизмам проницаемости эпителиального пласта [63, 83]. В пищеводе крысы клетки шиповатого слоя образуют кератогиалиновые гранулы, превращаясь в клетки зернистого слоя, на которые приходится около 8% ядросодержащих клеток эпителиального пласта. Перемещение эпителиальной клетки из базального слоя сквозь шиповатый до зернистого занимает примерно 48 ч [71].

По некоторым данным [22], в эпителии пищевода человека в норме дифференцировка клеток в шиповатом слое сопровождается некоторыми признаками, которые могут свидетельствовать о тенденции к ороговению: декомпозицией тонофибриллярного каркаса, потерей ориентации и распадом тонофибрилл на отдельные филаменты, которые концентрируются по периферии цитоплазмы и особенно в цитоплазматических выростах и микрошипиках. Отмечается даже формирование мелких единичных зерен кератогиалина. С возрастом этот процесс усиливается, увеличивается количество кератиносом, проявляются признаки паракератоза в нижней части поверхностного слоя. При старческом гиперкератозе в процесс ороговения вовлекаются глубокие слои шиповатого слоя эпителия, и даже в цитоплазме базальных клеток обнаруживаются многочисленные фрагментированные фибриллы и мелкие зерна кератогиалина.

**Поверхностный (функциональный) слой.** Клетки поверхностного (функционального) слоя эпителия пищевода человека резко уплощены; на светооптическом уровне в них часто обнаруживают базофильные зернистые структуры (агрегаты органелл и небольшое число так называемых паракератиновых гранул). Они характеризуются меньшим содержанием десмосом и выростов типа микроворсинок, чем клетки шиповатого слоя. Щелевые соединения в поверхностном слое встречаются сравнительно редко. Количество органелл в этих клетках прогрессивно уменьшается по направлению к просвету органа, однако в них очень высока концентрация гранул гликогена и тонофиламентов. Тонофибриллы распадаются на короткие и тонкие филаменты, расположенные бессистемно. Межклеточные пространства узкие. Кератиносомы, которые впервые выявляются в наружной

части шиповатого слоя, достигают максимального содержания в функциональном слое, однако в наиболее поверхностных его клетках сохраняются лишь единичные гранулы этого типа. Кератогиалиновые гранулы в цитоплазме клеток отсутствуют и, как отмечают большинство авторов, истинного ороговения эпителия пищевода не происходит. Вместе с тем, все же могут обнаруживаться отдельные небольшие участки эпителия с признаками слабо выраженного неполного ороговения [14, 42, 63, 73].

Описания самых наружных участков поверхностного слоя эпителия пищевода человека, приводимые различными авторами, в целом совпадают, однако различаются некоторыми деталями. Так, обычно отмечается, что в самых поверхностных слоях клетки сильно уплощены, ядра содержат преимущественно гетерохроматин или пикнотизированы (иногда даже подвергаются лизису), а единичные органеллы, которые выявляются в цитоплазме, находятся в состоянии дистрофии. Цитоплазматические выросты укорочены, десмосомы отсутствуют. На месте бывших контактов формируются микрошипики с уплотненными тонофиламентами [14, 42, 53]. Вместе с тем, некоторые авторы отмечают, что даже в самых поверхностных клетках эпителия пищевода человека сохраняются ядра, рибосомы, митохондрии [2]. По данным одних исследователей, кератогиалиновые гранулы в наружных клетках поверхностного слоя отсутствуют [2, 53], по данным других, — могут обнаруживаться, особенно при старении [3, 22, 42]. Плазмолемма апикальной части наиболее поверхностных клеток утолщена, имеет небольшое количество микроворсинок, которые покрыты рыхлым филаментозным материалом — гликокаликсом [53]. Плотные соединения между этими клетками выявлены только в воспаленной эпителиальной ткани, обычно как часть латерального комплекса соединений, содержащего также и опоясывающие десмосомы. Предполагается, что появление таких соединений является приспособлением неороговевающего эпителия, нацеленным на увеличение своих защитных свойств, противодействующих влиянию токсического содержимого в просвете органа [73].

При изучении поверхностного слоя эпителия пищевода практически здорового человека в сканирующем электронном микроскопе обнаружено, что клетки имеют полигональную форму и неодинаковые размеры. Поверхность клеток также неодинакова. Чаще всего они покрыты микроскладками (по другой терминологии, микрогребешками) шириной 100–200 нм и высотой 200–600 нм, которые образуют причудливые лабиринтоподобные узоры. В одних участках поверхности они расположены параллельными линиями, в других образуют кольцевидные и спиралевидные структуры, которые могут разветвляться и соединяться друг с другом. Кроме микроскладок, имеются более крупные гребни, которые по высоте иногда вдвое превышают микроскладки. Изредка на поверхности клеток встречаются микроворсинки булавовидной формы. На апикальной поверхности клеток защитной зоны (т. е. самых старых, обращенных в просвет органа) микроскладки редуцированы, их место занимают мелкие микроворсинки.

На поверхности этих клеток выявляются адгезированные к ним микроорганизмы. Границы клеток хорошо различимы благодаря приподнятому валикообразному краю их цитоплазмы. В типичных клетках микроскладки занимают до 51–65% их общей поверхности; встречаются также атипичные клетки с нечеткими границами и варьирующей долей поверхности (в среднем около 38%), покрытой микроскладками. Поверхностные клетки непрерывно слущиваются, иногда в виде пластов, обнажая более глубоко лежащие клетки с выбухающими ядрами. Десквамация поверхностных клеток начинается с расширения межклеточной щели и последующего отслоения клеточного края. В участках расхождения поверхностных клеток видна их боковая поверхность, также покрытая микроскладками [10, 95, 108, 109].

Биологическое значение описанного микрорельефа, который обнаруживается на поверхности клеток различных многослойных неороговевающих эпителиев (роговицы, ротовой полости, влагалища, шейки матки), остается не до конца понятным. Предполагается, что микроскладки на поверхности клеток удерживают муцин, покрывающий и защищающий эпителий, что предотвращает повреждение эпителия и его избыточное слущивание. Искривленные и лабиринтообразные системы микроскладок способствуют распределению муцина по поверхности клетки. Возможно также, что они усиливают межклеточное сцепление по мере уплощения клеток и их миграции к просвету органа [10, 110].

Сканирующая электронная микроскопия является высокоинформативным методом, характеризующим состояние поверхности эпителиального пласта пищевода. Она, в частности, позволяет обнаружить нарушения созревания эпителия, которые проявляются изменениями характерного микрорельефа. При воспалительных явлениях в поверхностном слое обнаруживаются резко расширенные межклеточные пространства, которые содержат клетки типа лимфоцитов и моноцитов. Этот метод дает также возможность диагностировать патологические изменения эпителия при метаплазии и злокачественном росте — процессах, которые характеризуются появлением клеток, отличающихся от нормальных по своей форме и микрорельефу [95, 101].

По своему микрорельефу с эпителиальными клетками поверхностного слоя эпителия пищевода человека очень сходны аналогичные клетки эпителия кролика, причем с возрастом животного происходит усложнение микрорельефа поверхности клетки и увеличение площади, занимаемой микрогребешками [108]. У грызунов (мышей и крыс), а также коров, лошадей, верблюдов, овец и некоторых других животных отмечается постепенное исчезновение ядер и органелл в направлении наиболее поверхностных слоев. Происходит ороговение эпителия с формированием типичного наружного рогового слоя различной степени выраженности. Между роговым и шиповатым слоями обнаруживается отчетливый зернистый слой переменной толщины [26, 44, 58, 104]. Длительность периода обновления всего многослойного плоского эпителия у лабораторных грызунов составляет около 7,5 сут [71].

Роговой слой эпителия, наблюдаемый у многих животных, имеет неоднородное строение: в более глубоких участках он состоит из компактно лежащих роговых чешуек, а на поверхности он представлен рыхло расположенными слущивающимися чешуйками, которые разделены широкими промежутками. Для обозначения этих зон рогового слоя некоторыми авторами предложены специальные термины — плотный и рыхлый роговые слои (*stratum corneum conjunctum*, *stratum corneum disjunctum*) [36, 104], которые, однако, не получили широкого распространения.

