

© Е.А. Исева, В.Л. Быков, 2006
УДК 615.27:616.329.018.7:599.323.4

Е.А. Исева и В.Л. Быков

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ ПИЩЕВОДА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЦИТОСТАТИКА

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

С помощью гистологических, морфометрических, гистохимических и иммуногистохимических методов исследовали воздействие цитостатической терапии на структурно-функциональные характеристики эпителия слизистой оболочки пищевода мышей, также оценивали обратимость вызываемых цитостатиком изменений. Четырехкратное внутрибрюшинное введение циклофосфана в дозе 400 мг/кг массы тела вызывало такие морфофункциональные изменения, как утолщение эпителиального пласта, возрастание доли рогового слоя в эпителии и его разрыхление, нарушение процесса ороговения, гиперкератоз, просветление и вакуолизация цитоплазмы клеток базального и шиповатого слоев, интерстициальный отек, гипертрофию ядер, паракератоз. Значительно снижались митотическая активность и показатель активности **NADH-диафоразы**, увеличивалось количество PCNA⁺-клеток. Концентрация суммарных белков мало изменялась при действии циклофосфана. Через 15 сут после прекращения введения цитостатика большинство показателей не нормализовались, что свидетельствует о глубоких поражениях эпителия пищевода.

Ключевые слова: *пищевод, эпителий, циклофосфан, NADH-диафораза, PCNA.*

Препараты цитостатического действия широко применяются в лечении злокачественных новообразований, аутоиммунных заболеваний и в трансплантологии [6, 14]. Однако использование этих препаратов сопряжено с развитием ряда осложнений, связанных с повреждающим их действием на различные ткани и органы [3, 4, 6, 8, 11, 13]. Одним из серьезных осложнений цитостатической терапии является развитие эзофагитов, в отдельных случаях отмечается развитие метаплазии эпителия пищевода [15]. Указанные изменения связывают с нарушением пролиферации и дифференцировки эпителиоцитов, а также с подавлением защитных механизмов слизистой оболочки пищевода [12, 17–20]. Между тем, тканевые и клеточные механизмы этих явлений остаются недостаточно изученными, а проведенные исследования единичны и имеют фрагментарный характер [1, 3, 12, 17–20]. Целью настоящей работы явилось комплексное морфофункциональное изучение воздействия цитостатической терапии на эпителий слизистой оболочки пищевода и оценка обратимости вызываемых цитостатиками изменений.

Материал и методы. Опыты были поставлены на 150 самках белых беспородных мышей с массой тела 23–25 г. Животным экспериментальной группы (n=126) внутрибрюшинно вводили цитостатический препарат алкилирующего ряда циклофосфан (ЦФ) (Ферейн, Россия) с интервалом 48 ч в дозе 400 мг/кг массы тела в течение 1–8 сут. Животные контрольной группы (n=24) с той же периодичностью получали изотонический раствор хлорида натрия. Мышей дека-

питировали под легким эфирным наркозом через 24 ч после очередной инъекции. Материал (передний отдел пищевода на уровне щитовидного хряща) брали после 1, 3 и 4 инъекций (2-, 6-е и 8-е сутки эксперимента соответственно). Для изучения обратимости изменений, вызванных ЦФ, материал брали через 5, 10 и 15 сут после трех инъекций препарата (10-, 15-е и 20-е сутки эксперимента соответственно).

Гистологическое и морфометрическое исследование. Материал фиксировали в жидкости Буэна, обрабатывали по стандартной методике и заливали в парафин; поперечные срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином—эозином. Определяли толщину эпителиального пласта (ЭП) и его рогового слоя (РС) с помощью окулярной линейки при об. 40, ок. 10. У каждого животного выполняли по 100 измерений в различных участках на 5 срезах. В базальном слое (БС) эпителия подсчитывали фигуры митоза, просматривая не менее 2000 клеток у каждой мыши при об. 90, ок. 10. Митотическую активность (МА) выражали в промилле.

