

Г.М. Могильная¹, Л.Г. Дряева², В.М. Дурлеитер² и В.Л. Могильная²

ОСОБЕННОСТИ ЭПИТЕЛИЯ ПИЩЕВОДА ПОЗВОНОЧНЫХ В ФИЛОГЕНЕЗЕ И ПИЩЕВОД БАРРЕТТА

¹ Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (зав. — проф. Г.М. Могильная), Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар; ² Краснодарское муниципальное лечебно-диагностическое объединение (гл. врач — проф. Г.А. Пенжоян)

Проведено изучение эпителиальной выстилки пищевода позвоночных в филогенетическом аспекте и пищевода Барретта (ПБ). Сравнительное изучение предпринято с целью обнаружения в условиях развития ПБ филогенетических рекапитуляций. Использован комплекс гистохимических методов избирательного обнаружения муцинов и белков. Показано, что в филогенетическом ряду форм: амфибии – рептилии – млекопитающие формирование защитного барьера происходит различным путем. При наличии ПБ в участках метаплазии и дисплазии, по-видимому, имеет место частичная рекапитуляция гистохимического защитного барьера, свойственного пищеводу амфибий и рептилий.

Ключевые слова: *пищевод, тканевые барьеры, пищевод Барретта, филогенез.*

Одной из актуальных проблем современной гастроэнтерологии следует считать диагностику и последующую коррекцию развития так называемого пищевода Барретта (ПБ), который принято рассматривать как исход гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) [4, 5, 11, 12]. При этом упомянутое заболевание расценивается как результат дисбаланса факторов защиты, присутствующих многослойному плоскому эпителию пищевода. Длительно повторяющиеся циклы повреждения с последующей регенерацией зачастую заканчиваются дисплазией эпителия пищевода, и на фоне многослойной выстилки появляются участки столбчатого эпителия, который является главным морфологическим признаком ПБ, диагностируемого эндоскопически, а также морфологически при исследовании материала биопсий [9, 16].

Призматический эпителий участков метаплазии интерпретируют как фундальный и кардиальный типы эпителия, присутствующие в слизистой оболочке желудка в норме и отличающиеся наличием некоторых изменений в виде железистой атрофии и слабо выраженной инфильтрации.

Ряд авторов описывают присутствие в ПБ и третьего типа клеток призматического эпителия — промежуточных [17], или «псевдовсасывающих» клеток [12, 14], однако этот необычный клеточный фенотип до сих пор окончательно не охарактеризован. Вместе с тем, факт появления наравне с многослойным плоским неороговевающим эпителием пищевода метаплазированного столбчатого эпителия, способного к развитию интраэпителиальной неоплазии и аденокарциномы

пищевода, представляется клинически значимым, тогда как механизмы развития метаплазии остаются недостаточно изученными.

Существует мнение [10], что специализированная кишечная метаплазия эпителия ПБ — это результат репарации эпителиального пласта, поврежденного агрессивным рефлюктом, содержащим соляную кислоту, пепсин и желчные кислоты. В условиях действия упомянутых факторов происходит изменение дифференцировки стволовых клеток с появлением метаплазированного столбчатого эпителия, более резистентного к воздействию кислоты.

Другие авторы [16, 18], на основе изучения иммуногистохимических особенностей ПБ, пришли к заключению, что обнаруживающийся в клетках при метаплазии тип муцина идентичен муцину желудка в норме, что может служить доказательством общности происхождения этих клеток. Остается неясным вопрос об источнике желудочной, а позднее кишечной метаплазии ПБ, более того неизвестно, развиваются эти типы метаплазии одновременно или сменяют друг друга. Однако, как бы это ни происходило, для ПБ этот тип образования метаплазии формируется по пути *de novo*.

Цель настоящего исследования — изучение эпителиальной выстилки пищевода позвоночных в филогенетическом аспекте и сопоставление этих данных с особенностями гистохимической дифференцировки ПБ, а также обнаружение в условиях развития ПБ возможности наличия филогенетических рекапитуляций.

Материал и методы. Объектом исследования служил пищевод амфибий, рептилий, млекопитающих и человека (таблица), а также ПБ. У амфибий и рептилий исследовали по 5, а у млекопитающих — по 7 животных каждого вида. Работа проведена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Пищевод человека изучен на секционном материале (n=11), а ПБ — от 18 пациентов: с наличием желудочной метаплазии (n=12) и с кишечной метаплазией низкой (n=3) и высокой (n=3) степени.