**Защитный слой слизи на поверхности эпителия пищевода человека.** Поскольку слизистая оболочка пищевода в соответствии с функцией этого органа постоянно испытывает повреждающее действие ряда факторов, связанных с пищей (механических, химических, температурных), микробной флорой, а также с гастроэзофагальным рефлюксом, естественный интерес вызывает вопрос о составе и механизмах защитного действия слоя слизи на поверхности эпителия пищевода, которую считают главным компонентом так называемого защитного предэпителиального барьерного механизма [99]. Очевидны два источника этой слизи — железы пищевода (кардиальные и особенно собственные) и слюнные железы. Между тем, сведения о химических и протективных свойствах слизи, а также ее биологической роли довольно противоречивы. Более того, сам вопрос о наличии на поверхности слизистой оболочки пищевода постоянного, связанного с ней, защитного барьерного слоя слизи остается не полностью разрешенным. Так, исследователи, изучавшие срезы нефиксированного материала, криостатные срезы, а также биоптаты, полученные в условиях, сохраняющих пристеночный слой слизи, отметили, что на поверхности слизистой оболочки пищевода человека, свиньи и крысы в норме сплошной адгезированный к ней слой слизи отсутствует. Слизь секретируется в сравнительно небольшом количестве, которое недостаточно для создания непрерывного слоя на поверхности слизистой оболочки. Лишь у свиньи с поверхности пищевода получено небольшое количество гликопротеинов с характеристиками секреторных муцинов. Этим пищевод резко отличается от желудка, слизистая оболочка которого покрыта толстым (100–200 мкм) слоем защитной слизи. Вместе с тем, на поверхности пищевода, выстланной метапластически измененным призматическим эпителием, располагается слой слизи (средняя толщина 90 мкм, пределы от 84–94 мкм), содержащий нейтральные муцины (связаны с эпителием желудочного типа) или кислые муцины (связаны с участками кишечной метаплазии). Таким образом, секреторные муцины, отличающиеся от желудочных или слюнных муцинов, присутствуют на поверхности слизистой оболочки пищевода в очень малых количествах, которые вряд ли достаточны для защиты нормального эпителия от рефлюкса. Однако слой адгезивного слизистого геля, который присутствует на поверхности слизистой оболочки, выстланной призматическим эпителием, по всей видимости, способен оказывать протективное антирефлюксное действие [38].

Приведенным выше сведениям противостоят другие данные и сложившиеся представления о протективной роли слизистого секрета желез пищевода

(главным образом, собственных желез), выделяемого на поверхность его покровного эпителия. Так, согласно некоторым описаниям, эпителий пищевода человека покрыт слоем слизи толщиной  $95 \pm 12$  мкм, обладающим буферными свойствами. Толщина этого слоя может меняться вследствие колебаний скорости секреции его компонентов, его переваривания пепсином в кислой среде и механического удаления при прохождении пищи и перистальтике [99]. Твердо установлено, что собственные железы пищевода млекопитающих участвуют в защите слизистой оболочки путем регулируемого выделения секрета, богатого муцинами и бикарбонатом [24].

Защитная роль секрета пищеводных желез отчетливо продемонстрирована в экспериментах по изучению влияния перфузии кислыми растворами пищевода опоссума (имеющего, подобно человеку, железы) и кролика (лишенного желез). Показано, что в начальных условиях эксперимента и при различных значениях pH в просвете пищевода опоссума благодаря секреции желез, выделяющих слизь и бикарбонатные ионы, обладает способностью активно противостоять воздействию кислой среды. В отличие от пищевода опоссума, в пищеводе кролика при относительно умеренном закислении содержимого просвета отсутствует эффективный механизм защиты эпителия, и pH на его поверхности быстро приближается к pH перфузата [24, 50].

Защитная функция секрета желез пищевода обусловлена также тем, что в его состав, помимо муцина, немучиновых белков, бикарбонатного и небикарбонатного буферов, входят факторы роста и гормоны — эпидермальный фактор роста (ЭФР), трансформирующий фактор роста  $\alpha$  (ТФР- $\alpha$ ) и простагландин  $E_2$ , которые способствуют регенерации его тканей в норме и после повреждения [78, 79, 99, 100].

Слюна, непрерывно смачивающая слизистую оболочку пищевода, совместно с секретом желез пищевода, участвует в обеспечении так называемого защитного предэпителиального барьерного механизма. Вследствие выделения значительного объема слюны и ее буферной емкости происходит снижение повреждающего влияния кислотности содержимого в просвете органа и восстанавливаются физиологические значения pH. Реакция выделения слюны связана с механической стимуляцией слизистой оболочки пищевым комком и химическим (кислотным) воздействием, которые опосредуются эзофагосаливарным рефлекторным механизмом. Активность этого механизма снижается при рефлюкс-эзофагите [98]. Слюна, так же как и секрет желез пищевода, содержит биологически активные вещества, способствующие регенерации его тканей, в частности, ЭФР и инсулиноподобный фактор роста I (ИФР-I). На связь этого фактора с нормальным состоянием эпителия пищевода указывают данные о том, что у больных с рефлюкс-эзофагитом секреция ЭФР слюнными железами при механическом и химическом раздражении слизистой оболочки пищевода снижена [96].

У животных, пищевод которых не содержит желез, слюна является основным источником защитного слизистого слоя, поэтому удаление слюнных желез лишает эпителий защиты и способствует формирова-

нию глубоких поражений слизистой оболочки при воздействии соляной кислоты и пепсина [68]. Существенная роль слюны в защите слизистой оболочки пищевода человека демонстрируется повреждениями последней в случаях ксеростомии, в частности, связанной с приемом некоторых лекарств [99].

Между тем, недавно высказано мнение о том, что слюна не во всех случаях играет исключительно защитную роль. Встречаясь с желудочной кислотой в области пищеводно-желудочного соединения (зоны наиболее частого развития рака пищевода) и вступая с ней во взаимодействие, она вызывает образование реактивных метаболитов азота (нитратов, нитритов), которые потенциально обладают мутагенными и канцерогенными свойствами. Полученные данные расширяют и, возможно, оспаривают сложившиеся в последние десятилетия представления о возможных причинах канцерогенеза в пищеводе, которые обычно связывают лишь с непосредственным повреждающим воздействием соляной кислоты и желчных кислот на слизистую оболочку пищевода. Указанные взгляды образно выражены в виде краткой формулы в заглавии статьи: «Когда слюна встречается с кислотой: химическая война на пищеводно-желудочной границе» [77].

**Регенерация эпителия пищевода и его клеточный цикл.** Эпителий пищевода относят к тканям с высокой скоростью обновления. Регенерацию и клеточный цикл в эпителии пищевода изучают традиционными методами подсчета митотически делящихся клеток, а также с использованием методов автордиографии с мечеными предшественниками ДНК, цитофотометрии и проточной цитометрии с определением содержания ДНК, иммуноцитохимии с выявлением маркеров делящихся клеток и факторов, регулирующих клеточный цикл.

В нормальном эпителии пищевода подавляющее большинство клеток диплоидны. Некоторые ядра в базальном—парабазальном слоях характеризуются повышенным содержанием ДНК (которое соответствует естественному циклу репликации ДНК этих клеток). Между тем, в клетках промежуточного и поверхностного слоев (нереплицирующихся) в нормальном эпителии содержание ДНК соответствует 2с. При диспластических изменениях в эпителии доля клеток, содержащих ДНК в количестве, превышающем нормальные тетраплоидные значения, максимальна в промежуточном слое эпителия. В участках дисплазии выявлены два различных типа распределения ДНК: первый характеризуется кластером в области нормальных диплоидных значений (этот тип преобладает при слабо или умеренно выраженной дисплазии), второй — наличием анеуплоидных значений (преобладает при резко выраженной дисплазии). Предположение о том, что дисплазии с преобладанием диплоидных клеток являются реактивными (т. е. неопухолевыми) поражениями, вызванными хроническим воспалением, или являются «спящими» непрогрессирующими дисплазиями, тогда как анеуплоидные дисплазии являются более агрессивными поражениями, подтверждается тем фактом, что в раковых опухолях (carcinoma in situ, микроинвазивные плоскоклеточные раки) всегда имеются анеуплоид-



ные ядра [97]. Между тем, вопрос о связи степени анеуплоидии, которую определяют с использованием проточной цитометрии, с биологическими свойствами и прогнозом рака пищевода остается не до конца разрешенным [69].

Пролиферативная активность (митотический индекс) в нормальном эпителии пищевода человека составляет в среднем у мужчин 0,1%, у женщин — 0,12% [1]. Она резко возрастает при репаративной регенерации эпителия, в условиях его воспалительных разрастаний и при опухолевом росте. Для эзофагитов, обусловленных ГЭРБ, наряду с усиленной митотической активностью, типично увеличение пролиферативного пула клеток и занимаемого ими объема. В частности, при диагностически значимых гиперпластических изменениях в слизистой оболочке пищевода человека базальная зона эпителия превышает 15% всей его толщины, что сопровождается внедрением соединительнотканых сосочков в эпителий на расстояние, превышающее 66% его толщины [57, 80].

