

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(4)-02

УДК: 611.018:616.311:57.017.642

## ГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПІТЕЛІАЛЬНОГО ШАРУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ КАРДІАЛЬНОГО ВІДДІЛУ ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНОГО З'ЄДНАННЯ В РІЗНІ ПЕРІОДИ ПРЕНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ (ЧАСТИНА 2)

Рекун Т.О., Вернигородський С.В., Кисельова Т.М., Черепаха О.Л.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:  
e-mail: vernset@ukr.net

Статтю отримано 5 вересня 2018 р.; прийнято до друку 25 жовтня 2018 р.

**Анотація.** З метою вивчення кількісного та якісного складу муцинів епітелію гастроезофагеальної зони (ГЕЗ) на етапах ембріонального та фетального періодів онтогенезу нами були проведені морфометричні та гістохімічні дослідження епітеліального диферону стравохідно-шлункового перехід (СШП). Встановлено, що на ранньому ембріональному періоді 5-6 тижнів спостерігається поступове збільшення секреції нейтральних та кислих муцинів в шлунковому відділі епітеліального диферону СШП, в той час як ембріофетальний або неофетальний період - з 7 по 9 тижні характеризувався зміною і структурною перебудовою епітеліального диферону та появою сульфомуцинів в шлунковому епітелії та поступовим зниженням продукції кислих муцинів. Для раннього фетального періоду (10-28 тижнів) характерним було зникнення кислих сіаломуцинів в епітелію ГЕЗ з 10 по 18 тижнів та зростанням до  $7,65 \pm 0,18\%$  нейтральних муцинів з падінням їх рівня у 18-20 тижневий період та зниженням до  $2,4 \pm 0,10\%$  у 28 тижнів ( $p < 0,001$ ). Пізній фетальний період - з 28 до 38 тижня характеризувався завершеною структурною перебудовою епітеліального диферону ГЕЗ з формуванням простого стовпчастого епітелію кардіальної частини шлунка з неповним гістохімічним цитодиференціюванням шлункового епітелію гастроезофагеальної зони, про що свідчили залишки кислих муцинів (сіаломуцинів), які не характерні для зрілого шлункового епітелію.

**Ключові слова:** гастроезофагеальне з'єднання, кардіальна слизова оболонка, муцини, гістохімічний аналіз, морфологія.

### Вступ

Вивчення морфологічних властивостей та структурно-функціональної перебудови епітеліального диферону слизової оболонки гастроезофагеальної зони (ГЕЗ) має принципове значення у зв'язку з виконанням нею життєво-важливих функцій та активною участю компонентів езофагогастроінтестинального бар'єру в клітинній адгезії, міграції, диференціації і малигнізації. Останнім часом швидко зростає цікавість до муцинів, що зумовлене важливою функціональною роллю слизу в діяльності шлунково-кишкового тракту (ШКТ) і тим, що великі муциноподібні домени приймають участь у міжклітинних та клітинно-середовищних взаємодіях у складі глікопротеїнів зв'язаних з мембранами багатьох епітеліальних клітин. Пре- та епітеліальний бар'єри ШКТ складаються з великої групи глікопротеїнів або муцинів, які розподіляються на дві групи - секреторні та трансмембранні. Трансмембранні глікопротеїни вбудовані у мембрани епітеліоцитів і виконують "якірну" функцію. Секреторні муцини прикріплюються до трансмембранних та формують прошарок, або слизову плівку [6]. Інші захисні білки включають простагландини (PGE2), епідермальний фактор росту (EGF) та трансформуючий фактор росту - альфа (TGF $\alpha$ ), [16, 17, 18]. Муцини мають високу молекулярну масу, складаються з центрально локалізованої білкової молекули, з'єднаної з олігосахаридами. Сегмент білкового центра має множинні вуглеводні ланцюги і нагадує йоржик для миття пляшок. Вуглеводні компоненти в ньому мають вигляд прямих або розгалужених структур, можуть бути кислими (місти-

ти сілову кислоту або сульфатні групи) або нейтральними. Тут можлива велика кількість варіантів. При цьому олігосахариди мають відношення до формування трьох різних зон. Одна з них - це ділянка, де вуглеводи приєднуються прямо до пептиду, потім йдуть зони центру і периферична, яка зазвичай містить сілову кислоту, речовини групи крові або сульфатовані речовини [2, 4, 5]. Участь муцинів у формуванні, дозріванні, клітинній міграції та диференціації епітелію ГЕЗ ембріонів та плодів залишається до кінця не з'ясованою.

Ось чому метою нашого дослідження стало вивчити кількісний та якісний склад муцинів епітелію кардіального відділу гастроезофагеальної зони на етапах ембріонального та фетального періодів онтогенезу.

### Матеріали та методи

Дослідження виконано на ембріонах та плодах людини віком від 4-5 до 38 тижнів внутрішньоутробного розвитку, що розвивалися у матці за відсутності явно виражених чинників зовнішнього і внутрішнього середовища, одержаних при медичних абортів, або мертворождалих у відносно здорових жінок у Вінницькому обласному патологоанатомічному бюро (ВОПАБ) та пологових будинках м. Вінниці і які загинули від причин, не пов'язаних із захворюваннями ШКТ.

Препарати плодів вагою понад 500,0 г вивчали безпосередньо у ВОПАБ м. Вінниці (наказ МОЗ України "Про затвердження Інструкції з визначення критеріїв перинатального періоду, живонародженості та мертво-на-

**Таблиця 1.** Розподіл ембріонів та плодів людини за віковими групами.

№	Вік (тижні)	Кількість	ТКД, мм
1	4-5	6	6,1±0,3
2	6-7	6	15,1±0,6
3	8-9	7	19,4±0,5
4	10-11	10	39,02±0,5
5	12-13	11	58,72±2,27
6	14-15	12	93,11±5,1
7	16-17	15	122,17±2,7
8	18-20	19	152,9±3,5
9	21-24	20	192,14±1,8
10	25-28	13	230,96±3,1
11	29-32	14	264,83±1,7
12	33-36	20	302,92±1,4
13	37-38	16	341,5±5,7
Всього		169	-

родженості. Порядку реєстрації викіднів і мертворождалих" № 179 від 29.03.2006). Вік суб'єктів дослідження визначали за таблицями Т. Садлер (2001) на підставі вимірювання тім'яно-куприкової довжини [10].