Полученные срезы окрашивали с помощью комплекса гистохимических методов, принятых для обнаружения муцинов [7, 8]. Белковый компонент биополимерного комплекса изучали в объеме реакций, принятых для избирательного выявления аминокислот и свободных функциональных групп белков [13].

Результаты исследования. Изучение эпителиальной выстилки пищевода в сравнимом ряду форм: амфибии — рептилии — млекопитающие показало, что защитный барьер этого пласта у представителей различных классов позвоночных реализуется не одинаково.

Так, у амфибий эпителий пищевода — многоярусный мерцательный с большим количеством бокаловидных клеток, обладающих отчетливо

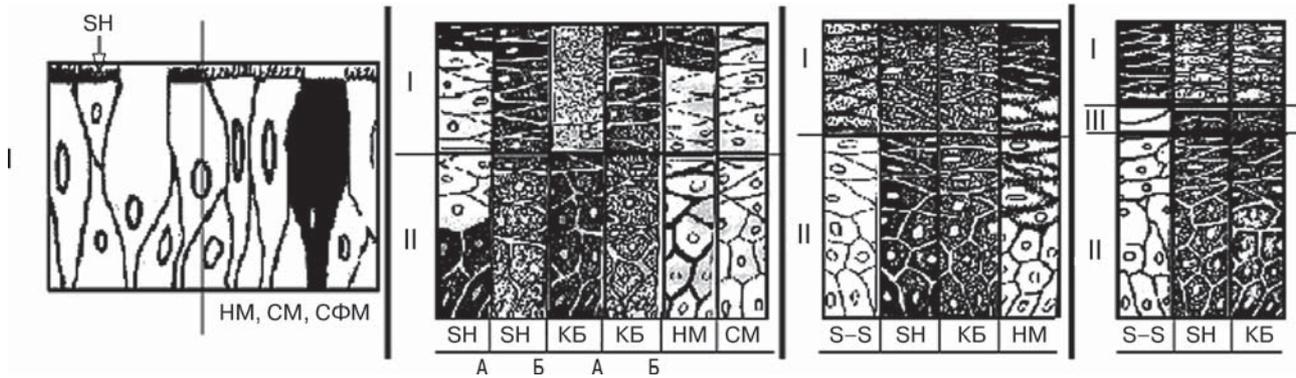
выраженной секреторной активностью. Секрет этих клеток содержит у амфибий нейтральные муцины и сиаломуцины. Наряду с бокаловидными клетками, в составе эпителиальной выстилки присутствуют и реснитчатые клетки. Они отличаются наличием в эктоплазматической зоне белков, содержащих аминокислотные остатки цистина, цистеина и гистидина.

У изученных видов рептилий гистохимическая дифференцировка эпителия пищевода происходит однотипно. Однако секрет бокаловидных клеток содержит высокие концентрации муцинов, среди которых типированы не только нейтральные и сиаломуцины, но и сульфомуцины. Оказалось, что в секрете бокаловидных клеток присутствует в высоких концентрациях белок, содержащий аминокислотные остатки лизина и цистеина. Однако наибольшим содержанием белковых биополимеров отличаются реснитчатые клетки, в них выявлено присутствие лизина, цистеина и гистидина.

Описанные в эпителиальной выстилке пищевода сочетания муцинов и белков позволяют считать, что защитная функция эпителия у амфибий

Классификационные типы животных, у которых изучена эпителиальная выстилка пищевода

Класс	Отряд	Семейство	Вид	
Амфибии	Бесхвостые Anura	Настоящие лягушки Ranidae	Озерная лягушка Rana ridibunda	
		Жабы Bufonidae	Обыкновенная жаба Bufo bufo Зеленая жаба Bufo viridis	
Рептилии	Чешуйчатые Squamata	Ямкоголовые змеи Crotalidae	Восточный щитомордник Ancistrodon blomhofi	
		Ужеобразные змеи Colubridae	Обыкновенный щитомордник Ancistrodon halys Тигровый уж Natrix tigrina Красноспинный полоз Elaphe rufodorsata	
Млекопитающие	Хищные Carnivora	Собачьи Canidae	Собака домашняя Canis familiaris	
		Кошачьи Felidae	Кошка домашняя Felis catus	
	Парнокопытные Artiodactyla	Свиньи Suidae	Свинья домашняя Sus scrofa	
		Зайцеобразные Lagomorpha	Зайцы Leporidae	Кролик Oryctolagus
			Мышиные Muridae	Крыса Rattus rattus Мышь Mus musculus domesticus
Грызуны Rodentia	Морские свинки Cavidae	Морская свинка Cavia porcellus		