Вместе с тем, отмеченные гистологические признаки могут часто наблюдаться и в нормальном пищеводе в пределах его наиболее каудальной части (2,5 см), а в виде мелкоочаговых изменений они обнаруживаются в пределах каудальных 8 см органа. Между тем, при сопоставлении отдельных гистологических показателей строения слизистой оболочки пищевода в норме, при ГЭРБ и других его заболеваниях считают указанные признаки неспецифическими, так как ни один из них не характерен исключительно для рефлюкс-эзофагита [113].

В нормальном эпителии пищевода человека иммуноцитохимические маркеры пролиферации Ki-67 и циклин А экспрессируются только в клетках базального слоя. Реакция на Ki-67 сосредоточена в ядрах клеток, а на циклин А — как в ядрах, так в некоторых случаях, и в цитоплазме клеток. Эти маркеры хорошо выявляются при плоскоклеточном раке пищевода, причем реакция наиболее выражена и имеет диффузный характер в низкодифференцированных опухолях. Предполагается, что в этих случаях усиленная экспрессия Ki-67 отражает повышенное число делящихся клеток, а циклина А — более активную репликацию ДНК при переходе  $G_2$ —М. У пациентов с усиленной экспрессией маркеров пролиферации отмечен худший прогноз по сравнению с больными, в тканях которых они выявлялись слабо или не обнаруживались [45, 55, 81].

Иммуноцитохимическое исследование биоптатов пищевода в большой серии наблюдений, выполненных в местности с высоким уровнем заболеваемости раком пищевода, показало, что в ядрах клеток нормального эпителия и при различной выраженности предраковых изменений отмечается интенсивная реакция выявления ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA), Ki-67 и бромдезоксимуридина. В биоптатах отмечено усиление реакции на PCNA и Ki-67 по мере преобразования гиперплазии базального слоя эпителия в дисплазию [116].

У лабораторных животных активность пролиферации эпителиоцитов пищевода существенно варьирует в течение суток. Так, в базальном слое эпителия пищевода мышей митотический индекс нарастает от

$2,7 \pm 1,1\%$  в вечерние часы (16–19 ч) до  $18,8 \pm 4,1\%$  в утренние (4.00–7.30) [16]. По другим данным, максимум митотической активности в пищеводе мышей наблюдается в 7 ч (митотический индекс равен 21%), а минимум — в 21.30 (0,1%) [18] или в 1–7 ч (17%) и 16–19 ч (3%) соответственно [15]. По нашим данным, средний уровень митотической активности в эпителии пищевода мышей составляет  $2,2 \pm 0,5\%$  (при получении материала в 15–16 ч). Митотический индекс эпителия пищевода крыс утром и в первой половине дня (10 — 13 ч) составляет около 11%, что значительно выше, чем вечером (22 ч), когда он равен 3%. Среднесуточное значение митотического индекса составляет  $6,6 \pm 0,8\%$  [17].

Эпителий пищевода лабораторных животных использован в качестве модельного объекта для изучения параметров клеточного цикла и механизмов его регуляции. В частности, детально проанализированы особенности клеточного цикла при введении колхамина, блокирующего деление на стадии метафазы [16], оксимочевины, угнетающей переход клеток в S-период [19], циклофосфана, обладающего алкилирующим свойством и нарушающим ход репликации [7].

Установлено, что длительность митотического цикла в эпителии пищевода мышей составляет 29–30 ч, из них на период  $G_1$  приходится около 19 ч, на S-период — примерно 7–8 ч [8], продолжительность митоза равна 34–50 мин [16]. Длительность периодов  $G_2$  и S в течение суток колеблется, тогда как продолжительность митотического цикла практически одинакова в течение суток [15].

Изучение включения бромдезоксимуридина в ядра эпителиальных клеток пищевода мыши показало, что в 5 ч маркируется более 30% базальных клеток, а в 17 ч — только 5%. Это показывает, что циркадианные различия зависят в значительной мере от числа клеток в S-периоде, а не от изменений скорости синтеза ДНК в отдельных клетках [102].

Описана циркадианная ритмика включения  $^3H$ -тимидина в ядра клеток эпителия пищевода с пиком в 4–6 ч и минимумом в 16–18 ч. Эта ритмика может быть сдвинута по фазе при изменении пищевого режима. В таких условиях пик пролиферативной активности смещался на 18–20 ч. Голодание угнетало циркадианную цикличность пролиферативной активности клеток во всех изученных органах пищеварительного тракта, кроме пищевода, где она сохранялась [30].

При подсчете меченых митотически делящихся клеток в эпителии пищевода мышей, получавших инъекцию  $^3H$ -тимидина в 9 и 21 ч, обнаружено, что митотический индекс характеризуется наличием циркадианного ритма с пиком в первой половине дневной фазы и минимумом в первой половине ночной фазы [32]. Факторы, регулирующие активность пролиферации эпителия пищевода, остаются мало изученными. Однако их знание имеет важное значение, поскольку усиленная пролиферация эпителия пищевода является прогностически неблагоприятным фактором, связанным с высокой вероятностью развития его дисплазии и в конечном итоге рака пищевода [84, 89, 116].

Многочисленные исследования посвящены влиянию факторов роста на активность пролиферации



клеток эпителия пищевода *in vivo* и *in vitro*. Исключительно важную роль в росте и регенерации эпителия органа играет ЭФР [27, 40, 60].

При использовании автордиографии показано, что ЭФР уже через 4 ч после введения резко усиливает включение меченого тимидина в ядра клеток эпителия пищевода. Максимальная стимуляция выявлена через 8 ч, а через 12 ч уровни синтеза ДНК возвращаются к норме. Уровень реакции на ЭФР зависит от времени его введения (наличие циркадианного ритма) [103].

Установлено, что рецептор ЭФР экспрессируется в пролиферативном компартменте эпителия (главным образом, базальном слое). Распределение ЭФР совпадает с локализацией его рецептора. Гибридизация *in situ* обнаружила экспрессию иРНК ЭФР в эпителии пищевода, а полимеразная цепная реакция выявила соответствующие транскрипты. Экспрессия иРНК и белка ТФР- $\alpha$  аналогична таковой ЭФР и преобладает в более дифференцированных слоях многослойного плоского эпителия. Полученные данные указывают, что оба фактора роста синтезируются в пищеводе. Более того, распределение этих пептидов и их рецепторов в различных слоях эпителия пищевода указывает на участие данных факторов роста в разнообразных физиологических процессах в норме, а также защитных и регенераторных реакциях при повреждении слизистой оболочки [33].

В опытах с эксплантацией фрагментов слизистой оболочки пищевода *ex vivo* установлено, что ИФР-I быстро и дозозависимо усиливает клеточную пролиферацию в эпителии. Действие ИФР-I осуществляется посредством рецепторов на поверхности клеток, а его источниками являются сыворотка крови, слюна и клетки пищевода — макрофаги, фибробласты, сами эпителиальные клетки (транзиторно в течение процесса регенерации — в фазе реэпителизации). ЭФР в данной экспериментальной модели также стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток, однако сочетанное воздействие этих факторов дает лишь аддитивный, а не потенцирующий эффект [115].

Между тем, ранее в опытах на монослойной культуре эпителиальных клеток слизистой оболочки пищевода человека показана способность ИФР-I и ЭФР синергически стимулировать пролиферативную активность [90]. Выраженность действия ИФР-I примерно соответствует таковой ЭФР [27, 60, 115]. Ингибитор протеинтирозинкиназы — фермента, передающего сигнал с рецептора ИФР-I, блокирует действие ИФР-I на эпителий пищевода. Предполагается, что ИФР-I может быть использован для стимуляции регенерации эпителия пищевода, а ингибиторы протеинтирозинкиназы могут найти клиническое применение для лечения гиперпролиферативных и метастатических состояний эпителия пищевода [115].