Гистохимическое исследование. На парафиновых срезах ставили ШИК-реакцию и тетразолиевую реакцию на суммарные белки (гистидин, тирозин, триптофан) по Берстону. На криостатных срезах материала, замороженного в жидком азоте, толщиной 10 мкм выявляли фермент, характеризующий общеметаболическую активность эпителиоцитов и являющийся индикатором состояния митохондрий — **NADH-диафорузу** (тетразолиевым методом по Лойда) [7]. Активность фермента и концентрацию белков оценивали путем абсорбционной цитофотометрии на спектроцитометре плаг-методом при увеличении 280, площади зонда 0,785 мкм² при длине волны 545 и 467 нм для продуктов реакции выявления **NADH-диафоразы и суммарных белков** соответственно. Результаты цитофотометрического анализа выражали в относительных единицах оптической плотности. Концентрацию суммарных белков определяли отдельно в БС, шиповатом (ШС), глубоких и поверхностных отделах РС, активность **NADH-диафоразы** — **отдельно в БС и ШС**. У каждого животного выполняли по 100 измерений.

Таблица 1

Динамика изменения толщины эпителиального пласта (ЭП) и его рогового слоя (РС) в пищеводе мыши при введении циклофосфана ($\bar{x} \pm s_x$, мкм)

Сроки наблюдения (сут)	Толщина ЭП	Толщина РС
0 (контроль)	33±6	9,0±1,7
2	49±3*	17±4*
6	56±8*	21±3*
8	56±4*	14±3*
10П	55±7*	16±4*
15П	54±5*	14±4*
20П	45,2±2,7*	11,4±0,7

Примечание. Здесь и в других таблицах: П — срок после отмены препарата. * Различия значимы по сравнению с контролем при $P < 0,05$.

Иммуногистохимическое исследование включало выявление ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA). Материал фиксировали в 3,7% параформальдегиде, разведенном полифосфатным буфером при pH 7,0 в течение 12–24 ч. Депарафинированные и регидратированные срезы толщиной 5 мкм инкубировали с 3% перекисью водорода, затем в трис-буфере. Препараты обрабатывали антисывороткой против PCNA, конъюгированной с пероксидазой хрена (DAKO A/S, Дания), с последующей инкубацией с диаминобензидином и контрастным окрашиванием метиленовым зеленым. Подсчитывали количество клеток с маркированными ядрами (PCNA⁺-клетки) отдельно в БС и ШС в пересчете на 1000 клеток при об. 90, ок. 10^1 .

Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием программного пакета Statistica for Windows V6.0. Для каждого показателя определяли среднее значение и ошибку средней арифметической, различия величин показателей оценивали с помощью критерия Стьюдента, считая их значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования. Эпителий пищевода контрольных животных имеет типичное гистологическое строение, отчетливо выраженную вертикальную анизоморфию (рис. 1, а). В БС, лежащем на непрерывной базальной мембране, клетки кубические или низкопризматические, с малым объемом базофильной цитоплазмы. Ядра — овальной формы, ориентированы длинной осью перпендикулярно базальной мембране, содержат 1–2 крупных ядрышка. Клетки ШС лежат в 4–5 слоев, имеют полигональную форму, округлые ядра, богатые эухроматином, отчетливо выраженные ядрышки. Клетки зернистого слоя (ЗС) уплощены, лежат в 1–3 слоя, в их цитоплазме наблюдается умеренное количество базофильных кератогиалиновых гранул, ядра уплощены, с преобладанием гетерохроматина. РС ярко оксифильный, компактный, его толщина составляет 22–27% от всей толщины ЭП. ШИК-реакция обнаруживает очень малое содержание углеводсодержащих биополимеров (гликогена, нейтральных полисахаридов) в ЭП преимущественно в области базальной мембраны и в зоне межклеточных границ.

На введение цитостатика ЭП реагирует утолщением (см. рис. 1, б, г). Так, после однократного введения ЦФ (2-е сутки) толщина ЭП возрастает на 47% по сравнению с контролем, а после 4 инъекций (8-е сутки) — уже на 69% (табл. 1). На 5-е сутки после прекращения введения ЦФ (10-е сутки эксперимента) этот показатель также значительно увеличен, но к 20-