Морфологический тип	Многорядный реснитчатый эпителий с бокаловидными клетками (амфибии, рептилии)	Многослойный плоский неороговевающий (человек, собака, кошка)	Паракератотический (свинья, кролик)	Многослойный плоский ороговевающий (морская свинка, крыса, мышь)
Тип защитного барьера	Секреторный — продукция муцинов	Накопление в защитной зоне биополимеров	Накопление в защитной зоне биополимеров, а по периферии поверхностных клеток кератина	Орогование по типу накопления в защитной зоне кератина

Гистохимические типы защитного барьера, формируемые эпителием пищевода.

I — защитная зона; II — герминативная зона; III — переходная зона; S-S — группы цистина; SH — группы цистеина; KB — свободный катионный белок; NM — нейтральные муцины; CM — сиаломуцины; CFM — сульфомуцины; A — эпителий пищевода человека; B — эпителий пищевода кошки.

и рептилий реализуется за счет высокой секреторной активности бокаловидных клеток и, следовательно, она формируется по секреторному типу.

Эпителий пищевода млекопитающих различен в морфологическом аспекте. Он имеет 3 типа строения: многослойный плоский неороговевающий (человек, собака, кошка); многослойный паракератотический (свинья, кролик) и многослойный плоский ороговевающий (крыса, мышь, морская свинка). Каждый из названных типов эпителия реализует защитную функцию по-своему. Так, многослойный плоский неороговевающий эпителий пищевода человека формируется за счет накопления в защитной зоне нейтральных муцинов и белков, содержащих цистеин. У собаки поверхностные эпителиоциты содержат нейтральные и кислые муцины, а также белки с высоким содержанием сульфгидрильных и низким — катионных групп, а у кошки однотипный набор биополимеров сочетается с высоким содержанием свободного катионного белка.

Паракератотический пласт выстилает пищевод свиньи и кролика. В поверхностных слоях присутствуют нейтральные муцины (свинья) и сиаломуцины (кролик), по периферии клеток этой зоны выявлены белки, богатые цистином, а также сульфгидрильными группами, и белки, обладающие свободным катионным зарядом. Герминативная зона содержит высокие концен-

трации суммарного белка с аминокислотными остатками цистеина. Нейтральные муцины в этой зоне локализованы по периферии клеток (рисунк).

В ороговевающем эпителии пищевода (морская свинка, мышь и крыса) происходит накопление в защитной зоне белков с высоким содержанием цистина, при наличии следов сульфгидрильных и катионных групп. При этом здесь формируется зона, соответствующая переходной (зернистому слою эпидермиса), но, в отличие от зернистого слоя эпидермиса, белки, богатые аминокислотными остатками гистидина и аргинина, здесь отсутствуют.

В условиях развития патологии на фоне ГЭРБ формируемый ПБ реализует свою защитную функцию не путем орогования, что было бы типично для многослойных (эктодермальных) эпителиев, а путем трансформации в однослойную выстилку, и эта метапластическая клеточная линия может интерпретироваться как результат адаптации пищевода к агрессивным факторам.

Проведенное нами изучение различных зон эпителиальной выстилки ПБ показало, что очаги сохранившегося многослойного плоского эпителия характеризуются наличием градиента, при котором защитная зона содержит низкие, а глубокая — умеренные концентрации катионных белков. Муцины выявляются в зоне как поверх-

ностного, так и герминативного компартментов, однако их распределение различно. Так, в клетках поверхностных слоев нейтральные муцины распределяются по периферии клеток, тогда как в зоне герминативного компартмента положительную реакцию дают отдельные группы клеток.

Эпителиоциты участков желудочной метаплазии обнаруживают интенсивную ШИК-реакцию, отношение которой к контрольным обработкам позволяет сделать вывод о наличии в них нейтральных муцинов, в то же время у 47% пациентов в составе секрета эпителиоцитов были выявлены и сиаломуцины, отсутствующие в покровных и железистых эпителиоцитах желудка человека в норме.