В опытах на культурах нормальных эпителиальных клеток пищевода человека и животных влияние факторов роста изучали при инкубации клеток в бесывороточной среде, в которой заведомо отсутствуют переносимые сывороткой факторы роста, содержащиеся в неизвестных количествах [65–67]. Проведение скрининга влияния факторов роста на нормальные эпителиальные клетки пищевода мышей обнару-

жило, что наибольшим эффектом обладают ЭФР и гепарин-связывающий фактор роста (ГСФР) (фактор роста фибробластов — ФРФ). Вещество с ГСФР-подобной активностью, напоминающей таковую кислого ФРФ, выявлялось в среде при культивировании быстро пролиферирующих эпителиальных клеток, но не обнаруживалось в культуре медленно растущих клеток. Предполагается, что ГСФР является аутокринным фактором роста клеток эпителия пищевода. Опухолевые клетки конститутивно экспрессируют высокие уровни ГСФР-1 (кислого ФРФ) [66].

В другой серии наблюдений установлено, что наибольшее стимулирующее влияние на деление нормальных эпителиальных клеток пищевода человека *in vitro* оказывает кислый ФРФ, тогда как основной ФРФ имеет крайне слабую активность. ТФР- $\alpha$ 1 угнетает рост клеток в одних культурах и не обладает влиянием на другие. ЭФР оказывает резкое стимулирующее действие на рост клеток эпителия пищевода, причем этот эффект более выражен в отношении ТФР- $\alpha$ 1-резистентных клеток. ТФР- $\alpha$ 1 оказывает такое же действие, что и ЭФР. Эпителиальные клетки злокачественных опухолей пищевода в аналогичных условиях культивирования имеют отличия в чувствительности к исследованным факторам роста, что позволяет высказать ряд предположений об изменении свойств этих клеток в ходе малигнизации [67].

Фактор роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor, HGF — ФРГ) стимулирует регенерацию эпителия пищевода активнее, чем ЭФР. Поскольку на плазмолемме клеток эпителия выявляется экспрессия рецептора ФРГ *c-met*, предполагается, что указанное действие ФРГ опосредовано рецепторами и связано с процессами регенерации этой ткани [111].

В культуре клеток пищевода кролика факторы роста оказывали различное действие на пролиферацию клеток: ФРГ, ИФР-I, ЭФР стимулировали ее, ТФР- $\beta$ 1 оказывал ингибирующее влияние, тромбоцитарный фактор роста-BB и простагландин  $E_2$  не оказывали действия [62]. Действие глюкокортикоидов — ингибиторов клеточной пролиферации — на деление эпителиальных клеток пищевода неоднозначно. При кратковременном (3 сут) введении крысам глюкокортикоидного препарата триамсинолона пролиферативная активность клеток базального слоя эпителия пищевода (по данным подсчета числа митотически делящихся клеток и клеток, маркированных бромдезоксифуридином и PCNA) угнетается, а при длительном (до 63 сут) — повышается [48]. Эти данные согласуются с более ранними наблюдениями, согласно которым при однократном введении глюкокортикоидов наблюдается снижение митотического индекса, переход к 48-часовому периоду ритма митозов, тогда как при многократном введении митотический индекс возрастает, увеличивается количество клеток в S-периоде [17].

Глюкокортикоиды способны оказывать влияние на параметры клеточного цикла в эпителии пищевода. Показано, что введение высоких доз гидрокортизона приводит к увеличению длительности S-периода почти в 2 раза (на 6–7 ч) и к удлинению всего митотического цикла, тогда как малая доза гидрокорти-

зона не влияет на длительность периодов митотического цикла в базальном слое эпителия пищевода мышей [8]. У крыс отмечено уменьшение длительности митозов при однократном введении гидрокортизона [17].

При использовании иммуноцитохимического метода показано, что транскрипционный фактор CREB экспрессируется в ядрах базальных клеток эпителия, причем интенсивность реакции значительно выше в светлое время (в 17 и 8 ч), чем в темное время (20 и 5 ч). Установлено, что в течение темноты, с началом кормления и повышением активности синтеза ДНК экспрессия CREB и его фосфорилированной формы PCREB снижается. Предполагается, что эти белки могут играть роль регуляторов в контроле циркадных изменений в клеточном цикле. Введение ЭФР в дозе, максимально стимулирующей синтез ДНК, вызывает быстрое снижение уровня PCREB [102].

Существенное значение для понимания закономерностей физиологической и репаративной регенерации, а также механизмов развития заболеваний пищевода имеют результаты экспериментов по изучению пролиферации его эпителия в естественных условиях и при моделировании различных патологических процессов и лечебных воздействий.

На экспериментальных животных (мышь и крыса) показано, что голодание снижает суточный уровень пролиферативной активности эпителия пищевода, а кормление после голодания быстро усиливает ее в несколько раз [30]. Механизм этого явления может быть связан с непосредственной механической стимуляцией ткани вследствие удаления поверхностных клеток эпителия. Возможно также влияние гуморальных факторов, скорее всего, гастринна на пролиферацию эпителия.

Соляная кислота оказывает стимулирующее влияние на пролиферацию эпителия пищевода. Анализ, проведенный при использовании автордиографии с  $^3\text{H}$ -тимидином, показал, что через 16 ч после воздействия кислоты происходит нарастание синтеза ДНК в эпителиальных клетках пищевода собак, а их митотический индекс достигает максимума после 20 ч. Добавление пепсина не вызывало дополнительных изменений в динамике синтеза ДНК [35]. Присутствие желчи в рефлюксате способно усилить действие кислоты и пепсина: показано, что пролиферация эпителия пищевода увеличивается под влиянием желчи [72]. Ранее установлено, что дуоденальный сок вызывает стимуляцию роста эпителия пищевода [119].

Некоторые микотоксины, присутствие которых в рационе связывают с высокой частотой развития рака пищевода, на экспериментальной модели (крыса) вызывают стимуляцию пролиферации клеток базального слоя (методика с бромдезоксимурином) [34]. Канцерогены нитрозамины в культуре оказывают цитотоксическое, а также (в зависимости от концентрации) подавляющее или стимулирующее синтез ДНК влияние на эпителиальные клетки пищевода в культуре [86].

Алкоголь, в особенности в сочетании с курением, является хорошо известным фактором риска развития воспалительных и опухолевых поражений пищевода, а также ротовой полости, глотки и гортани,

причем с его систематическим употреблением связывают от 25 до 80% раков этой локализации [29]. Это обусловлено, в первую очередь, повреждением и последующей усиленной регенерацией эпителия при непосредственном контакте со спиртом и его метаболитом ацетальдегидом. Как показывают экспериментальные данные, спиртосодержащие напитки оказывают повреждающее и митогенное действие на эпителий пищевода [23, 49].

После однократной инъекции блеомицина пролиферативная активность снижалась в различных эпителиях у мыши (языка, пищевода, кожи стопы и хвоста), причем этот эффект был в наибольшей степени выражен в эпителии языка и пищевода [31]. Циклоспорин А, являющийся мощным иммунодепрессантом, также оказывает антипролиферативное действие на клетки эпителия пищевода, которое является независимым от его влияния на иммунную систему [91].

Цитостатик циклофосфан угнетает митотическую активность клеток эпителия пищевода мыши. Установлено, что чувствительность к действию препарата варьирует в течение клеточного цикла. Наиболее чувствительны клетки в  $G_1$ -периоде, по мере завершения S-периода устойчивость клеток возрастает [9]. В эпителии пищевода мыши после одной инъекции высокой дозы цитостатика циклофосфана доля клеток, содержащих PCNA, снижалась на 30% в базальном слое и на 10% в шиповатом слое. Однако после трех инъекций доля этих клеток в указанных слоях возрастала в 1,2 и в 2 раза соответственно, что, по-видимому, связано с алкилирующим действием препарата и задержкой клеток в S-периоде. На 15-е сутки после отмены инъекций циклофосфана доля PCNA+-клеток оставалась увеличенной в 1,4 раза [5, 12].

При воздействии повреждающих факторов на эпителий пищевода его усиленная регенерация компенсирует убыль разрушенных клеток. Однако острое или хроническое повреждение эпителия пищевода, сочетающееся с подавлением его регенерации (вследствие цитотоксического действия проникающих из его просвета агрессивных веществ), может приводить к возникновению обширных и длительно существующих дефектов слизистой оболочки с четко очерченными границами — язв пищевода, которые в ряде случаев могут распространяться и на подлежащие ткани и даже приводить к его перфорации. Наиболее частыми этиологическими факторами развития язв пищевода являются ГЭРБ (66%), фармакологические препараты, такие как нестероидные противовоспалительные средства, некоторые антибиотики (23%). Реже язвы вызваны грибами рода *Candida*, каустическими веществами, вирусом *Herpes simplex*, цитомегаловирусом, ВИЧ [13, 52].