Загальна кількість ембріонів та плодів становила - 169, які були розподілені за віком і тім'яно-куприковою довжиною (ТКД) на наступні групи (табл. 1).

Досліджувані об'єкти були розподілені також за віковою періодизацією А.В. Мазурина, І.М. Воронцова (1985) та Р.К. Данілова, Т.Г. Борової (2003) та включали наступні періоди пренатального розвитку людини [2, 3, 5]:

- ембріональний період - з 5 по 6 тиждень (35-42 дб);
- ембріофетальний (неофетальний) період - з 7 по 9 тижні (43-62 дб);
- ранній фетальний період - з 10 до 28 тижня (63-196 дб);
- пізній фетальний період - з 28 до 38 тижня (197-266 дб за Р.К. Даніловим, Т.Г. Боровою, 2003).

Дослідження проведені згідно з методичними рекомендаціями "Дотримання етичних та законодавчих норм і вимог при виконанні наукових морфологічних досліджень" та "Порядок вилучення і використання біологічних об'єктів від померлих осіб, тіла яких підлягають судово-медичній експертизі та патологоанатомічному дослідженню, для наукових цілей" [4, 9]. Для визначення морфологічних змін використовували наступні методи: загально-гістологічні (фарбування гематоксилін-еозином), гістохімічні: фарбування слизової оболонки ГЕЗ альдегід фуксином за Гоморі для виявлення сульфомуцинів, альціановим синім при рН 1,0 та 2,5 в поєднанні з ШИК-реакцією за Моурі для ідентифікації кислих та нейтральних муцинів [1]. Кількісну оцінку та якісну ідентифікацію муцинів виконували за допомогою власної розробленої корисної моделі з використанням фа-

зового аналізу [8].

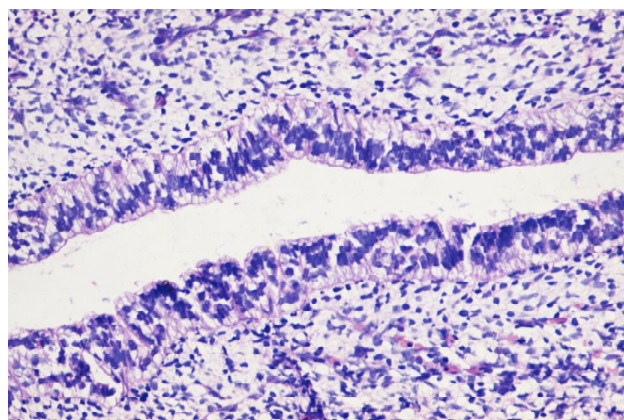
Мікроскопію і фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 при збільшеннях у 40, 100, 200 і 400 разів. Отримували і обробляли знімки, проводили морфометрію та статистичну обробку за допомогою програми "Quick PHOTO MICRO 2.3". Вміст клітинних елементів визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (1 мм<sup>2</sup>). При виконанні морфометричних досліджень керувалися основними засадами, викладеними в керівництві Г.Г. Автандилова (2002) [1].

## Результати

Шлунковий епітелій ГЕЗ зародків 4-5 тижнів з середньою ТКД 6,1±0,3 мм та 6-7 тижнів (ТКД 15,1±0,6 мм) на даних термінах спостереження за гістохімічними характеристиками схожий до стравохідного, проте характеризувався більш тісним розташуванням ядер з їх гіперхромією, при цьому зустрічалися як трьох, так і чотирьохрядне розташування, при цьому ядра були в основному видовженої форми (рис. 1). Вже в цей період зустрічалися поодинокі вакуолі як в субнуклеарних, так і над ядерних відділах, місцями характерним було утворення ШИК-позитивної облямівки, яка також помітна і при забарвленні препаратів гематоксилін-еозином. Базальна мембрана добре контурується. Для клітин базального шару в цей період спостереження характерні ознаки незрілості: високе ядерно-цитоплазматичне співвідношення, переважання еухроматину в ядрі. Ядра довгасті, містять 1-2 великих ядерця неправильної форми, орієнтовані своєю довгою віссю перпендикулярно до базальної мембрани та розташовані переважно в апікальній частині клітин (рис. 1).

Висота шлункового епітелію у ембріонів 4-5 тижнів з ТКД 6,1±0,3 мм складала 38,33±0,703, площа ядер 86,6±2,875 мкм<sup>2</sup>, цитоплазми 55,4±1,978, ядерно-цитоплазматичний індекс складав 1,56 (табл. 2).

Сульфомуцини на 4-5 тижні в цитоплазмі шлункових



**Рис. 1.** Гіперхромні ядра шлункового епітелію, які щільно прилягають одне до одного та розташовані переважно в апікальних відділах епітеліоцитів. Слизова оболонка шлунка зародка 4-5 тижнів з ТКД 6,1±0,3 мм. Гематоксилін й еозин, х 400.

**Таблиця 2.** Висота, площа ядра, цитоплазми та ядерно-цитоплазматичний індекс епітелію кардіального відділу слизової оболонки СШП.

№	Вік (тижні)	Висота епітелію (мкм)	Площа ядра (мкм <sup>2</sup> )	Площа цитоплазми (мкм <sup>2</sup> )	ЯЦІ
1.	4-5	38,33±0,703	86,6±2,875	55,4±1,978	1,56
2.	6-7	47,16±1,869	81,7±3,051	85,7±3,508	0,95
3.	8-9	35,7±1,605	42,3±1,868	60,2±2,462	0,7
4.	10-11	25,9±1,311	34,6±2,222	37,5±0,897	0,92
5.	12-13	20,9±0,766	31,9±1,257	27,4±1,077	1,16
6.	14-15	21,4±0,561	30,2±1,051	35,4±1,521	0,85
7.	16-17	20,9±0,690	23,4±1,359	18,4±0,832	1,27
8.	18-20	16,6±0,636	13±1,154	16,8±1,041	0,77
9.	21-24	13,5±1,909	30,9±1,923	59,1±1,516	0,52
10.	25-28	12,2±0,646	31,6±1,257	61,8±1,711	0,51
11.	29-32	23,3±0,882	28,5±1,310	66,6±2,864	0,42
12.	33-36	20,6±0,618	32,5±2,072	85,1±1,378	0,38
13.	37-38	21,4±8,884	40±1,437	93,5±1,933	0,42

**Примітка.** ЯЦС - ядерно-цитоплазматичний індекс

**Таблиця 3.** Вміст муцинів в епітелії кардіального відділу шлунка за даними фазового аналізу з розрахунку на 0,01 мм<sup>2</sup>.