При наличии очагов кишечной метаплазии наибольшим содержанием муцина отличаются бокаловидные клетки. В них присутствуют преимущественно кислые муцины (сиаломуцины и сульфомуцины). Кишечные эпителиоциты содержат нейтральные муцины, а также катионные белки, при этом содержание их — от слабого до умеренного.

Итак, полученные данные позволяют считать, что многослойный плоский эпителий на сохранившихся участках слизистой оболочки ПБ отличается от эпителия пищевода контрольной группы прежде всего гистохимическими свойствами клеток герминативного компартмента — это увеличение содержания основных аминокислотных остатков, а для клеток поверхностных слоев — увеличение содержания нейтральных муцинов.

Эпителиоциты участков желудочной метаплазии можно разделить на 2 типа: первый — это клетки, обнаруживающие в составе секрета только нейтральные муцины и по своему гистохимическому профилю соответствующие покровным эпителиоцитам желудка здоровых людей. Второй тип — столбчатые клетки, секрет которых содержит как нейтральные, так и кислые муцины. Вероятно, это и есть описанные в ПБ переходные, или промежуточные, клетки, которые на ультраструктурном уровне схожи, с одной стороны, с эпителиоцитами желудка, а с другой — с эпителиоцитами кишки.

На участках с кишечной метаплазией выявляются бокаловидные клетки с типичным для них набором муцинов — нейтральных и кислых. В то же время кишечные эпителиоциты накапливают в апикальной части нейтральные муцины и катионные белки.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, в изученном филогенетическом ряду форм выявлено многообразие гистохимических типов защиты, формируемых эпителиальной

выстилкой пищевода: от секреторного к накоплению защитных биополимеров в клетках поверхностных слоев и, наконец, к ороговению.

Секреторный тип барьера оказался присущ амфибиям и рептилиям, при этом защитная функция эпителия связана преимущественно с высокой секреторной активностью бокаловидных клеток, продуцирующих достаточно большое количество нейтральных и кислых муцинов.

У млекопитающих выявлено различие и морфологических, и гистохимических типов барьеров, что согласуется с данными литературы [1, 6, 15]. Положив в основу классификации их структурную организацию, мы пришли к заключению, что при наличии многослойного плоского неороговевающего эпителия защитная функция реализуется путем накопления в клетках поверхностных слоев белков, содержащих преимущественно сульфгидрильные группы цистеина. При паракератотическом эпителии эти белки сохраняются в поверхностных клетках, но по их периферии накапливается уже кератин. При ороговении эпителиального пласта происходит формирование роговой чешуйки, заполненной кератином, белки, богатые цистеином, смещаются в переходную зону.

Таким образом, проведенное комплексное изучение пищевода в филогенетическом аспекте и эпителия ПБ человека позволяет высказать предположение, что появление в последнем случае участков метаплазии со столбчатыми и бокаловидными клетками представляет собой эффект частичной рекапитуляции защитного барьера пищевода, свойственного в филогенезе амфибиям и рептилиям. Отличия связаны с наличием у последних многорядности пласта и присутствием реснитчатых клеток.

По данным литературы [2], покровный эпителий пищевода в условиях патологии может реализовывать защитные механизмы по-разному. Так, под действием алкоголя наблюдаются явления дисплазии с гиперплазией базального и парабазального слоев, а в очень тяжелых случаях — и развитие плоскоклеточного рака. При действии табачного дыма возможны метапластические изменения, напоминающие ПБ с последующей аденокарциномой, но возможно развитие и плоскоклеточного рака. При воздействии на эпителий пищевода отдельных лекарственных препаратов можно типировать развитие в слизистой оболочке пищевода эзофагита. Перечисленные варианты типа защиты [3] свидетельствуют о пластичности механизмов резистентности, выработанных эпителиальной выстилкой пищевода в процессе эволюции. Однако неясным остается факт реали-