**Апоптоз клеток эпителия.** Существенный интерес представляет изучение апоптоза в эпителии пищевода, поскольку в нормальных условиях он играет важную роль в поддержании физиологического тканевого гомеостаза, регулирующего баланс между пролиферацией и гибелью клеток, а в патологически измененном эпителии является механизмом удаления из ткани поврежденных клеток, способствующим предотвращению канцерогенеза [47]. К важнейшим фак-

торам, индуцирующим апоптоз, относят усиленную клеточную пролиферацию, свободные радикалы кислорода и повреждение ДНК.

Исследование апоптоза TUNEL-методом показало, что в биоптатах нормального пищевода лишь единичные эпителиальные клетки подвергаются гибели. При эзофагите число таких клеток увеличено в степени, пропорциональной тяжести поражения. После излечения рефлюкса активность апоптоза в эпителии снижается, что указывает на эффективность проведенной терапии [121]. Остается невыясненным, какие компоненты рефлюксата обуславливают индукцию апоптоза, однако показано, что дуоденальный сок вызывает стимуляцию роста его эпителия [119]. Смешанный рефлюкс дуоденальным содержимым и желудочным соком усиливает выработку свободных радикалов кислорода более значительно, чем один желудочный сок [120]. Поскольку стимуляция роста и повреждение свободными радикалами кислорода являются, как известно, факторами, запускающими апоптоз [47], предполагается, что основным фактором, ответственным за стимулированный рефлюксом апоптоз в эпителии пищевода, является дуоденальный сок. Это предположение подтверждается данными об усилении апоптоза в эпителии пищевода и угнетении экспрессии фермента супероксиддисмутазы, обеспечивающей антиоксидантную защиту, при повторной перфузии органа 0,5% желчью [72]. По-видимому, усиленный апоптоз при эзофагите противодействует индуцированному рефлюксом стимуляции роста и повреждению клеток. Тем самым апоптоз служит механизмом защиты эпителия от злокачественной трансформации.

В метастатически измененном призматическом эпителии лишь отдельные клетки содержат маркер апоптоза, независимо от тяжести эзофагита, тогда как в прилежащем многослойном плоском эпителии активность апоптоза повышена по сравнению с нормальным [121]. Низкая активность апоптоза не согласуется с высоким уровнем повреждения метастатического эпителия повышенными уровнями свободных радикалов кислорода [118], которые стимулируют пролиферацию клеток. Следствием таких изменений должно было бы явиться усиление, а не угнетение апоптоза в таком эпителии. Отмеченное торможение апоптоза может способствовать злокачественной трансформации метастатически измененного эпителия. Причинами угнетения апоптоза в таком эпителии могут быть усиленная экспрессия bcl-2 [64] или мутация антионкогена p53 [56], который тормозит деление клеток, вызывая их дифференцировку и гибель.

Факторы, определяющие прогрессию изменений эпителия слизистой оболочки пищевода, приводящих его из нормального состояния к метастатическому, диспластическому и к аденокарциноме, остаются недостаточно исследованными. Предполагается, что в результате длительного повторного воздействия на эпителий рефлюксата, содержащего желчные кислоты, происходит селекция клеток, резистентных к апоптозу. Это приводит к выживанию клеток с поврежденной нерепарированной ДНК и, следовательно, к последующему увеличению нестабильности генома, которая ведет к развитию рака.

Экспериментальные наблюдения с воздействием известного индуктора апоптоза дезоксихолата на нормальный многослойный плоский эпителий пищевода, метастатизированный призматический эпителий пищевода и эпителий нормальной толстой кишки показали, что из изученных тканей метастатизированный призматический эпителий обладает наибольшей резистентностью к апоптозу [41].

В нормальной слизистой оболочке пищевода присутствуют регуляторные белки апоптоза, которые кодируются семейством генов bcl-2 (bcl-2, bax и bcl-x). Так, положительная цитоплазматическая иммуногистохимическая реакция, выявляющая bcl-2, bax и bcl-x, обнаружена в нормальном эпителии пищевода в 84%, 80% и 76% наблюдений соответственно. Экспрессия bcl-2 ограничена базальным слоем, а bax и bcl-x выявляются также в супрабазальном слое. Предполагается, что присутствие указанных белков является нормальным защитным механизмом, способствующим увеличению продолжительности жизни клеток посредством торможения апоптоза, в особенности в непродливающих клетках [93].

В метастатически измененном эпителии по мере увеличения степени его дисплазии и в аденокарциномах пищевода угнетается экспрессия bcl-2. В то же время экспрессия bax и bcl-x существенно не меняется и сохраняется на высоком уровне. Эти данные указывают на утрату механизма регуляции процесса апоптоза, опосредованного bcl-2, в диспластически измененном эпителии и аденокарциноме пищевода, что может явиться одним из факторов, способствующих многоступенчатой злокачественной прогрессии. Сохранение экспрессии bcl-2 в аденокарциномах пищевода сочетается с более высокой степенью их дифференцировки и лучшим прогнозом по сравнению с теми случаями, в которых она была подавлена [93].

В аденокарциномах пищевода отмечен спонтанный апоптоз, причем у пациентов с более высоким уровнем апоптоза опухоль лучше отвечает на химиотерапию. Поэтому оценка уровня апоптоза до проведения химиотерапии способна прогнозировать эффективность лечения [92]. Химиотерапия индуцирует усиленный апоптоз в клетках опухолей, резко подавляя активность их пролиферации (по данным оценки экспрессии Ki-67). Вместе с тем установлено, что избыточная экспрессия p53, а также генных продуктов bcl-2, в отличие от клеток нормальных тканей, не играет существенной роли в процессах апоптоза в клетках опухолей, что указывает на наличие альтернативного пути его регуляции [92].

Таким образом, приведенные выше сведения показывают, что покровный эпителий пищевода представляет собой сложно организованную тканевую систему, в которой в физиологических условиях сбалансирована активность механизмов образования клеток и их гибели путем апоптоза. Эпителий пищевода обладает высокой способностью к регенерации и располагает рядом защитных механизмов, противодействующих влиянию повреждающих факторов. В результате адаптации ткани к длительно повторяющимся повреждающим воздействиям равновесие механизмов, контролирующих тканевый гомеостаз, ус-