№	Вік (тижні)	КМ (%)	НМ (%)	СМ (%)
1	4-5	1,69±0,23	4,4±0,29	-
2	6-7	3,0±0,19	5,3±0,21	0,39±0,04
3	8-9	3,8±0,08	6,2±0,08	0,53±0,06
4	10-11	4,05±0,09	5,95±0,09	-
5	12-13	6,6±0,11	6±0,1	-
6	14-15	8,1±0,11	6,9±0,10	-
7	16-17	15,9±0,10	37±0,4	3,98±0,28
8	18-20	17±0,12	21,9±0,13	2,9±0,24
9	21-24	24,5±0,13	20,6±0,13	0,47±0,06
10	25-28	14±0,09	19±0,10	-
11	29-32	5,23±0,01	29,9±0,11	-
12	33-36	1,75±0,13	17,4±0,13	-
13	37-38	0,94±0,05	20±0,11	-

**Примітки:** КМ - кислі муцини, НМ - нейтральні муцини, СМ - сульфомуцини, - муцини відсутні.

епітеліоцитів не визначалися, кислі муцини зустрічалися в незначній кількості 1,69±0,23%, частка нейтральних муцинів складала 4,4±0,29% (табл. 3).

У 6-7 тижнів (ТКД 15,1±0,6 мм) з'являлися сульфомуцини в цитоплазмі шлункових епітеліоцитів у вигляді дрібних гранул пурпурного кольору при застосуванні забарвлення альдегід-фуксином за Гоморі, при цьому кількість їх була досить незначною 0,39±0,04% у порівнянні з кислими (3,0±0,19%) та нейтральними муцинами (4,4±0,29), кількість яких на даному терміні спостереження продовжує збільшуватися, при цьому нейтральні муцини добре візуалізуються, при використанні

ШИК-реакції, у вигляді дрібних субнуклеарних гранул, забарвлюючись у малиновий колір. Клітини багаторядного одношарового епітелію витягнуті, щільно прилягають одна до одної, ядра епітеліоцитів нормохромні, місцями світлі з ніжною сіткою хроматину, розташовані в апікальних відділах. Висота шлункового епітелію на даному терміні дослідження складала 47,16±1,869, площа ядер 81,7±3,051 мкм<sup>2</sup>, цитоплазми 85,7±3,508, ядерно-цитоплазматичний індекс зменшувався у порівнянні з попереднім періодом за рахунок збільшення площі ядер та складав 0,95 (табл. 2).

Перші шлункові ямки утворювалися упродовж 7-9-го тижнів уздовж малої кривизни у формі невеликих заглиблень епітелію, що вросли в підлеглу сполучну тканину. До 12-13-го тижня вони формуються на всьому протязі шлунка. У плодів 8-9 тижнів з ТКД 19,4±0,5 мм одночасно відбувається формування шлункових ямок й у фундальному відділі, деякі з них утворюються скупчення клітин - так звані залозисті (закладки головних залоз).

У плодів 10-11 тижнів з ТКД 39,02±0,5 мм. Висота епітелію 25,9±1,311, площа ядер 34,6±2,222 мкм<sup>2</sup>, цитоплазми 37,5±0,897 мкм<sup>2</sup>, ядерно-цитоплазматичний індекс складав 0,92. Вміст сіаломуцинів незначно зростає до 4,05±0,09%, кількість нейтральних муцинів (5,95±0,09%) практично не змінюється у порівнянні з попереднім терміном, сульфомуцини на цьому етапі дослідження не виявляються.

У період 12-13 тижнів (ТКД 58,72±2,27 мм) спостерігали зниження висоти епітелію до 20,9±0,766 мкм та площі цитоплазми до 27,4±1,077 мкм<sup>2</sup>, проте секреція слизу на відміну від стравохідного епітелію продовжується, при цьому площа ядер складала 20,9±0,766 мкм<sup>2</sup>, останні змінювали свою форму ставали більш округлими. Ядерно-цитоплазматичний індекс складав 1,16. Сульфомуцини не зустрічалися, сіаломуцини складали 6,6±0,11%, нейтральні муцини 6±0,1%. Характерним для даного терміну спостереження було продовження формування шлункових ямок за рахунок сосочко подібного розростання підлеглої мезенхіми з незначною алціановою філією та осередковим скупченням сіаломуцинів у поверхневих відділах цитоплазми шлункових епітеліоцитів.

У плодів з гестаційним віком 14-15 тижнів та ТКД 93,11±5,10 мм поступово зникали вакуолі в епітеліоцитах. Гістохімічний аналіз вказує на активну продукцію слизовими клітинами кислих муцинів більше, ніж сульфатованих. Висота шлункового епітелію на даному терміні дослідження складала 21,4±0,561, площа ядер 30,2±1,051 мкм<sup>2</sup>, цитоплазми 35,4±1,521, ядерно-цитоплазматичний індекс зменшувався у порівнянні з попереднім періодом за рахунок збільшення площі ядер та складав 0,85. Шлункові ямки вже набували характерної структурної будови як в кардіальному, так і фундальному відділах шлунка. При забарвленні алціановим синім слизовий секрет фарбується у блакитний колір, набуваючи більш синього відтінку у поверхневих відділах шлункового епітелію, місцями утворюючи посмуговану облямівку. В

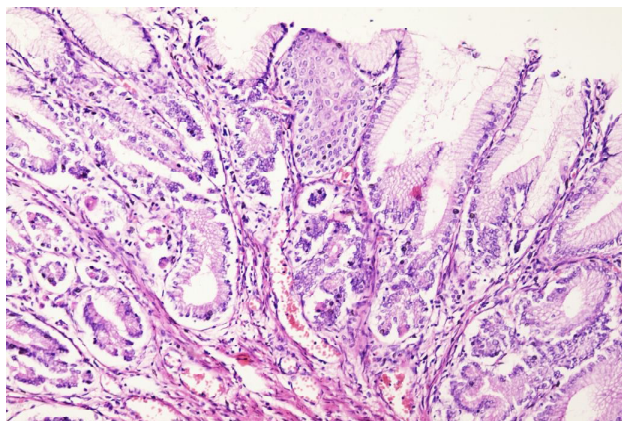
ядрах епітеліальних клітин чітко контуруються ядра. Сульфомуцини не виявляються, сіаломуцини  $8,1 \pm 0,11$ , нейтральні муцини  $6,9 \pm 0,10$ .