защитной функции пищевода с развитием метаплазии по типу столбчатых клеток именно в условиях ГЭРБ, для которой этот тип защиты, вероятно, следует признать специфическим.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бажанов А.Н. Свойства и особенности пищеводного эпителия. Алма-Ата, Наука, 1978.
2. Быков В.Л. и Исеева Е.А. Функциональная морфология покровного эпителия слизистой оболочки пищевода. Морфология, 2006, т. 129, вып. 3, с. 7–21.
3. Быков В.Л. и Исеева Е.А. Защитные механизмы покровного эпителия слизистой оболочки пищевода человека. Морфология, 2006, т. 130, вып. 6, с. 12–24.
4. Давыдов М.И., Тер-Ованесова М.Д., Стилиди И.С. и др. Пищевод Барретта от теоретических основ к практическим рекомендациям. Практ. онкол., 2003, т. 4, № 2, с. 109–119.
5. Ивашкин В.Т. и Трухманов А.С. Болезни пищевода. М., Триада-Х, 2000.
6. Сакс Ф.Ф., Медведев М.А., Байтингер В.Ф. и Рыжов А.И. Функциональная морфология пищевода. М., Медицина, 1987.
7. Шубич М.Г. и Могильная Г.М. Гликопротеины и протеогликаны. Принципы их гистохимического анализа. Арх. анат., 1979, т. 77, вып. 8, с. 92–99.
8. Шубич М.Г. и Могильная Г.М. Значение ШИК-метода в гистохимическом анализе углеводных и углеводсодержащих биополимеров. Арх. анат., 1982, т. 82, вып. 5, с. 90–98.
9. Glickman J, Chen Y, Wang H. et al. Phenotypic characteristics of a distinctive multilayered epithelium suggests that it is a precursor in the development of Barrett's esophagus. Amer. J. Surg. Pathol., 2001, v. 25, p. 569–578.
10. Guillem P. How to make a Barrett esophagus, pathophysiology of columnar metaplasia of the esophagus. Dig. Dis. Sci., 2005, v. 50, № 3, p. 415–424.
11. Huang J., Yan W., Song Z. 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.
12. Jankowski J., Wright N., Meltzer S. et al. Molecular evolution of the metaplasia – dysplasia – adenocarcinoma sequence in the esophagus. Am. J. Pathol., 1999, v. 154, p. 975–984.
13. Pearse A. Histochemistry. Theoretical and applied. v. 1, London, J. and A. Churchill, Ltd, 1968.
14. Sbarbati A., Faccioli N., Rieci F. et al. Ultrastructural phenotype of «intestinal – type» cells in columnar-lined esophagus. Ultrastruct. Pathol., 2002, v. 26, № 2, p. 107–111.
15. Schönagel B. Vergleichende Untersuchungen zur Struktur und Funktion des Oesophagus-Epithels bei Vertebraten in Bezug zur Ernährungsweise, unter besonderer Berücksichtigung der Haussäugetiere. Dissertation Dok. Veterinärmedizin, Hannover, 2005.
16. Sharma P. Gastro-oesophageal reflux disease, symptoms, erosions, and Barrett's — what is the interplay? Gut, 2005, v. 54, № 6, p. 739–740.
17. Shields H., Zwas F., Antonioli D. et al. Detection by scanning electron microscopy of a distinctive esophageal surface cell at the junction of squamous and Barrett's epithelium. Dig. Dis. Sci., 1993, v. 38, p. 97–108.
18. Warson C., Van de Bovenkamp J., Korteland van Male A. et al. Barrett's esophagus is characterized by expression of gastric-type mucins (MUC 5 AC, MUC 6) and TFF peptides (TFF 1 and TFF 2), but the risk of carcinoma development may be indicated by the intestinal-type mucin, MUC 2. Hum. Pathol., 2002, v. 33, p. 660–668.

Поступила в редакцию 16.12.09
Получена после доработки 23.03.10

THE PECULIARITIES OF ESOPHAGEAL EPITHELIUM OF THE VERTEBRATES IN PHYLOGENESIS AND BARRETT'S ESOPHAGUS

G.M. Mogilnaya, L.G. Dryaeva, V.M. Durlshter and V.L. Mogilnaya

The esophageal epithelium of vertebrates was studied in phylogenetic aspect and in patients with Barrett's esophagus (BE). The comparative investigation was undertaken to detect phylogenetic recapitulations in the course of BE development. The complex of histochemical methods for selective demonstration of mucins and proteins was used. It was shown that in the phylogenetic series amphibians–reptiles–mammals, the formation of a protective barrier occurred in different ways. In BE, within the areas of metaplasia and dysplasia, partial recapitulation of a histochemical type of protective barrier, peculiar to the esophagus of amphibians and reptiles, seems to take place.

Key words: *esophagus, tissue barriers, Barrett's esophagus, phylogenesis.*

Kuban State Medical University, Russia, Krasnodar; Krasnodar Municipal Medical-Diagnostic Association