танавливается на новом уровне, однако их поломка может приводить к развитию диспластических явлений и опухолевому росту. Дальнейшее изучение гистофизиологии и адаптационных потенций покровного эпителия пищевода может способствовать более глубокому пониманию вопросов патогенеза важнейших заболеваний этого органа, повышению эффективности их морфологической диагностики, разработке мер профилактики и совершенствованию методов терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Азанчевская С.В. Патологическая анатомия пищевода Барретта: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1996.
2. Бажанов А.Н. Свойства и особенности пищеводного эпителия. М., Наука, 1978.
3. Баженов Д.В. Пищевод. В кн.: Руководство по гистологии. СПб., СпецЛит, 2001, т. 2, с. 97–104.
4. Быков В.Л. Экспериментальный кандидоз органов пищеварительного тракта новорожденных. Арх. пат., 1987, т. 49, № 4, с. 45–49.
5. Быков В.Л. и Исеева Е.А. Морфофункциональные изменения в слизистой оболочке пищевода при введении циклофосфана и после его отмены. В кн.: Материалы 7-го Международного научного симпозиума «Применение современных методов анализа в изучении структуры и функции клетки». Архангельск, Изд-во Северн. гос. мед. ун-та, 2005, с. 15–16.
6. Быков В.Л., Юкина Г.Ю. и Исеева Е.А. Морфофункциональная характеристика выстилающего и железистого эпителиев при иммунодепрессии. Морфология, 2000, т. 117, вып. 3, с. 28.
7. Васильева В.И., Мамонтов С.Г. и Бляхер М.С. Влияние циклофосфана на митотическую активность в эпителии пищевода и роговицы лейкозных мышей. Бюл. exper. биол., 1970, т. 70, № 7, с. 82–85.
8. Гололобова М.Т. Длительность периодов митотического цикла эпителия пищевода мышей при введении гидрокортизона. Бюл. exper. биол., 1970, т. 69, № 4, с. 97–100.
9. Демский В.И. Исследование цитостатического действия циклофосфана в опухолях и эпителии пищевода у мышей. Бюл. exper. биол., 1977, т. 84, № 11, с. 593–595.
10. Жаворонков А.А., Ростовщиков А.С. и Сахипов Н. Характеристика ультраструктуры эпителия слизистой оболочки пищевода практически здорового человека. Арх. анат., 1985, т. 89, вып. 9, с. 92–97.
11. Исеева Е.А. и Быков В.Л. Изменение состояния слизистой оболочки пищевода при введении циклофосфана. В кн.: Актуальные вопросы клинической патоморфологии. СПб., Изд-во СПбМАПО, 2000, с. 76.
12. Исеева Е.А. и Быков В.Л. Гистологическое, морфометрическое и гистохимическое исследование реакции эпителия и собственной пластинки слизистой оболочки пищевода мышей на введение циклофосфана. В кн.: Современные проблемы морфологии. СПб., Изд-во ВМА, 2006, с. 54–55.
13. Караев З.О., Быков В.Л., Соколова Г.А. и др. Поражения пищевода при хроническом кандидозе кожи и слизистых оболочек. Сов. мед., 1987, № 10, с. 110–113.
14. Колычева Н.И., Федотовских Г.В., Александрова Н.М. и Зумеров Е.Л. Ультраструктура эпителия пищевода в норме и в очагах дисплазии. Арх. пат., 1982, т. 44, № 2, с. 34–41.
15. Кузин С.М. и Романов Ю.А. Исследование параметров кинетики клеток эпителия пищевода мышей в зависимости от времени суток. Бюл. exper. биол., 1979, т. 88, № 9, с. 341–343.
16. Лиознер Л.Д. и Маркелова И.В. О суточных вариациях длительности митоза в эпителии пищевода мышей. Бюл. exper. биол., 1975, т. 79, № 6, с. 89–92.
17. Мамонтов С.Г. и Суворова Н.М. Индуцирующее действие гидрокортизона на ритм митозов в эпителии роговицы и пищевода крыс. Бюл. exper. биол., 1982, т. 94, № 8, с. 100–102.
18. Романов Ю.А., Ириков О.А., Филиппович С.С. и Евстафьев В.В. Влияние инверсии фоторежима на разнопериодические биологические ритмы митотического индекса в эпителии пищевода мышей. Бюл. exper. биол., 1996, т. 121, № 1, с. 94–97.
19. Рыбаков В.П. и Романов Ю.А. Суточный ритм реакции клеток эпителия языка и пищевода мышей на воздействие оксимочевина. Бюл. exper. биол., 1989, т. 108, № 11, с. 612–613.
20. Сакс Ф.Ф., Медведев М.А., Байтингер В.Ф. и Рыжов А.И. Функциональная морфология пищевода. М., Медицина, 1987.
21. Сиповский П.В. и Карпов Н.А. Развитие и строение пищевода. В кн.: Руководство по патологической анатомии. М., Медгиз, 1956, т. 4, кн. 1, с. 236–280.
22. Федотовских Г.В. Морфология эпителия пищевода при воспалительно-регенераторном процессе, дисплазии и раке: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1989.
23. Чижов В.А., Колычева Н.И., Нугманов Д.С. и Бекбосунуов В.К. Эзофагиты у лиц, страдающих алкоголизмом. Арх. пат., 1981, т. 43, № 1, с. 41–45.
24. Abdunour-Nakhoul S., Nakhoul N.L., Wheeler S.A. et al. HCO<sub>3</sub>-secretion in the esophageal submucosal glands. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol., 2005, v. 288, p. G736–G744.
25. Al Yassin T.M. and Toner P.G. Fine structure of squamous epithelium and submucosal glands of human esophagus. J. Anat., 1977, v. 123, p. 705–721.
26. Bacha W.J. and Bacha L.M. Color Atlas of Veterinary Histology. 2nd ed., Baltimore, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
27. Berthet B., Di Costanzo J., Arnaud C. et al. Influence of epidermal growth factor and interferon on healing of oesophageal corrosive burns in the rat. Br. J. Surg., 1994, v. 81, p. 395–398.
28. Black D.D., Haggitt R.C., Orenstein S.R. and Whittington P.F. Morphometric histological diagnosis and correlation with measures of gastroesophageal reflux. Gastroenterology, 1990, v. 98, p. 408–414.
29. Brown L.M. Epidemiology of alcohol-associated cancers. Alcohol, 2005, v. 35, № 3, p. 161–168.
30. Burholt D.R., Etzel S.L., Schenken L.L. and Kovacs C.J. Digestive tract cell proliferation and food consumption patterns of Ha/ICR mice. Cell Tiss. Kinet., 1985, v. 18, № 4, p. 369–386.
31. Burkle V., Burkle G., und Zielke R. Unterschiedliche Bleomycin-Wirkung auf Plattenepithel verschiedener Lokalisation. HNO, 1982, Bd. 30, № 12, S. 462–456.



32. Burns E.R., Scheving L.E., Fawcett D.F. et al. Circadian influence on the frequency of labeled mitoses method in the stratified squamous epithelium of the mouse esophagus and tongue. *Anat. Rec.*, 1976, v. 184, № 3, p. 265–273.
33. Calabro A., Orsini B., Renzi D. et al. Expression of epidermal growth factor, transforming growth factor- $\alpha$  and their receptor in the human oesophagus. *Histochem. J.*, 1997, v. 29, № 10, p. 745–758.
34. Craddock V.M., Hill R.J. and Henderson A.R. Stimulation of DNA replication in rat esophagus and stomach by the trichothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol. *Cancer Lett.*, 1987, v. 38, № 1–2, p. 199–208.
35. De Backer A., Haentjens P. and Willems G. Hydrochloric acid. A trigger of cell proliferation in the esophagus of dogs. *Dig. Dis. Sci.*, 1985, v. 30, № 9, p. 884–890.
36. Dellmann H.D. and Eurell J. *Textbook of Veterinary Histology*. 5. Ed., Baltimore, Philadelphia, Williams & Wilkins, 1998.
37. DeNardi F.G. and Riddell R.H. Esophagus. In: *Histology for Pathologists*, Philadelphia, Pennsylvania, Lippincott-Raven Publishers, 1997, p. 475–477.
38. Dixon J., Strugala V., Griffin S.M. et al. Esophageal mucin, an adherent mucus gel barrier is absent in the normal esophagus but present in columnar-lined Barrett's esophagus. *Am. J. Gastroenterol.*, 2001, v. 96, № 9, p. 2575–2583.
39. Dorshkind K. Stem cells and lineage plasticity, the challenge to existing paradigms. *Immunol. Rev.*, 2002 v. 187, p. 5–8.
40. Dunkin B.J., Hamdy A., Bhora F. et al. Epidermal growth factor is a potent stimulus to esophageal mucosal growth. *Surg. Forum.*, 1994, v. 45, p. 120.
41. Dvorakova K., Payne C.M., Ramsey L. et al. Apoptosis resistance in Barrett's esophagus, ex vivo bioassay of live stressed tissues. *Am. J. Gastroenterol.*, 2005, v. 100, № 2, p. 424–431.
42. Ferey L., Herlin P., Marnay J. et al. Histology and ultrastructure of the human esophageal epithelium. I. Normal and parakeratotic epithelium. *J. Submicrosc. Cytol.*, 1985, v. 17, № 4, p. 651–665.
43. Fiertak A., Semik D. and Kilarski W.M. Immunohistochemical analysis of connexin-26 and -43 expression in the mouse alimentary tract. *Folia Biol. (Krakow)*, 1999, v. 47, № 1–2, p. 5–11.
44. Figdor B. Tonofibrillen und Verhornung des Oesophagusepithels einiger Placentaltier. *Z. mikr.-anat. Forsch.*, 1958, Bd. 63, № 4, S. 589–598.
45. Furihata M., Ishikawa T., Inoue A. et al. Determination of the prognostic significance of unscheduled cyclin A overexpression in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 1996, v. 2, p. 1781–1785.
46. Geboes K. and Desmet V. Histology of the esophagus. *Front. Gastrointest. Res.*, 1978, v. 3, p. 1–17.
47. Green D.R. and Martin S.J. The killer and the executioner, how apoptosis controls malignancy. *Curr. Opin. Immunol.*, 1995, v. 7, p. 694–703.
48. Gunin A.G. and Nikolaev D.V. Effect of acute and chronic glucocorticoid treatments on epithelial cell proliferation in the esophagus and small intestine of rats. *J. Gastroenterol.*, 1999, v. 34, № 6, p. 661–667.
49. Haentjens P., De Backer A. and Willems G. Effect of an apple brandy from Normandy and of ethanol on epithelial cell proliferation in the esophagus of rats. *Digestion*, 1987, v. 37, № 3, p. 184–192.
50. Hamilton B.H. and Orlando R.C. In vivo alkaline secretion by mammalian esophagus. *Gastroenterology*, 1989, v. 97, № 3, p. 640–648.
51. Hashimoto T., Noguchi T., Nagai K. et al. The organization of the communication routes between the epithelium and lamina propria mucosae in the human esophagus. *Arch. Histol. Cytol.*, 2002, v. 65, № 4, p. 323–335.
52. Higuchi D., Sugawa C., Shah S.H. et al. Etiology, treatment, and outcome of esophageal ulcers, a 10-year experience in an urban emergency hospital. *J. Gastrointest. Surg.*, 2003, v. 7, № 7, p. 836–842.
53. Hopwood D., Logan K.R. and Bouchier I.A. The electron microscopy of normal human oesophageal epithelium. *Virch. Arch. Abt. B. Zellpath.*, 1978, Bd. 26, № 4, S. 345–358.
54. Hopwood D., Milne G. and Logan K.R. Electron microscopic changes in human oesophageal epithelium in oesophagitis. *J. Pathol.*, 1979, v. 129, № 4, p. 61–67.
55. Huang J.X., Yan W., Song Z.X. et al. Relationship between proliferative activity of cancer cells and clinicopathological factors in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *World J. Gastroenterol.*, 2005, v. 11, № 19, p. 2956–2959.
56. Ireland A.P., Clark G.W.B. and DeMeester T.R. Barrett's esophagus, the significance of p53 in clinical practice. *Ann. Surg.*, 1997, v. 225, p. 17–30.
57. Ismail-Beigi F., Horton P.F. and Popr C.E. Histological consequences of gastroesophageal reflux in man. *Gastroenterology*, 1970, v. 58, № 2, p. 163–174.
58. Jamdar M.N. and Ema A.N. The submucosal glands and the orientation of the musculature in the oesophagus of the camel. *J. Anat.*, 1982, v. 135, Pt. 1, p. 165–171.
59. Jankowski J., Austin W., Howat K. et al. Proliferating cell nuclear antigen in esophageal mucosa, comparison with autoradiography. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1992, v. 4, p. 579–584.
60. Jankowski J., Coghill G., Tregaskis B. et al. Epidermal growth factor in the oesophagus. *Gut*, 1992, v. 33, p. 1448–1453.
61. Jankowski J., Hopwood D., Dover R. and Wormsley K.G. Development and growth of normal, metaplastic and dysplastic oesophageal mucosa, biological markers of neoplasia. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1993, v. 5, p. 235–246.
62. Jimenez P., Lanas A., Piazuelo E. and Esteva F. Effect of growth factors and prostaglandin E2 on restitution and proliferation of rabbit esophageal epithelial cells. *Dig. Dis. Sci.*, 1998, v. 43, № 10, p. 2309–2316.
63. Karam S.M. Lineage commitment and maturation of epithelial cells of the gut. *Front. Biosci.*, 1999, v. 4, p. 286–298.
64. Katada N., Hinder R.A., Smyrk T.C. et al. Apoptosis is inhibited early in the dysplasia-carcinoma sequence of Barrett's esophagus. *Arch. Surg.*, 1997, v. 132, p. 728–733.
65. Katayama M., Akaishi T., Nishihira T. et al. Primary culture of human esophageal epithelial cells. *Tohoku J. Exp. Med.*, 1984, v. 143, № 2, p. 129–140.
66. Katayama M. and Kan M. Heparin-binding, fibroblast growth factors are potential autocrine regulators of esophageal epithelial cell proliferation. *Tohoku J. Exp. Med.*, 1992, v. 168, № 2, p. 287–290.
67. Katayama M., Shoji M. and Satomi S. Differential growth properties of normal and malignant esophageal epithelial cells, a possible cross talk between transforming growth factor- $\alpha$  1 and epidermal growth factor signaling. *Tohoku J. Exper. Med.*, 2005, v. 206, № 1, p. 61–71.