При дослідженні слизової оболонки кардіальної частини шлунка в ГЕЗ у плодів з гестаційним віком 16-17 тижнів та з ТҚД  $122,17 \pm 2,7$  мм цито- і каріометричний порівняльний аналіз гістологічних препаратів виявив, що середньоарифметична величина площі ядер на даному терміні дослідження становить  $23,4 \pm 1,359$  мкм<sup>2</sup>, цитоплазми  $18,4 \pm 0,832$  мкм<sup>2</sup>, а ядерно-цитоплазматичний індекс 1,27. Висота епітелію  $20,9 \pm 0,62$  мкм. Характерним для даного терміну дослідження було різке достовірне ( $p > 0,001$ ) підвищення рівня нейтральних муцинів до  $37 \pm 0,4\%$ , які добре виявлялися при застосуванні ШИК-реакції в апікальних відділах поверхневого епітелію з утворенням ШИК-позитивної облямівки та в цитоплазмі шийкових мукоцитів. Поряд з цим облямівка позитивно забарвлювалась і альціановим синім, що свідчило про наявність і сіаломуцинів на даному періоді дослідження, які складали  $15,9 \pm 0,10\%$ , також для цього терміну спостереження виявлений найбільш високий рівень сульфомуцинів  $3,98 \pm 0,28$ .

У плодів з гестаційним віком 18-20 тижнів та з ТҚД  $152,9 \pm 3,5$  мм приблизно на 18-му тижні ядра покривного епітелію набувають однорядного розташування. Диференціація клітин поверхневого епітелію і становлення їх секреторної функції починається з 7-9 тижня. До 12-го тижня гістохімічно мукоїдний секрет виявляється в покривному епітелії всіх відділів шлунка, над'ядерній зоні клітин, що вистилають шлункові ямки і шийки залоз. Висота епітелію  $16,6 \pm 0,636$  площі ядер становлять  $13 \pm 1,154$  мкм<sup>2</sup>, цитоплазми  $16,8 \pm 1,041$  мкм<sup>2</sup>, а ядерно-цитоплазматичний індекс 0,77. Рівень сіаломуцинів у цитоплазмі епітеліоцитів продовжує підвищуватися, особливо в фундальному та антральному відділі до  $17 \pm 0,12\%$ , тоді як кількість нейтральних муцинів дещо знижується до  $21,9 \pm 0,13\%$  у порівнянні з попереднім терміном, про що свідчить зміна інтенсивності забарвлення при використанні комбінованої ШИК-рації з альціановим синім. У ділянках з більшим високим рівнем сіаломуцинів змінювався колір з малинового на пурпурний, а з меншим вмістом сіаломуцинів та перевагою нейтральних муцинів залишався малиновим. Секреція сульфомуцинів залишалася на високому рівні ( $2,9 \pm 0,24\%$ ) та також переважала у цитоплазмі епітеліоцитів фундального та антрального відділів СОШ.

У плодів з гестаційним віком 21-24 тижнів та ТҚД  $192,14 \pm 1,8$  мм епітелій СОШ завершує своє диференціювання. Про це свідчить поступове зниження ядерно-цитоплазматичного індексу до 0,52 за рахунок збільшення площі цитоплазми до  $59,1 \pm 1,516$  мкм<sup>2</sup> та площі ядер до  $30,9 \pm 1,923$  мкм<sup>2</sup> (див. табл. 2). Висота епітелію при  $13,5 \pm 1,909$ . Рівень сульфомуцинів продовжує падати до  $0,47 \pm 0,06\%$ . Сіаломуцини цитоплазми  $24,5 \pm 0,13\%$ , нейтральні  $20,6 \pm 0,13\%$ , сульфомуцинів  $0,47 \pm 0,06$ .

У плодів з гестаційним віком 25-28 тижнів та ТҚД



**Рис. 2.** Сформовані, місцями глибокими шлункові ямки, що вистелені високим призматичним епітелієм з поодинокими парієтальними екзокриноцитами в базальних відділах. Острівці багатшарового плоского незроговілого епітелію в зоні СШП. Гематоксилін й еозин, х 200.

$230,96 \pm 3,1$  мм. Висота епітелію  $12,2 \pm 0,646$  площі ядер становлять  $31,6 \pm 1,257$  мкм<sup>2</sup>, цитоплазми  $61,8 \pm 1,711$  мкм<sup>2</sup>, а ядерно-цитоплазматичний індекс 0,51. Рівень сіаломуцинів у епітеліальному секреті достовірно ( $p < 0,001$ ) знижується до  $14 \pm 0,09\%$  у порівнянні з попереднім строком, що документується при використанні забарвлення альціановим синім, при цьому кислі муцини виявляються переважно в цитоплазмі поверхневих епітеліоцитів та шийкових мукоцитів у вигляді дрібних гранул блакитного кольору не нейтральні  $19,6 \pm 0,10\%$ , сульфомуцини не виявлялися.

У плодів з гестаційним віком 29-32 тижнів та з ТҚД  $264,83 \pm 1,7$  висота епітелію складала  $23,3 \pm 0,88$  мкм площі ядер становлять  $28,5 \pm 1,310$  мкм<sup>2</sup>, цитоплазми  $66,6 \pm 2,864$  мкм<sup>2</sup>, а ядерно-цитоплазматичний індекс 0,42. Сіаломуцини цитоплазми ще зустрічаються на ембріональному періоді у всіх відділах СОШ переважно в залозистих екзокриноцитах, рівень їх достовірно зменшується ( $p < 0,001$ ) до  $5,23 \pm 0,01\%$ , в той час як кількість нейтральних муцинів підвищується до  $29,9 \pm 0,11\%$ , сульфомуцини на даному терміні спостереження не виявлялися.

На 33-36 тижнях (ТҚД -  $302,92 \pm 1,4$ ) висота епітелію  $20,6 \pm 0,618$  площі ядер становлять  $32,5 \pm 2,072$  мкм<sup>2</sup>, цитоплазми  $85,1 \pm 1,378$  мкм<sup>2</sup>, а ядерно-цитоплазматичний індекс самий низький 0,38. Рівень сіаломуцинів достовірно знижувався цитоплазми  $1,75 \pm 0,13\%$ , нейтральні  $17,4 \pm 0,13\%$ , сульфомуцини не виявлялися.

У плодів з гестаційним віком 37-38 тижнів та з ТҚД  $341,5 \pm 5,7$  мм висота епітелію становила  $21,4 \pm 8,884$  мкм, площа ядер була  $40 \pm 1,437$  мкм<sup>2</sup>, цитоплазми  $93,5 \pm 1,933$  мкм<sup>2</sup>, а ядерно-цитоплазматичний індекс був самий низький 0,42. Рівень сіаломуцинів достовірно знижувався цитоплазми  $0,94 \pm 0,05\%$ , нейтральні  $20 \pm 0,11\%$ , сульфомуцини не виявлялися. Структурна перебудова ГЕЗ завершувалася, проте серед слизової оболонки кардіального відділу шлунка інколи зустрічалися острівці багатшарового плоского незроговілого епітелію (рис. 2).



### Обговорення

Вивчення гістогенезу клітин (тобто перетворення клітин, що експресують риси специфічної диференції, в інший клітинний тип, відмінний від початкового набором нових морфологічних ознак) є актуальним, як мінімум, з двох причин. Ця проблема - одна з фундаментальних, по-перше, в області вивчення клітинного диференціювання, по-друге - при дослідженні регенерації органів і тканин. Саме пластичність клітинного фенотипу представляє один з механізмів (поряд з участю недиференційованих, або стовбурових клітин), які забезпечують регенерацію багатьох органів і тканин у безхребетних та нижчих хребетних тварин. Як відомо, секреторні муцини, що продукуються епітеліоцитами ШКТ, грають важливу роль у підтримці клітинного гомеостазу, а також у формуванні захисних бар'єрів [7, 20].

Зі специфічною структурою вуглеводних детермінант глікопротеїнів пов'язані механізми, що забезпечують орієнтацію білкових молекул у ліпідному шарі цитомембран, стабілізацію просторової структури білків, трансмембранний і внутрішньоклітинний транспорт (зокрема, перенесення гідролітичних ферментів з комплексу Гольджі до лізосом), а також молекулярні механізми міжклітинного розпізнавання. Останнє відіграє важливу роль щодо дозрівання та диференціації клітин, гістогенезу й органного морфогенезу, контактного гальмування проліферації, забезпечення імунного нагляду. Сучасні уявлення про гастроінтестинальний бар'єр пов'язані зі здатністю поверхневих і залозистих епітеліоцитів до синтезу муцинів [6, 7].

Характер і ступінь глікозилювання муцинів ШКТ варіюють. Утворення олігосахаридних ланцюгів регулюється серією глікозилтрансфераз, кожна з яких специфічна для одного з них. В умовах розвитку запального процесу муцини зазнають ряд важливих перетворень, які пов'язані з глікозилюванням і сульфатуванням. При цьому якщо ступінь сульфатування макромолекул знижується, то ефект сіалування збільшується. Сульфатування і сіалування відіграють важливу роль в забезпеченні ступеня резистентності муцина до бактеріального пошкодження.

Вивчення розподілу муцинів у цитоплазмі епітеліоцитів ГЕЗ показало, що певному типу муцина відповідає свій клітинний фенотип. Кожний етап диференціації, дозрівання та заміни одного епітелію іншим проходить цитодиференціювання, яке характеризується появою, зменшенням або збільшенням кількості певного типу муцину в цитоплазмі епітеліоцитів ГЕЗ.

Щодо секреторної активності муцинів в епітелії кардіальної частини шлунка, слід зазначити появу сульфомуцинів на 6-7 тижнях та 8-9 тижнях, при цьому певної відповідності з рівнем сіаломуцинів, яку реєстрували у стравохідному епітелії ми не спостерігали на даному терміні спостереження, проте поява їх, і зменшення секреції з 16 до 25 тижня відповідала збільшенню секреції

сіаломуцинів та нейтральних муцинів до  $15,9 \pm 0,10$  та  $37 \pm 0,4$ . Рівень кислих муцинів достовірно зростав, починаючи з 6 тижня та досягав максимальних показників  $24,5 \pm 0,13$  % на 21-24 тижнях з поступовим, але неповним їх зникненням на 37-38 тижнях ( $0,94 \pm 0,05$  %). Секреція нейтральних муцинів в шлунковому епітелії характеризувалася поступовим зростанням з  $4,4 \pm 0,29$  % на ранньому ембріональному періоді до максимальних показників  $37 \pm 0,4$  % на 16 тижні. Починаючи з 18 тижня відмічали поступове зниження рівня нейтральних муцинів до  $19 \pm 0,10$  % на 25-28 тижнях. Проте з 29 тижня знову спостерігали підвищення рівня НМ до  $29,9 \pm 0,11$  % та наступною стабілізацію на рівні  $17,4 \pm 0,13$  -  $20 \pm 0,11$  % на 33-36 та 37-38 тижнях відповідно. Починаючи з 8 тижня відбувалося достовірне зменшення висоти епітелію у порівнянні з попереднім строком, при цьому структурна перебудова його характеризувалася зміною форми від призматичного до кубічного зі зростанням кількості рядів до 4, що співпадає з даними Kaiyo Takubo, 2007 [15]. Для даного періоду розвитку стравоходу характерним була поява вакуолей у цитоплазмі епітеліоцитів з їх дистрофічними змінами. 10-11 тиждень характеризувався трансформацією псевдобагатошарового призматичного епітелію у слизово-війчастий варіант, що нагадував епітелій трахеї, але слизові та келихоподібні клітини, як правило не зустрічалися на відміну від трахеального епітелію. Цей період супроводжувався зниженням вмісту як кислих, так й нейтральних муцинів, що співпадає з дослідженнями [13, 15]. 12-13 тиждень характеризувався перевагою дистрофічних змін з вакуолізацією та десквамацією епітеліоцитів.