м суткам он несколько уменьшается, превышая контрольные значения уже только на 36%. При этом РС реагирует особенно интенсивно: его толщина увеличена на 91%, 133% и 60% соответственно после 1, 3 и 4 инъекций ЦФ (2-, 6-е и 8-е сутки). Доля РС в общей толщине ЭП возрастает с 27% в контроле до 37% после трехкратного введения ЦФ на 6-е сутки эксперимента. Через 5 и 10 сут после отмены препарата (10-е и 15-е сутки эксперимента) толщина РС превышает контрольные значения соответственно на 79% и 59%, но к 20-м суткам показатель нормализуется. Доля РС в общей толщине ЭП приближается к контрольным значениям к 15-м суткам после отмены ЦФ (20-м суткам опыта — см. табл. 1). В РС часто наблюдаются нарушение процесса ороговения, явления гиперкератоза, разрыхление пласта чешуек (см. рис. 1, г), рельеф приобретает зубчатые очертания (см. рис. 1, в), к 15-м суткам после отмены препарата эти явления частично регрессируют: РС компактизируется, но ЭП остается несколько утолщенным. В отдельных случаях на фоне введения ЦФ, особенно на 6–8-е сутки, отмечается нарушение правильного расположения клеток БС, возможно, связанное с повреждением целостности базальной мембраны. Граница между эпителием и соединительной тканью становится нечеткой, клетки БС образуют подобие многоядного пласта. Цитоплазма клеток БС просветлена, вакуолизирована по типу койлоцитоза. Клетки ШС увеличиваются в объеме, их ядра сильно гипертрофированы и просветлены. Наблюдается

¹ Иммуногистохимическое исследование выполнено на базе лаборатории атеросклероза (зав. — академик РАМН проф. В. А. Нагорнев) Научно-исследовательского института экспериментальной медицины РАМН при консультативной помощи мл. науч. сотр. А.Н.Восканьянц. Приносим им свою искреннюю благодарность.

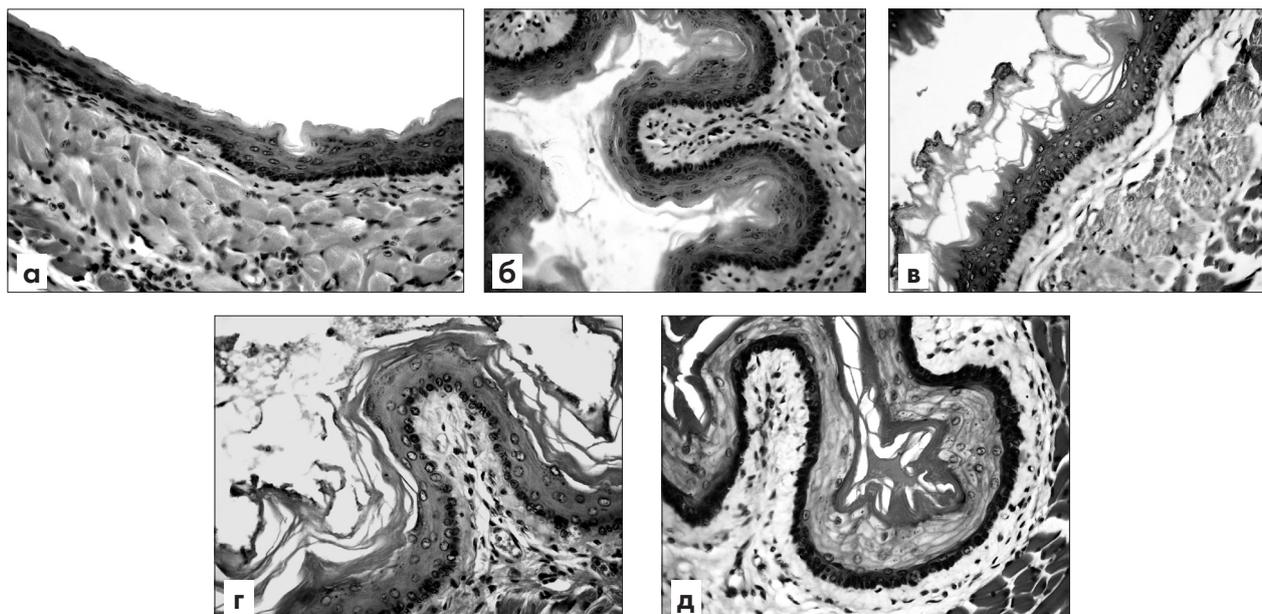


Рис. 1. Структурные изменения эпителия пищевода мыши при введении циклофосфана (ЦФ).

а — контроль; б — начало разрыхления рогового слоя после 1-й инъекции ЦФ; в — зубчатый рельеф рогового слоя после 1-й инъекции ЦФ; г — утолщение пласта эпителия, сильное разрыхление рогового слоя, гипертрофия ядер клеток базального и шиповатого слоев после 4-й инъекции ЦФ; д — утолщение пласта эпителия, гипертрофия клеток шиповатого и зернистого слоев, интерстициальный отек, начало компактизации рогового слоя на 10-е сутки после прекращения введения ЦФ. Окраска гематоксилином—эозином. Об. 40, ок. 10.