68. Kinoshita M., Kume E., Igarashi S. et al. Role of salivary mucin in the protection of rat esophageal mucosa from acid and pepsin-induced injury. *Am. J. Physiol., 1999, v. 277, Gastrointest. Liver Physiol., v. 40, p. G796–G800.*
69. Lam K.Y., Ma L., Law S.Y.K. et al. Use of flow cytometry in the analysis of stage III squamous cell carcinoma of the oesophagus and its association with MIB-1. *J. Clin. Pathol., 1996, v. 49, p. 975–978.*
70. Leblond C.P., Clermont Y. and Nadler N.J. The pattern of stem cell renewal in three epithelia, esophagus, intestine and testis. *Proc. Can. Cancer Res. Conf., 1967, v. 7, p. 3–30.*
71. Leblond C.P., Greulich R.C. and Pereira J.P.M. Relationship of cell formation and cell migration in the renewal of stratified squamous epithelia. *Adv. Biol. Skin, 1964, v. 5, p. 39–67.*
72. Li Y., Wo J.M., Su R.R. et al. Esophageal injury with external esophageal perfusion. *J. Surg. Res., 2005, v. 24, p. 107–113.*
73. Logan K.R., Hopwood D. and Milne G. Cellular junctions in human esophageal epithelium. *J. Pathol., 1978, v. 126, p. 157–163.*
74. Mader A.M.A.A., Alves M.T.S., Kawakami E. and Patricio F.R.S. Esofagite de refluxo em crianças, estudo histológico e morfométrico. *Arq. Gastroenterol., 2002, v. 39, № 2, p. 126–131.*
75. Marcinkiewicz M., Han K., Zbroch T. et al. The potential role of the esophageal pre-epithelial barrier components in the maintenance of integrity of the esophageal mucosa in patients with endoscopically negative gastroesophageal reflux disease. *Am. J. Gastroenterol., 2000, v. 95, № 7, p. 1652–1660.*
76. Marques-Pereira J.P. and Leblond C.P. Mitosis and differentiation in the stratified squamous epithelium of the rat esophagus. *Am. J. Anat., 1965, v. 117, p. 73–90.*
77. McColl K.E. When saliva meets acid, chemical warfare at the oesophagogastric junction. *Gut, 2005, v. 54, № 1, p. 1–3.*
78. Meyers R.L. and Orlando R.C. In vivo bicarbonate secretion by human esophagus. *Gastroenterology, 1992, v. 103, p. 1174–1178.*
79. Namiot Z., Sarosiek J., Rourk R.M. et al. Human esophageal secretion, mucosal response to luminal acid and pepsin. *Gastroenterology, 1994, v. 106, p. 973–981.*
80. Narayani R.I., Burton M. P. and Young G. S. Utility of esophageal biopsy in the diagnosis of nonerosive reflux disease. *Dis. Esoph., 2003, v. 16, p. 187–192.*
81. Nozoe T., Korenaga D., Futatsugi M. et al. Cyclin A expression in superficial squamous cell carcinoma of the esophagus and coexisting infiltrated lymphocyte follicle. *Cancer Lett., 2002, v. 188, p. 221–229.*
82. Okamoto R., Yajima T., Yamazaki M. et al. Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat. Med., 2002, v. 8, p. 1011–1017.*
83. Orlando R.C., Lacy E.R., Tobey N.A. and Cowart K. Barriers to paracellular permeability in rabbit esophageal epithelium. *Gastroenterology, 1992, v. 102, p. 910–923.*
84. Ouatu-Lascar R., Fitzgerald R.C. and Triadafilopoulos G. Differentiation and proliferation in Barrett's esophagus and the effects of acid suppression. *Gastroenterology, 1999, v. 117, № 2, p. 327–335.*
85. Oyamada Y., Oyamada M., Fusco A. and Yamasaki H. Aberrant expression, function and localization of connexins in human esophageal carcinoma cell lines with different degrees of tumorigenicity. *J. Cancer Res. Clin. Oncol., 1994, v. 120, № 8, p. 445–453.*
86. Pei X.F. Effects of nitrosamine on in vitro cultured human esophageal epithelial cells. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi, 1990, v. 12, № 4, p. 278–280.*
87. Pera M., Manterola C., Vidal O. and Grande L. Epidemiology of esophageal adenocarcinoma. *J. Surg. Oncol., 2005, v. 92, № 3, p. 151–159.*
88. Pettit M. Gastroesophageal reflux disease, clinical features. *Pharm. World Sci., 2005, v. 27, № 6, p. 417–420.*
89. Preston-Martin S., Pike M.C., Ross R.K. et al. Increased cell division as a cause of human cancer. *Cancer Res., 1990, v. 50, № 23, p. 7415–7421.*
90. Qureshi F.G., Tchorzewski M.T., Duncan M.D. and Harmon J.W. EGF and IGF-I synergistically stimulate proliferation of human esophageal epithelial cells. *J. Surg. Res., 1997, v. 69, p. 354–358.*
91. Ramirez-Bosca A., Kanitakis J. and Thivolet J. Cyclosporin A exerts a cytostatic effect in vivo on human and murine epithelial cells. *Cancer, 1990, v. 66, № 5, p. 936–940.*
92. Rauof A., Evoy D., Carton E. et al. Spontaneous and inducible apoptosis in oesophageal adenocarcinoma. *Br. J. Cancer, 2001, v. 85, p. 1781–1786.*
93. Raouf A.A., Evoy D.A., Carton E. et al. Loss of Bcl-2 expression in Barrett's dysplasia and adenocarcinoma is associated with tumor progression and worse survival but not with response to neoadjuvant chemoradiation. *Dis. Esoph., 2003, v. 16, p. 17–23.*
94. Rikimura K., Moles J.P. and Watt F.M. Correlation between hyperproliferation and suprabasal integrin expression in human epidermis reconstituted in vitro. *Exp. Dermatol., 1997, v. 6, p. 214–221.*
95. Robinson K.M., Maistry L. and Evers P. Surface features of normal and neoplastic human esophageal cells in vivo and in vitro. *Scan. Electron Microsc., 1981, Pt.2, p. 213–222.*
96. Rourk R.M., Namiot Z., Sarosiek J. et al. Impairment of salivary epidermal growth factor secretory response to esophageal mechanical and chemical stimulation in patients with reflux esophagitis. *Am. J. Gastroenterol., 1994, v. 89, p. 237–244.*
97. Rubio C.A., Auer G.U., Kato Y. et al. DNA profiles in dysplasia and carcinoma of the human esophagus. *Anal. Quant. Cytol. Histol., 1988, v. 10, № 3, p. 207–210.*
98. Sarosiek J. and McCallum R.W. What role do salivary inorganic components play in health and disease of the esophageal mucosa? *Digestion, 1995, v. 56, Suppl. 1, p. 24–31.*
99. Sarosiek J. and McCallum R.W. Mechanisms of oesophageal mucosal defence. *Bailliere's Clin. Gastroenterol., 2000, v. 14, № 5, p. 701–717.*
100. Sarosiek J., Yu Z., Namiot Z. et al. Impact of acid and pepsin on human esophageal prostaglandins. *Am. J. Gastroenterol., 1994, v. 89, p. 588–594.*
101. Sbarbati A., Deganello A., Bertini M. et al. Reflux esophagitis in children, a scanning and transmission electron microscopy study. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol., 1993, v. 25, № 4, p. 603–611.*
102. Scheving L.A. and Gardner W. Circadian regulation of CREB transcription factor in mouse esophagus. *Am. J. Physiol., 1998, v. 274 (Cell Physiol., v. 43), p. C1011–C1016,*
103. Scheving L.A., Yeh Y.C., Tsai T.H. and Scheving L.E. Circadian phase-dependent stimulatory effects of epidermal growth factor on deoxyribonucleic acid synthesis in the tongue, esophagus, and stomach of the adult male mouse. *Endocrinology, 1979, v. 105, № 6, p. 1475–1480.*