За даними М.Р. Сапина та співав. (2013) закладка шлункових залоз починається на 10 тиждень внутрішньоутробного розвитку дитини [11], проте в нашому дослідженні в зоні СШП ми не спостерігали залозистих структур на даному терміні спостереження. Зачатки кардіальних залоз стравоходу починали з'являтися за нашими даними з 21 тижня, щодо власних залоз то їх зачатки нами не виявлялися до 36 тижня, проте вже сформовані власні залози ми реєстрували у плодів на 36-37 гестаційному тижні. Kaiyo Takubo, 2007 виявляли їх на 29 тиждень внутрішньоутробного розвитку. Упродовж пренатального періоду у СО нижньої третини стравоходу ГЕЗ нами було зареєстровано зміна 3-х типів епітелію: псевдобагатошарового призматичного після 7-го тижня на війчастий багаторядний стовпчастий та починаючи з 12 тижня до 17 тижня на багатошаровий плоский незроговілий. У СО кардіального відділу шлунка спостерігали зміну 3-х типів епітелію псевдобагатошарового призматичного на кубічний після 7-го тижня спостереження та кубічного на простий стовпчастий епітелій після 12 тижня до 16 у фундальному та антральному відділах шлунка та до 21 тижня в кардіальному.

Щодо факторів, які впливають на диференціацію епітеліоцитів, то вони на сьогоднішній день залишаються

невідомими, одним з них може бути поява ковтального рефлексу з проникненням амніотичної рідини у ШКТ, за даними різних авторів вперше плід починає ковтати з 11 [13], інших з 16 тижня [12], смоктальний рефлекс з'являється з 18-20 тижня та як правило повністю формується до 34-35 тижнів. Кількість амніотичної рідини, що ковтається плодом, поступово збільшується з декількох міліметрів до 13 мл у 20 тижнів гестації та до 450 мл у третьому триместрі вагітності [12]. Враховуючи наявність різних білків, ферментів та факторів росту, амніотична рідина цілком ймовірно може впливати на дозрівання, диференціацію та спеціалізацію епітелію ШКТ [14]. В нашому дослідженні період появи ковтальних та смоктальних рефлексів у плода співпадав з суттєвою структурною та гістохімічною перебудовою епітелію. Щодо подальшого дослідження епітеліального диферону ГЕЗ, то для більш глибокого розуміння необхідно поряд з гістохімічними методами залучати і молекулярно-генетичні маркери, зокрема транскрипційні фактори, що безпосередньо приймають участь у диференціації епітелію ГЕЗ.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Вікова динаміка вуглеводних компонентів слизової оболонки кардіального відділу шлунка ембріонів та плодів проявляється варіабельністю якісного та кількісного складу його структурних компонентів.

2. Ранній ембріональний період - з 5 по 6 тижень характеризувався поступовим збільшенням продукції нейтральних та кислих муцинів у шлунковому відділі епі-

теліального диферону СШП, у той час як ембріофетальний або неофетальний період - з 7 по 9 тижні характеризувався зміною призматичної форми епітелію на кубічну з появою сульфомуцинів у шлунковому епітелії та поступовим зниженням продукції кислих муцинів.

3. Для раннього фетального періоду - з 10 до 28 тижня характерною була перебудова з вакуолізацією, дистрофічними змінами та десквамацією шлункового епітелію на 12 тижні гестаційного періоду, зникнення кислих сіаломуцинів з 10 по 18 тижень та зростання до  $7,65 \pm 0,18\%$  нейтральних муцинів з падінням їх рівня у 18-20-тижневий період та зниження до  $2,4 \pm 0,10\%$  у 28 тижнів.

4. Пізній фетальний період - з 28 до 38 тижня характеризувався завершеною структурною перебудовою епітеліального диферону з формуванням простого стовпчастого епітелію кардіальної частини шлунка з неповним гістохімічним цитодиференціюванням шлункового епітелію гастроезофагеальної зони, про що свідчили залишки кислих муцинів (сіаломуцинів), які не характерні для зрілого шлункового епітелію.

Подальші дослідження та встановлення закономірностей секреції вуглеводних компонентів епітеліального диферону ГЕЗ людини в пренатальному періоді онтогенезу є перспективними, тому що вони поповнять сучасні дані про його морфологію, що буде слугувати підґрунтям для встановлення та диференціації патологічних змін, які виникають у слизовій оболонці СШП при різних захворюваннях.

### Список посилань

- Авдандилов, Г. Г. (2007). *Основы патологоанатомической практики*. Руководство. (Изд. 3 доп.). М.: Российская медицинская академия последипломного образования.
- Вернигородський, С. В. & Рекурн, Т. О. (2018). Патент України 127437, МПК G01N 1/30. - № у 201803396. Київ: Державне патентне відомство України.
- Воронцов, И. М. & Мазурин, А. В. (2009). *Пропедевтика детских болезней*. (3-е изд. дополнен. и переработ.). СПб.: Фолиант.
- Данилов, Р. К. & Боровая, Т. Г. (2003). *Общая и медицинская эмбриология*. СПб.: СпецЛит.
- Кулініченко, В. Л., Мішалов, В. Д., Чайковський, Ю.Б., Пустовіт, С. В., & Войченко, В. В. (2007). Дотримання етичних та законодавчих норм і вимог при виконанні наукових морфологічних досліджень. *Морфологія*, 1 (4), 134-135.
- Мазурин, А. В. & Воронцов, А. В. (1985). *Пропедевтика детских болезней*. М.: Медицина.
- Мішалов, В. Д., Войченко, В. В., Малишева, Т. А., Діброва, В. А., Кузик, П. В. & Юрченко, В. Т. (2018). Порядок вилучення і використання біологічних об'єктів від померлих осіб, тіла яких підлягають судово-медичній експертизі та патологоанатомічному дослідженню, для наукових цілей. Спецвипуск газети "Освіта України".
- Могильная, Г. М. & Могильная В. Л. (2007). Гастроинтестинальний захисний бар'єр. *Морфологія*, 132 (6), 9-16.
- Могильная, Г. М. Дурлештер, В. М., Могильная, В. Л. & Игнатенко, В. В. (2014). Муцины в оценке биологического потенциала опухоли. *Кубанский научный медицинский институт*, 4 (146), 88-92.
- Садлер, Т. В. (2001). *Медицина эмбриология за Лангманом* (підручник). (переклад з англ. О.Д. Луцика (Ред.)). Львів: Наутилус.
- Сапин, М. Р., Николенко, В. Н., Чава, С. В., Алексеева, Т. Н. & Никитюк, Д. Б. (2013). Вопросы классификации и морфогенез желез стенок полых внутренних органов. *Журнал анатомии и гистопатологии*, 1, 9-17.
- Bisset, W. M. (1991). Development of intestinal motility. *Arch. Dis. Child*, 66 (1), 3-5.
- Chimmalgi, M. (2005). Study of fetal stomach under light microscope. *J. Anat. Soc. Ind.*, 54 (2), 7-12. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/323413996\\_Study\\_of\\_fetal\\_stomach\\_under\\_light\\_microscope\\_Chimmalgi\\_M\\_and\\_Sant\\_S\\_M](https://www.researchgate.net/publication/323413996_Study_of_fetal_stomach_under_light_microscope_Chimmalgi_M_and_Sant_S_M).
- Gunther, C., Neumann, H. & Vieth, M. (2014). Esophageal epithelial resistance. *Dig. Dis.*, 32 (1-2), 6-10. doi: 10.1159/000357001.
- Kaplan, K. J. (2009). Pathology of the Esophagus. An Atlas and Textbook by Kaiyo Takubo. *The American Journal of Surgical Pathology*, 33, (6), 961. doi: 10.1097/PAS.0b013e318194271e.
- Montgomery, R. K., Mulberg, A. E. & Grand, R. J. (1999). Development of the human gastrointestinal tract: twenty years of progress. *Gastroenterology*, 116 (3), 702-731. Retrieved from [https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(99\)70193-9/abstract](https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(99)70193-9/abstract).
- Mukaddes Erefoglu, Elif Taelidere & Asli Zetin (2017). Development of the esophagus and stomach. *Bezmialem Science*, 5 (4), 175-82. DOI: 10.14235/bs.2017.811.
- Namiot, Z., Sarosiek, J., Marcinkiewicz, M., Meade, C. & Edmunds, M. C. & McCallum, R. W. (1994). Declined human esophageal mucin secretion in patients with severe reflux

- esophagiti. *Digestive Diseases and Sciences*, 39 (12), 2523-2529. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02087685>.
19. Rishniw, M., Rodriguez, P., Que, J., Burke, Z. D., Tosh, D., Chen, H. & Chen, X. (2011). Molecular aspects of esophageal development. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1232, 309-315. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06071.x.
  20. Vernygorodskiy, S. (2013). Immunohistochemical evaluation of mucin expression in precancerous tissue of stomach. *Experimental Oncology*, 35 (2), 114-114-117. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23828387>.
- ### References
1. Avtandilov, G. G. (2007). *Osnovy patologoanatomicheskoy praktiki. Rukovodstvo*. (Izd. 3 dop.). M.: Rossiyskaya medicinskaya akademiya poslediplomnogo obrazovaniya.
  2. Vernygorodskiy, S. V. & Rekun, T. O. (2018). Patent Ukrainy 127437, MPK G01N 1/30. - № u 201803396. Kyiv: Derzhavne patentne vidomstvo Ukrainy.
  3. Vorontsov, Y. M. & Mazurny, A. B. (2009). *Propedevtyka detskykh boleznei*. (3-e yzd. dopolnen. y pererabot.). SPb.: Folyant.
  4. Danylov, R. K. & Borovaia, T. H. (2003). *Obshchaia y medytynskaia embriologiya*. SPb.: SpetsLyt.
  5. Kulichenko, V. L., Mishalov, V. D., Chaikovskiy, Yu. B., Pustovit, S. V., & Voichenko, V. V. (2007). Dotrymannia etychnykh ta zakonodavchykh norm i vymoh pry vykonanni naukovykh morfolohichnykh doslidzhen. *Morfolohiia*, 1 (4), 134-135.
  6. Mazurny, A. B. & Vorontsov, A. B. (1985). *Propedevtyka detskykh boleznei*. Medytyna.
  7. Mishalov, V. D., Voichenko, V. V., Malysheva, T. A., Dibrova, V. A., Kuzyk, P. V. & Yurchenko, V. T. (2018). Poriadok vyluchennia i vykorystannia biolohichnykh ob'ektiv vid pomylykh osib, tila yakykh pidlihaiut sudovo-medychnii ekspertyzi ta patolohoanatomichnomu doslidzhenniu, dlia naukovykh tsilei. *Spetsvyypusk hazety "Osvita Ukrainy"*.
  8. Mogilnaya, G. M. & Mogilnaya V. L. (2007). Gastrointestinalny zashitny barter. *Morfologiya*, 132 (6), 9-16.
  9. Mogilnaya, G. M., Dureshter, V. M., Mogilnaya, V. L. & Ignatenko, V. V. (2014). Muciny v otsenke biologicheskogo potentsiala opuholi. *Kubanskij nauchnyy medicinskij institut*, 4 (146), 88-92.
  10. Sadler, T. V. (2001). *Medychna embriologhiia za Lanhmanom (pidruchnyk)*. (pereklad z anh. O.D. Lutsyka (Red.)). Lviv: Nautilus.
  11. Sapin, M. R., Nikolenko, V. N., Chava, S. V., Alekseeva, T. N. & Nikityuk, D. B. (2013). Voprosy klassifikatsii i morfogeneza zhelez stenok polyh vnutrennih organov. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*, 1, 9-17.
  12. Bisset, W. M. (1991). Development of intestinal motility. *Arch. Dis. Child*, 66 (1), 3-5.
  13. Chimmalgi, M. (2005). Study of fetal stomach under light microscope. *J. Anat. Soc. Ind.*, 54 (2), 7-12. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/323413996\\_Study\\_of\\_fetal\\_stomach\\_under\\_light\\_microscope\\_Chimmalgi\\_M\\_and\\_Sant\\_S\\_M](https://www.researchgate.net/publication/323413996_Study_of_fetal_stomach_under_light_microscope_Chimmalgi_M_and_Sant_S_M).
  14. Gunther, C., Neumann, H. & Vieth, M. (2014). Esophageal epithelial resistance. *Dig. Dis.*, 32 (1-2), 6-10. doi: 10.1159/000357001.
  15. Kaplan, K. J. (2009). Pathology of the Esophagus. An Atlas and Textbook by Kaiyo Takubo. *The American Journal of Surgical Pathology*, 33 (6), 961. doi: 10.1097/PAS.0b013e318194271e.
  16. Montgomery, R. K., Mulberg, A. E. & Grand, R. J. (1999). Development of the human gastrointestinal tract: twenty years of progress. *Gastroenterology*, 116 (3), 702-731. Retrieved from [https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(99\)70193-9/abstract](https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(99)70193-9/abstract).
  17. Mukaddes Erefoglu, Elif Taelidere & Asli Setin (2017). Development of the esophagus and stomach. *Bezmialem Science*, 5 (4), 175-82. DOI: 10.14235/bs.2017.811.
  18. Namiot, Z., Sarosiek, J., Marcinkiewicz, M., Meade, C. & Edmunds, M. C. & McCallum, R. W. (1994). Declined human esophageal mucin secretion in patients with severe reflux esophagiti. *Digestive Diseases and Sciences*, 39 (12), 2523-2529. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02087685>.
  19. Rishniw, M., Rodriguez, P., Que, J., Burke, Z. D., Tosh, D., Chen, H. & Chen, X. (2011). Molecular aspects of esophageal development. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1232, 309-315. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06071.x.
  20. Vernygorodskiy, S. (2013). Immunohistochemical evaluation of mucin expression in precancerous tissue of stomach. *Experimental Oncology*, 35 (2), 114-114-117. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23828387>.

**ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО СЛОЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КАРДИАЛЬНОГО ОТДЕЛА ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОГО СОЕДИНЕНИЯ В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ПРЕНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА (ЧАСТЬ 2)**  
**Рекун Т.А., Вернигородский С.В., Киселёва Т.Н., Черепакха Э.Л.**

**Аннотация.** С целью изучения количественного и качественного состава муцинов эпителия гастроэзофагеальной зоны (ГЕЗ) на этапах эмбрионального и фетального периодов онтогенеза нами были проведены морфометрические и гистохимические исследования эпителиального дифферона пищевода-желудочного переода (СШП). Установлено, что на раннем эмбриональном периоде 5-6 недель наблюдается постепенное увеличение секреции нейтральных и кислых муцинов в желудочном отделе эпителиального дифферона СШП, в то время как эмбриофетальный или неофетальный период - с 7 по 9 неделю характеризовался изменением и структурной перестройкой эпителиального дифферона и появлением сульфомуцинов в желудочном эпителии и постепенным снижением продукции кислых муцинов. Для раннего фетального периода (10-28 недели) характерно исчезновение кислых сиаломуцинов в эпителиоцитах ГЕЗ с 10 по 18 неделю и ростом до  $7,65 \pm 0,18\%$  нейтральных муцинов с падением их уровня в 18-20 недельный период и снижением до  $24 \pm 0,10\%$  в 28 недель ( $p < 0,001$ ). Поздний фетальный период - с 28 до 38 недели характеризовался завершённой структурной перестройкой эпителиального дифферона ГЕЗ с формированием простого столбчатого эпителия кардиальной части желудка с неполным гистохимическим цитодифференцированием желудочного эпителия гастроэзофагеальной зоны, о чем свидетельствовали остатки кислых муцинов (сиаломуцинов), которые не характерны для зрелого желудочного эпителия.

**Ключевые слова:** гастроэзофагеальное соединение, кардиальная слизистая оболочка, муцины, гистохимический анализ, морфология.

**HISTOCHEMICAL EVALUATION OF AN EPITHELIAL LAYER OF THE CARDIAC PART GASTROESOPHAGEAL JUNCTION MUCOSA IN THE DIFFERENT PERIODS OF A PRENATAL ONTOGENESIS OF HUMAN (PART 2)**

**Rekun T., Vernygorodskiy S., Kyselova T., Cherepakha O.**

**Annotation.** In order to study the quantitative and qualitative composition of mucins of the gastroesophageal zone (GEZ) epithelium during the stages of embryonic and fetal periods of ontogenesis, we conducted morphometric and histochemical studies of the

*epithelial differon of the gastroesophageal junction (GEJ). The early embryonic period of 5-6 weeks was established to have been observing a gradual increase of neutral and acid mucins secretion in the gastric parts of the GEJ epithelial differon whereas the embryo-fetal or non-fetal period from 7 to 9 weeks was characterized by changing and the structural rearrangement of the epithelial differon and sulfomucins appearance in gastric epithelium and gradual decrease in the production of acid mucins. The early fetal period (10-28 weeks) is characterized by disappearance of acid sialomucins in the enterocytes of the GEZ from 10 to 18 weeks and an increase to  $7.65 \pm 0.18\%$  of neutral mucins with a drop in their level in the 18-20 week period and a decrease to  $24 \pm 0.10\%$  at 28 weeks ( $p < 0.001$ ). The late fetal period, from 28 to 38 weeks, was characterized by a complete structural rearrangement of the epithelial differon of the GEZ with the formation of a simple columnar epithelium of the cardiac part of the stomach with incomplete histochemical cytological differentiation of the GEZ gastric epithelium. It was evidenced by the presence of residual acid mucins (sialomucins) that are not typical for mature gastric epithelium.*

**Keywords:** *gastroesophageal junction, cardiac mucosa, mucins, histochemical analysis, morphology.*

---