интерстициальный отек в зоне расширенных межклеточных промежутков, особенно в ШС и в нижних отделах ЗС (см. рис. 1, д) Также в ШС и ЗС выявляются эпителиоциты с ядрами неправильной формы и инвагинациями ядерной оболочки, а также кариорексис. В цитоплазме клеток ЗС кератогиалиновые гранулы увеличены в размере. В отдельных случаях отмечен паракератоз.

Таблица 2

Динамика изменения митотической активности (МА) в базальном слое эпителия пищевода мыши при введении циклофосфана ($\bar{x} \pm s_x$, %)

Сроки наблюдения (сут)	МА
0 (контроль)	17±4
2	53±4*
6	10,0±2,3*
8	4,9±1,1*
10П	3,7±1,0*
15П	17,0±2,3
20П	29±5*

МА в ходе опыта значительно изменяется (табл. 2). После 1-й инъекции ЦФ (2-е сутки) ее величина возрастает на 211%, но после 3-й и 4-й инъекции (6–8-е сутки) существенно уменьшается по сравнению с контролем (на 42% и 71% соответственно). На 5-е сутки после отмены цитостатика (10-е сутки эксперимента) величина МА по-прежнему меньше таковой в контроле

на 78%, к 15-м суткам она приближается к контрольным значениям, а к 20-м суткам — превышает их на 70% (см. табл. 2). Митотически делящиеся клетки локализованы в основном в БС эпителия, причем их расположение имеет очаговый, кластерный характер, в ШС фигуры митоза единичны. На фоне введения ЦФ отмечаются преимущественно ранние профазы с начальной спирализацией хромосом и сохранением ядерной оболочки, ядра митотически делящихся клеток часто значительно увеличены в объеме.

Активность NADH-диафоразы в опыте в БС снизилась после 4 инъекций ЦФ (8-е сутки) на 12%, в ШС — на 15%, и после прекращения введения препарата на 20-е сутки эксперимента осталась такой же сниженной. Меньшее количество инъекций не оказывало отчетливо выраженного влияния на активность фермента (табл. 3).

Концентрация суммарных белков в эпителии пищевода проявляет тенденцию к повышению в БС и частично в РС: после 1-й инъекции ЦФ (2-е сутки) она увеличивается в БС на 56%, но быстро нормализуется к концу опыта (табл. 4). После отмены цитостатика (10-е сутки эксперимента) концентрация белков в БС вновь повышается на 39%, к 15-м суткам показатель близок к таковому в контроле. В поверхностных отделах РС концентрация белков также увеличена на 18% после 3 инъекций (6-е сутки), но в дальнейшем она нормализуется. В глубоких отделах РС пока-

Таблица 3

Динамика изменения активности NADH-диаффоразы в базальном (БС) и шиповатом (ШС) слоях эпителия пищевода мыши при введении циклофосфана ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, усл. ед. оптической плотности)

Сроки наблюдения (сут)	БС	ШС
0 (контроль)	0,41±0,04	0,34±0,04
2	0,42±0,04	0,35±0,04
6	0,40±0,03	0,330±0,010
8	0,37±0,03*	0,290±0,020*
10П	0,41±0,07	0,31±0,06
15П	0,36±0,03*	0,29±0,03*
20П	0,32±0,05*	0,27±0,04*

затель увеличен на 17% только после 3 инъекций ЦФ (6-е сутки). Концентрация белков в цитоплазме клеток ШС значимо не меняется (см. табл. 4).

Количество PCNA⁺-клеток уменьшается после 1-й инъекции ЦФ (2-е сутки) в БС на 27%, в ШС — на 10% (табл. 5). Однако после 3 инъекций (6-е сутки) оно возрастает в БС на 23%, а в ШС — почти на 100%. После отмены препарата (на 20-е сутки) показатель увеличивается по сравнению с контролем в БС на 58%, в ШС — на 71% (см. табл. 5) (рис. 2, а, б).

Обсуждение полученных данных. В проведенном исследовании изучены изменения эпителия пищевода при кратковременном введении высоких доз цитостатического препарата алкилирующего ряда ЦФ, широко используемого в клинической практике [14]. Результаты нашего исследования свидетельствуют о наличии отчетливо выраженных морфофункциональных изменений в эпителии пищевода под влиянием цитостатика. Эти изменения проявляются нарушением процесса дифференцировки и ороговения: явлением гиперкератоза, увеличением размеров кератогиалиновых гранул, нарушением ядерно-

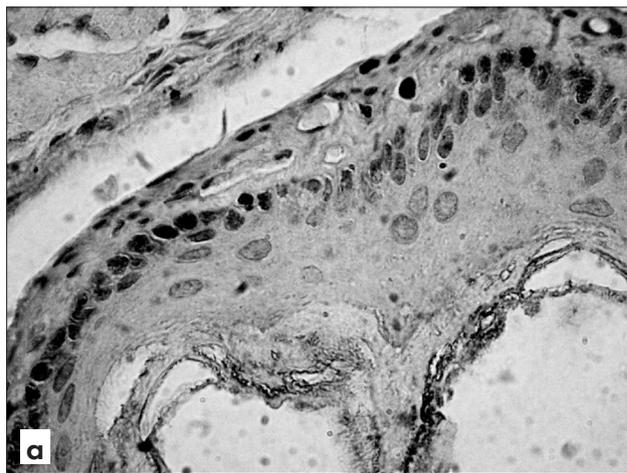


Рис. 2. Проллиферативная реакция эпителия пищевода мыши в норме и при введении циклофосфана (ЦФ).

а — контроль; б — большое количество PCNA⁺-клеток в базальном слое на 15-е сутки после прекращения введения ЦФ. Выявление PCNA с контрастным окрашиванием метиленовым зеленым. Об. 100, ок. 10.

цитоплазменного соотношения в клетках различных слоев, увеличением зоны межклеточных промежутков и интерстициальным отеком, появлением клеток с атипичными ядрами. Сходные изменения описаны при различных формах эзофагитов [10, 16], а также в очагах дисплазии эпите-

Таблица 4

Динамика изменения концентрации суммарных белков в базальном (БС), шиповатом (ШС), глубоких и поверхностных отделах рогового слоя (РС) эпителия пищевода мыши при введении циклофосфана ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, усл. ед. оптической плотности)

Сроки наблюдения (сут)	БС	ШС	Глубокие отделы РС	Поверхностные отделы РС
0 (контроль)	0,57±0,13	0,59±0,18	0,86±0,13	0,83±0,06
2	0,89±0,12*	0,75±0,09	0,96±0,04	0,96±0,07*
6	0,67±0,14	0,75±0,09	1,01±0,07*	0,98±0,03*
8	0,58±0,08	0,55±0,08	0,84±0,09	0,87±0,08
10П	0,79±0,10*	0,74±0,13	0,96±0,05	0,92±0,04
15П	0,61±0,11	0,65±0,18	0,82±0,07	0,86±0,06
20П	0,59±0,07	0,63±0,08	0,63±0,08	0,82±0,05

Таблица 5

Динамика изменения количества PCNA⁺-клеток в базальном (БС) и шиповатом (ШС) слоях эпителии пищевода мыши при введении циклофосфана ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, в пересчете на 1000 эпителиальных клеток)

Сроки наблюдения (сут)	БС	ШС
0 (контроль)	529±32	311±18
2	387±24*	280±35
6	651±41*	618±37*
20П	836±25*	532±29*

лия пищевода [5]. Отмеченные морфологические изменения сопровождаются снижением активности митохондриального фермента NADH-диафоразы, отражающей общий уровень метаболизма клетки. Эти результаты согласуются с данными о чувствительности митохондрий к повреждающему действию ЦФ, который проникает через их мембраны, накапливаясь в этих органеллах и повреждая их структуру [8]. Наблюдаемая нами в ранние сроки эксперимента относительная устойчивость активности NADH-диафоразы, которая сменяется в дальнейшем ее стойким снижением, возможно, связана с постепенным накоплением ЦФ в митохондриях и их повреждением. Этот эффект обратим не полностью — активность фермента не восстанавливается даже на 15-е сутки после отмены препарата. В то же время концентрация суммарных белков в БС значительно повышается уже после 1-й инъекции ЦФ, что, вероятно, можно объяснить активацией белкового синтеза как проявлением защитной реакции эпителия. Возможно также, что, поскольку так реагируют только клетки БС, где в основном сосредоточены камбиальные элементы эпителия, указанные изменения содержания белков отражают усиление пролиферативной активности, выявленное в этот срок. Некоторое увеличение концентрации суммарных белков в РС отмечено только в двух сроках эксперимента, несмотря на резкие морфологические изменения, которые протекают в этом слое и указывают на нарушение процесса десквамации, связей между чешуйками и, вероятно, их механических свойств. Между тем, по нашим данным, все эти нарушения, по-видимому, мало влияют на процессы синтеза и накопления белка в эпителиоцитах и роговых чешуйках. На 5-е сутки после отмены препарата концентрация белков в БС снова возрастает, что сочетается с началом повышения пролиферативной активности эпителия в восстановительном периоде.

Поскольку ЦФ является цитостатиком, предполагалось, что он должен однозначно ингибировать клеточную пролиферацию, однако после

1-й инъекции ЦФ мы наблюдали резкое усиление МА. Это согласуется с данными о том, что однократное введение ЦФ сопровождается интенсивной пролиферацией эпителия пищевода, которая развивается спустя различный период времени в зависимости от момента введения препарата: примерно через 1 сут после его утреннего введения и 9 ч после вечернего [2]. Поскольку в наших экспериментах ЦФ вводили животным стандартно в утреннее время (9–10 ч), выявленное усиление МА совпадает по срокам с описанным в литературе. Сходный эффект дает и воздействие оксимочевинной, которая блокирует переход клеток в S-период и спустя 12 ч после введения приводит к сильному увеличению пролиферативной активности эпителия пищевода [9].

Резкое возрастание МА после 1-й инъекции ЦФ может свидетельствовать о синхронном завершении митозов клетками, уже вступившими в G₂-период до введения цитостатика. По данным некоторых авторов, в эпителии пищевода наиболее чувствительны к действию ЦФ клетки, находящиеся в G₁-фазе митотического цикла, а по мере завершения S-периода устойчивость эпителиоцитов к цитостатику возрастает [4]. Этим можно объяснить и уменьшение доли PCNA⁺-клеток в этот период, так как PCNA маркирует клетки в ранней S-фазе. Возрастание доли PCNA⁺-клеток в дальнейшем по срокам опыта, видимо, можно объяснить длительной задержкой эпителиоцитов в S-фазе, связанной с алкилирующим действием ЦФ, а также процессами репарации поврежденной цитостатиком ДНК. К 15-м суткам после отмены препарата и показатель МА, и доля PCNA⁺-клеток значительно превышают контрольные значения, что можно связать с возрастанием пролиферативной активности в ходе восстановительного периода. Однако некоторые авторы описывают увеличение экспрессии PCNA при эзофагитах [22], а также в ходе преобразования гиперплазии БС эпителия пищевода в его дисплазию [21] — состояниях, протекающих с повреждением ДНК, поэтому наши данные могут указывать на существенные повреждения генетического аппарата клеток эпителия, причем нормализация в ходе изученного восстановительного процесса отсутствует.

Таким образом, описанные изменения, вызванные цитотоксическим действием ЦФ, затрагивают различные стороны морфофункциональной тканевой и клеточной организации эпителия. Они проявляются нарушением архитектоники клеточного пласта, изменениями пролиферативной и метаболической активности эпителиоцитов, хода их дифференцировки и десквамации, что в сово-

купности, вероятно, приводит к снижению защитных свойств эпителия пищевода и предрасполагает к развитию таких осложнений цитостатической терапии, как эзофагиты. Введение цитостатика в высоких дозах, по-видимому, вызывает глубокие изменения в эпителии, поскольку исследованные морфофункциональные показатели в большинстве не возвращаются к норме в течение 15 сут после отмены препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быховец И.В. Изменение пролиферативной активности слизистых и Т-лимфоцитов периферической крови при некоторых заболеваниях пищевода и желудка: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1995.
2. 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.
3. Власова Н.А. Морфологические и гистохимические изменения органов пищеварительной системы под влиянием некоторых противоопухолевых препаратов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев, 1980.
4. Демский В.И. Исследование цитостатического действия циклофосфана в опухолях и эпителии пищевода у мышей. Бюл. exper. биол., 1977, т. 84, № 11, с. 593–595.
5. 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, вып. 2, с. 34–41.
6. Леонтьева Т.И. Изучение иммунодепрессивных свойств циклофосфана, колхицина и винбластина: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ярославль, 1979.
7. Лойда З., Госсрау Р. и Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. М., Мир, 1982.
8. Рева Ю.П. Изменения ультраструктуры клеток печени под действием циклофосфана и особенности его внутриклеточного распределения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985.
9. Рыбаков В.П., Тимофеев А.В. и Романов Ю.А. Влияние однократного введения оксимочевина на клеточное деление в эпителии пищевода и языка мышей. Бюл. exper. биол., 1981, т. 91, № 10, с. 492–493.
10. Федотовских Г.В. Морфология эпителия пищевода при воспалительно-регенераторном процессе, дисплазии и раке: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1989.
11. Шатский Е.Н. Экспериментальное изучение динамики некоторых клеточных и тканевых реакций при цитостатических воздействиях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 1974.
12. Albertsson M., Hakansson C.H. and Palmegren M. Changes in the esophageal epithelium in rabbits treated by Cis-dichlorodiammineplatinum as studied by electron microscopy. Scanning Microsc., 1990, v. 4, № 1, p. 143–149.
13. Chen Y., Perng R.P., Yang K.Y. et al. Phase II study of tamoxifen, ifosfamide, epirubicin and cisplatin combination chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer failing previous chemotherapy. Lung. Cancer, 2000, v. 29, № 2, p. 139–146.
14. Colvin O.M. Alkylating agents. In: Encyclopedia of Cancer. 2nd Ed., Acad. Press, 2003, p. 35–42.
15. Dahms B.B., Greco M.A., Strandjord S.E. and Rothstein F.C. Barrett's esophagus in three children after antileukemia chemotherapy. Cancer, 1987, v. 60, № 12, p. 2896–2900.
16. Hopwood D., Milne G. and Logan K.R. Electron microscopic changes in human oesophageal epithelium in oesophagitis. J. Pathol., 1979, v. 129, № 4, p. 161–167.
17. O'Morchoe P.J., Lee D.C. and Kozak C.A. Esophageal cytology in patients receiving cytotoxic drug therapy. Acta Cytol., 1983, v. 27, № 6, p. 630–634.
18. Peters F.T., Sleijfer D.T., Van Imhoff G. W. and Kleibeuker J.H. Is chemotherapy associated with development of Barrett's esophagus? Dig. Dis. Sci., 1993, v. 38, № 5, p. 923–926.
19. Sartori S., Nielsen, Indelli M. et al. Barrett esophagus after chemotherapy with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil (CMF): an iatrogenic injury? Ann. intern. Med., 1991, v. 114, № 3, p. 210–211.
20. Spechler S. J. Barrett esophagus: a sequela of chemotherapy. Ann. Intern. Med., 1991, v. 114, № 3, p. 243–244.
21. 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, Suppl., v. 28–29, p. 159–165.
22. Wang T., Liu B., Wang L. et al. The expression and implication of proliferating cell nuclear antigen and p53 protein in reflux esophagitis lesions. Zhonghua Nei Ke Za Zhi., 2002, v. 41, № 1, p. 39–42.

Поступила в редакцию 08.05.2006 г.

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES OF THE ESOPHAGEAL EPITHELIUM AFTER CYTOSTATIC TREATMENT

Ye.A. Iseyeva and V.L. Bykov

Using histological, morphometric, histochemical and immunocytochemical methods, the effect of cytotoxic treatment on structural and functional characteristics of the epithelium of esophageal mucosa was studied in mice together with the reversibility of the changes induced by cytotoxic drug. Fourfold intraperitoneal injection of cyclophosphamide (400 mg/kg of body mass) resulted in such morpho-functional changes, as thickening of epithelial layer, increase in proportion of its stratum corneum and its loosening, disturbances in cornification process, hyperkeratosis, vacuolization of cell cytoplasm in stratum basale and stratum spinosum, interstitial edema, nuclear hypertrophy and parakeratosis. Mitotic activity and the activity of NADH-diaphorase were significantly reduced, while the number of PCNA⁺ cells was increased. Cyclophosphamide had no significant effect on the concentration of total proteins. 15 days after the discontinuation of cytostatic treatment, most of the indexes did not return to normal values, indicating profound disturbances in the esophageal epithelium.

Key words: *esophagus, epithelium, cyclophosphamide, NADH-diaphorase, PCNA.*

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