104. Schonnagel B. Vergleichende Untersuchungen zur Struktur und Funktion des Oesophagus-Epithels bei Vertebraten in Bezug zur Ernährungsweise, unter besonderer Berücksichtigung der Haussäugetiere. Dissertation Dokt. Veterinarmedizin, Hannover 2005.
105. Seefeld U., Krejs G.J., Siebenmann R.E. and Blum A.L. Esophageal histology in gastroesophageal reflux. Morphometric findings in suction biopsies. *Am. J. Dig. Dis.*, 1977, v. 22, № 11, p. 956–964.
106. Seery J. Stem cells of the oesophageal epithelium. *J. Cell Sci.*, 2002, v. 115, p. 1783–1789.
107. Seery J.P. and Watt F.M. Asymmetric stem-cell divisions define the architecture of the human oesophageal epithelium. *Curr. Biol.*, 2000, v. 10, p. 1447–1450.
108. Shasha'a S., Dickson G.R., Gilmore R.S. et al. Rabbit and human non-keratinising stratified squamous oesophageal epithelium displays similar microridge structure by scanning electron microscopy. *Scanning Microsc.*, 1993, v. 7, № 3, p. 953–958.
109. Siew S. and Goldstein M.L. Scanning electron microscopy of mucosal biopsies of the human upper gastrointestinal tract. *Scan. Electron Microsc.*, 1981, v. 4, p. 173–181.
110. Sperry D.G. and Wassersug R.J. A proposed function for microridges on epithelial cells. *Anat Rec.*, 1976, v. 185, № 2, p. 253–257.
111. Takahashi M., Ota S., Ogura K. et al. Hepatocyte growth factor stimulates wound repair of the rabbit esophageal epithelial cells in primary culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, v. 216, № 1, p. 298–305.
112. Takahashi-Iwanaga H., Iwanaga T., Isayama H. et al. Porosity of the epithelial basement membrane as an indicator of macrophage-enterocyte interaction in the intestinal mucosa. *Arch. Histol. Cytol.*, 1999, v. 62, № 5, p. 471–481.
113. Takubo K., Honma N., Aryal G. et al. Is there a set of histologic changes that are invariably reflux associated? *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2005, v. 129, № 2, p. 159–163.
114. Tam W. and Dent J. Esophageal disorders, future developments. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 2002, v. 16, № 6, p. 811–833.
115. Tchorzewski M.T., Qureshi F.G., Duncan M.D et al. Role of insulin-like growth factor-I in esophageal mucosal healing processes. *J. Lab. Clin. Med.*, 1998, v. 132, p. 134–141.
116. Wang L.D., Zhou Q. and Yang C.S. Esophageal and gastric cardia epithelial cell proliferation in northern Chinese subjects living in a high-incidence area. *J. Cell Biochem.*, 1997, v. 28–29, Suppl., p. 159–165.
117. Watt F.M. and Hogan B.L. Out of Eden, stem cells and their niches. *Science*, 2000, v. 287, p. 1427–1430.
118. Wetscher G.J., Hinder R.A., Bagchi D. et al. Reflux esophagitis in humans is mediated by oxygen-derived free radicals. *Am. J. Surg.*, 1995, v. 170, p. 552–557.
119. Wetscher G.J., Hinder R.A., Kretchmar D. et al. Duodenogastric reflux causes growth stimulation of foregut mucosa potentiated by gastric acid blockade. *Dig. Dis. Sci.*, 1996, v. 41, p. 2166–2173.
120. Wetscher G.J., Perdakis G., Kretchmar D.H. et al. Esophagitis in Sprague-Dawley rats is mediated by free radicals. *Dig. Dis. Sci.*, 1995, v. 40, p. 1297–1305.
121. Wetscher G.J., Schwelberger H., Unger A. et al. Reflux-induced apoptosis of the esophageal mucosa is inhibited in Barrett's epithelium. *Am. J. Surg.*, 1998, v. 176, № 6, p. 569–573.
122. Winter H.S., Madara J.L., Stafford R.J. et al. Intraepithelial eosinophils, a new diagnostic criterion for reflux esophagitis. *Gastroenterology*, 1982, v. 83, p. 818–823.
123. Zhang H., Chen S.H. and Li Y.M. Epidemiological investigation of esophageal carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2004, v. 10, № 12, p. 1834–1835.

Поступила в редакцию 10.03.2006 г.

# **FUNCTIONAL MORPHOLOGY OF THE SURFACE EPITHELIUM OF ESOPHAGEAL TUNICA MUCOSA**

*V.L. Bykov and E.A. Iseyeva*

This review presents the systematized summary of classical and current conceptions on the functional morphology of the surface epithelium of esophageal tunica mucosa. The data describing the architecture of epithelial lining, classification and structure of its layers, are presented. The detailed characteristics of the cells of each layer and their ultrastructure, organization of germinal compartment, stem cell distribution and activity as related to their topography, are presented. The parameters of epitheliocyte cell cycle, mechanisms controlling their proliferation and circadian rhythms by growth factors and hormones, changes of proliferation activity under natural, pathological and experimental conditions, are discussed. The process of epithelial desquamation is described, as well as a mucus layer covering the epithelial surface together with its sources and protective role. The characteristics of the process of epitheliocyte apoptosis and the mechanisms of its control in normal and pathological states, are presented.

**Key words:** *esophagus, surface epithelium, ultrastructure, proliferation, apoptosis.*

Department of Histology, Cytology and Embryology, I.P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg.