



В. В. Бойко, Е. А. Новиков,  
С. А. Савви, И. В. Белозеров

ГУ «Институт общей  
и неотложной хирургии  
НАМН Украины», г. Харьков

© Коллектив авторов

## УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК ПИЩЕВОДА У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ С ФОРМИРОВАНИЕМ ПИЩЕВОДНЫХ АНАСТОМОЗОВ

**Резюме.** Обследованы 254 больных с верифицированными раками желудка и пищевода в возрасте от 28 до 86 лет, которые в период с 1999 по 2010 г. перенесли операции с формированием пищеводных анастомозов. Пищеводно-желудочные сформированы у 87 пациентов, пищеводно-кишечные — у 167. В основной группе, которую составили 124 больных, для формирования пищеводных анастомозов применяли модифицированные авторами антирефлюксные методики. В группе сравнения из 130 больных применяли стандартные, принятые в клинике ГУ «ИОНХ НАМНУ» методики. Для исследования состояния субмикроскопической организации клеток пищевода в послеоперационном периоде использовали субоперационный и эндоскопический материалы.

**Ключевые слова:** пищеводные анастомозы, антирефлюксные методики, ультраструктура тканей пищевода.

### Введение

Технология оперативных вмешательств на пищеводе и желудке является одним из самых трудных направлений в хирургии. Это связано с большим количеством осложнений, высокой послеоперационной летальностью и низким качеством жизни оперированных больных. В профилактике осложнений и улучшении качества жизни пациентов важную роль играет методика формирования пищеводных анастомозов. Существуют различные способы восстановления непрерывности желудочно-кишечного тракта после гастрэктомии, проксимальной резекции желудка, резекции пищевода [1—3, 6]. Их цель — не только ликвидация заболевания, но и максимальное замещение функции удаленного органа [4]. Полученные результаты не всегда бывают удовлетворительными, поэтому продолжается поиск методики, которая поможет избежать или уменьшить число осложнений раннего и отдаленного послеоперационного периодов.

Актуальной остается проблема профилактики возникновения рубцовых стенозов анастомозов [4]. Их развитие зависит главным образом от методов формирования соустья с пищеводом, техники наложения швов и характера заживления анастомоза [5]. Погрешности хирургической техники, приводящие к механическому сужению анастомоза, ухудшают условия заживления анастомозов и ведут к грубому рубцеванию [4, 6]. В случае длительно существующего воспалительного процесса в зоне анастомоза процесс заживления может идти по пути образования грубой рубцовой ткани, когда грануляционная ткань имеет сложное слоистое строение, отличается обилием толстостенных сосудов и большим количеством различных клеток в строме, среди которых преоб-

ладают малодифференцированные и юные фибробласты. По морфологическим признакам установлено, что при сохранении проявлений воспаления и расстройства микроциркуляции во вновь образованном эпителии возникают повреждения. Как следствие — повреждение грануляционной ткани сочетается с увеличением ее толщины, формированием грубых пучков коллагена уже к концу второй недели заболевания, что в дальнейшем приводит к формированию богатого коллагеном рубца с участками гиалиноза, то есть усиленному образованию рубцовой ткани.

### Материалы и методы

Материалом послужили кусочки ткани слизистой оболочки пищевода, полученные во время оперативного лечения, а также биоптаты, взятые при эндоскопическом исследовании в послеоперационном периоде у больных раками желудка и пищевода, которым выполнены операции с формированием пищеводных анастомозов. Забор материала производили из области выше наложения швов, кусочки ткани сразу же для предварительной фиксации помещали в 2,5%-й забуференный раствор глутарового альдегида на 5—7 часов при температуре 4 °С. Затем после промывки в буферном растворе ткань переносили для окончательной фиксации в 1%-й забуференный раствор четырехоксида осмия на 3—4 часа. Обезживание проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Ткань заключали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков осуществляли в термостате при температуре 60 °С в течение двух суток.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-3 изготавливали ультратонкие срезы, ко-

торые монтировали на электролитические сеточки и после контрастирования цитратом свинца изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100 БР при ускоряющем напряжении 75 кВ.

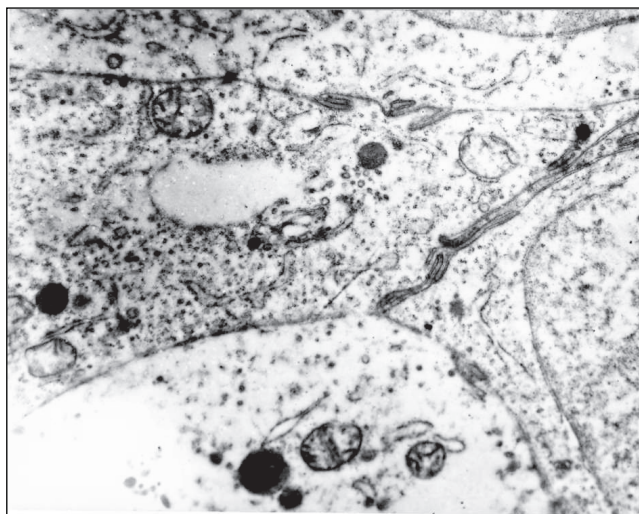
**Результаты исследования и их обсуждение**

*Ультраструктура клеток слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по традиционным методикам*

Электронно-микроскопическое исследование ультраструктурной организации эпителиальных клеток базального слоя пищевода выявило дистрофические и деструктивные изменения их оргanelл.

Ядерная мембрана базальных эпителиоцитов выглядела разрыхленной. Матрикс ядра обладал низкой электронной плотностью, наблюдались неглубокие инвагинации ядерной мембраны. Большая часть ядерного хроматина находилась в конденсированном состоянии, его глыбки концентрировались вдоль ядерной мембраны. Перинуклеарные пространства были сильно и неравномерно расширены. В перинуклеарной области цитоплазмы локализовались сильно набухшие митохондрии, с просветленным матриксом. Кристы митохондрий были дезорганизованы, а зачастую имели очаги лизиса (рис. 1).

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума были значительно расширены и представляли собой вакуоли различной величины и формы, которые были заполнены электронно-прозрачным веществом. На мембранах гранулярного эндоплазматического ретикулума выявлялись единичные рибосомы. Свободные рибосомы и полисомы в цитоплазме практически отсутствовали. У значительного количества базальных эпителиоцитов наблюдалась фрагментация внутриклеточных мембран (рис. 2).



**Рис. 1.** Ультраструктура базальных эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по традиционным методикам. Очаги деструкции митохондрий. x 30 000. Контрастировано цитратом свинца

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован, его беспорядочно ориентированные гладкие мембраны окружены единичными крупными, электронно-прозрачными вакуолями. Очень часто в области локализации пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи выявлялись вторичные лизосомы и мелкие включения липидов.

Тонофибриллы в цитоплазме базальных эпителиоцитов хаотически ориентированы. Цитоплазматическая мембрана была значительно разрыхлена, утолщена и обладала высокой электронной плотностью. Обнаруживались множественные очаги ее лизиса.

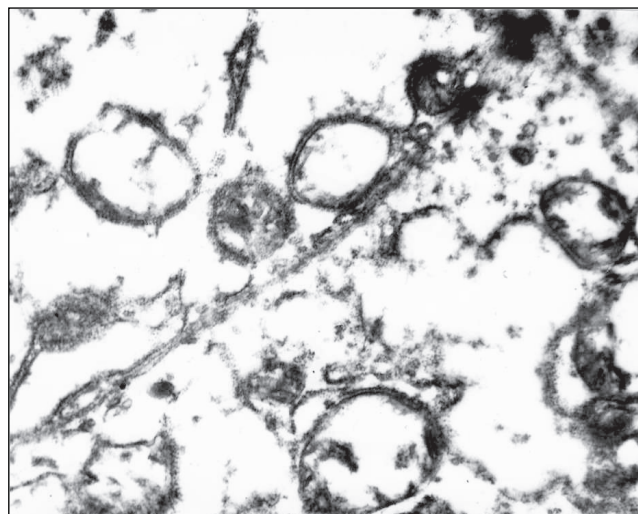
В цитоплазме эпителиальных клеток шиповатых эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода содержались электронно-плотные гранулы гликогена.

В периферических отделах эпителиоцитов шиповатого слоя располагались параллельно ориентированные тонофибриллы. В отдельных клетках наблюдалась беспорядочная ориентация тонофибрилл.

В матриксе ядер шиповатых клеток содержался в конденсированной форме хроматин, глыбки которого образовывали плотное осмиофильное кольцо по контуру ядерной мембраны. Перинуклеарные пространства были неравномерно расширены. Ядерная мембрана разрыхлена и содержала многочисленные очаги лизиса (рис. 3).

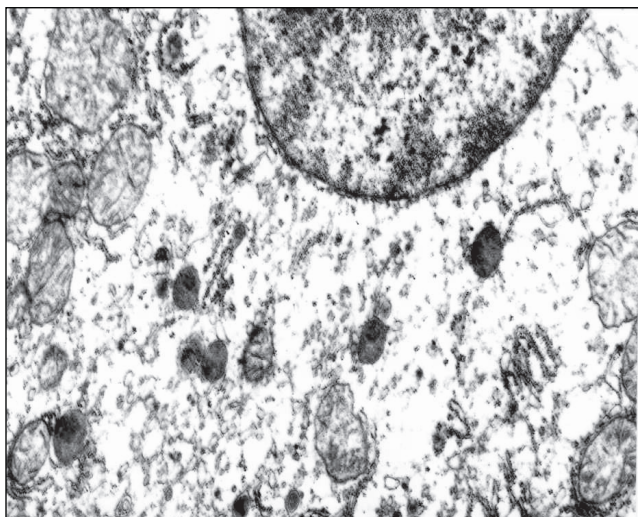
Небольшое количество митохондрий обладали электронно-прозрачным матриксом, содержали дезорганизованные и укороченные кристы. Наружные мембраны и кристы митохондрий были очагово лизированы.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума расширены, на мембранах присутствовали единичные рибосомы. В отдельных ши-

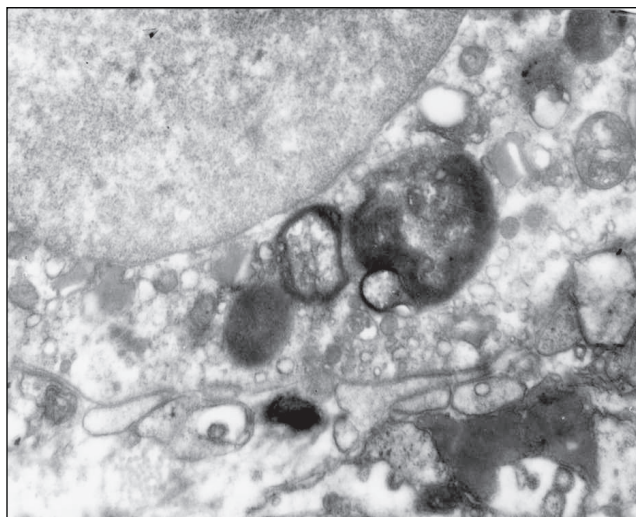


**Рис. 2.** Ультраструктура базальных эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по традиционным методикам. Фрагментация мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума. x 34 000. Контрастировано цитратом свинца

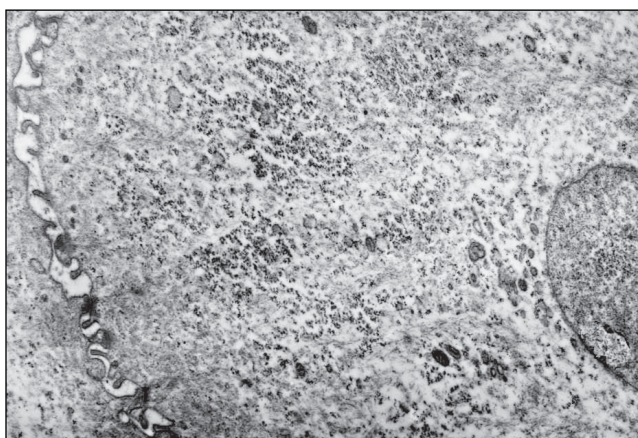




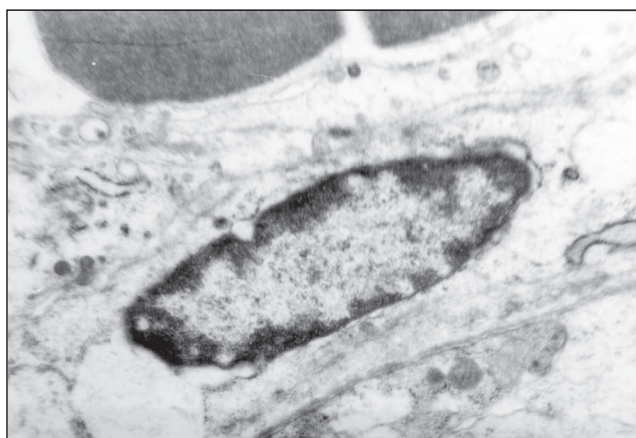
**Рис. 3.** Ультраструктура шиповатых эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по традиционным методикам. Очаговый лизис внутриклеточных мембранных структур.  $\times 36\ 000$ . Контрастировано цитратом свинца



**Рис. 4.** Ультраструктура шиповатых эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по традиционным методикам. Вторичные лизосомы и включения липидов в цитоплазме.  $\times 34\ 000$ . Контрастировано цитратом свинца



**Рис. 5.** Ультраструктура эпителиоцитов поверхностного слоя слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по традиционным методикам. Очаговый лизис органелл.  $\times 30\ 000$ . Контрастировано цитратом свинца



**Рис. 6.** Ультраструктура кровеносных капилляров слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по традиционным методикам. Лизис цитоплазматической мембраны, инвагинации ядерной мембраны, просветление цитоплазмы эндотелиоцитов.  $\times 48\ 000$ . Контрастировано цитратом свинца

поватых эпителиоцитах можно было наблюдать фрагментацию мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован и представлен единичными, беспорядочно ориентированными гладкими мембранами, окруженными крупными электронно-прозрачными вакуолями. Рядом с пластинчатым цитоплазматическим комплексом Гольджи располагались включения липидов, первичные и вторичные лизосомы (рис. 4).

Цитоплазматическая мембрана была сильно разрыхлена, имела очаги деструкции и теряла структуру, присущую элементарной мембране. Межклеточные пространства значительно расширены и содержали небольшое количество цитоплазматических отростков.

Эпителиоциты поверхностного слоя имели уплощенную форму и содержали небольшое ко-

личество органелл, гранул гликогена и кератиносомы. Тонофибриллы фрагментированы и хаотически ориентированы. Наблюдались очаговый лизис органелл, уменьшение размеров цитоплазматических выростов и снижение числа десмосом (рис. 5).

Эндотелиоциты кровеносных капилляров имели ядра неправильной формы. Ядерная мембрана образовывала многочисленные мелкие и глубокие инвагинации. Матрикс ядра обладал умеренной электронной плотностью. Средняя часть матрикса ядра была электронно-прозрачной. В ней находились единичные глыбки конденсированного и деконденсированного хроматина. Гиалоплазма эндотелиальных клеток кровеносных капилляров отечна, имела низкую электронную плотность, содержала небольшое количество органелл, рибосом и полисом. Иногда обнаруживались вторичные лизосомы и включения липидов (рис. 6).

Митохондрии эндотелиоцитов мелких размеров имели округлую форму и электронно-прозрачный матрикс. Они были сильно набухшие, кристы их подвержены очаговому лизису и фрагментации.

Гранулярный эндоплазматический ретикулум слабо развит и вакуолизирован. Обнаруживаются эндотелиоциты, содержащие в цитоплазме фрагментированные мембраны гранулярной эндоплазматической сети (рис. 7).

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован. Его гладкие мембраны дезорганизованы. Цитоплазма отростков эндотелиальных клеток содержала небольшое количество микропиноцитозных пузырьков. Цитоплазматическая мембрана эндотелиоцитов, обращенная к току крови, имеет многочисленные участки лизиса.

В просвете капилляра обнаруживался детрит, состоящий из дегенеративно измененных мембранных структур, органелл и аморфной осмиофильной субстанции.

Таким образом, в группе больных, оперированных традиционными методами, в клетках слизистой оболочки пищевода при электронно-микроскопическом исследовании состояния субмикроскопической организации ультраструктур клеток слизистой оболочки пищевода сохраняются дистрофические изменения органелл с элементами развития деструктивных процессов. Наиболее выражены эти изменения в клетках базального слоя и эндотелиоцитах кровеносных капилляров.

*Ультраструктура клеток пищевода больных после проведения оперативного лечения по модифицированным методикам*

Субмикроскопическая архитектура клеток слизистой оболочки пищевода этой группы больных свидетельствовала о сохранении дистрофического процесса, однако в препаратах присут-

ствовали клетки с элементами активации внутриклеточных репаративных процессов.

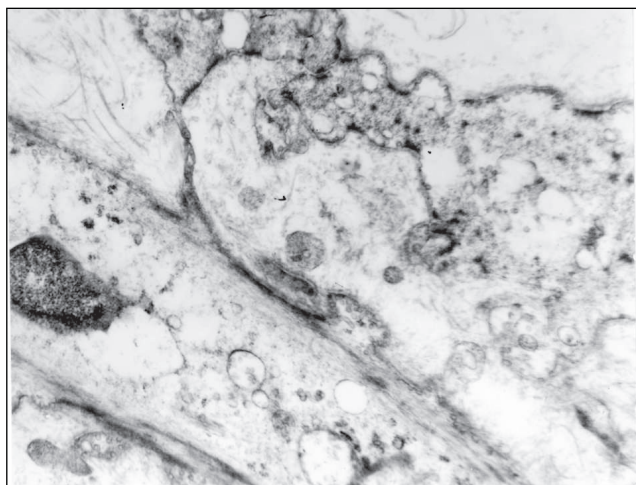
Ядра базальных эпителиоцитов сохраняли типичную форму и локализацию в цитоплазме. В матриксе ядра обнаруживались осмиофильные ядрышки. Ядерный хроматин находился, в основном, в деконденсированном состоянии, и его гранулы были диффузно рассеяны по площади среза. Ядерная мембрана приобретала четкую контурированность, но имела участки разрыхления. Перинуклеарные пространства были умеренно расширены. Характерным является отсутствие очагов лизиса ядерной мембраны.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума умеренно расширены. Содержимое везикул обладает средней электронной плотностью и нежноволокнистой структурой. На мембранах гранулярной эндоплазматической сети выявлялось достаточно большое количество рибосом. Свободных рибосом и полисом в цитоплазме много. В отдельных базальных эпителиоцитах наблюдалась гиперплазия мембран гранулярной эндоплазматической сети.

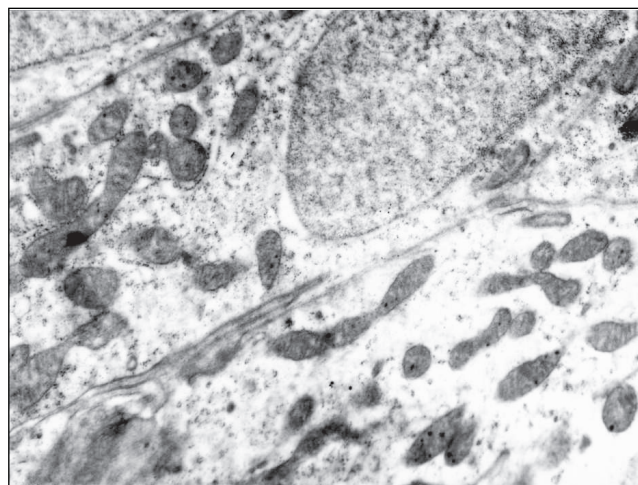
Митохондрии оставались умеренно набухшими. Их матрикс митохондрий приобретал мелкозернистую структуру и обладал средней электронной плотностью. Сохранялась дезорганизация крист. Деструкций наружных мембран митохондрий и крист не выявлено. В отдельных базальных эпителиоцитах встречаются делящиеся формы митохондрий (рис. 8).

Стопки гладких, параллельно ориентированных мембран пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи были окружены большим количеством мелких везикул. Вторичные лизосомы и включения липидов в цитоплазме практически отсутствовали.

Ядерная мембрана шиповатых эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода имели умеренно



**Рис. 7.** Ультраструктура эндотелиоцитов кровеносных капилляров слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по традиционным методикам. Фрагментация мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума.  $\times 51\,000$ . Контрастировано цитратом свинца



**Рис. 8.** Ультраструктура базальных эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по модифицированным методикам. Делящиеся митохондрии.  $\times 36\,000$ . Контрастировано цитратом свинца





разрыхленную структуру. Очаги деструкции отсутствовали. Матрикс ядра имел мелкогранулярную структуру, а ядерный хроматин находился в деконденсированном состоянии, и его гранулы были диффузно распределены по площади среза ядра.

В цитоплазме находились параллельно ориентированные тонофибриллы и множество диффузно рассеянных гранул гликогена. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи умеренно гипертрофирован. Стопки параллельно ориентированных мембран окружены большим количеством мелких везикул.

Митохондрии шиповатых эпителиоцитов содержали мелкозернистый, умеренно просветленный матрикс и неизменные кристы (рис. 9).

Наблюдалось увеличение числа митохондрий в сравнении с предыдущей группой больных.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума были умеренно расширены. На мембранах выявлялись многочисленные рибосомы. В отдельных шиповатых эпителиоцитах отмечалась гиперплазия мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума. Свободных полисом и рибосом в цитоплазме много.

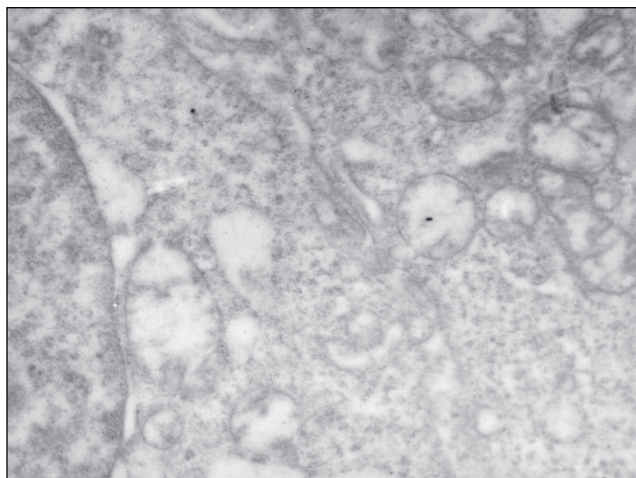
В цитоплазме поверхностных эпителиоцитов присутствовало большое количество гранул гликогена, кератиносомы и параллельно ориентированные тонофибриллы. Наблюдалось утолщение и разрыхление как цитоплазматической мембраны, так и внутриклеточных мембран (рис. 10).

В этой группе больных присутствовали умеренно выраженные дистрофические изменения ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров.

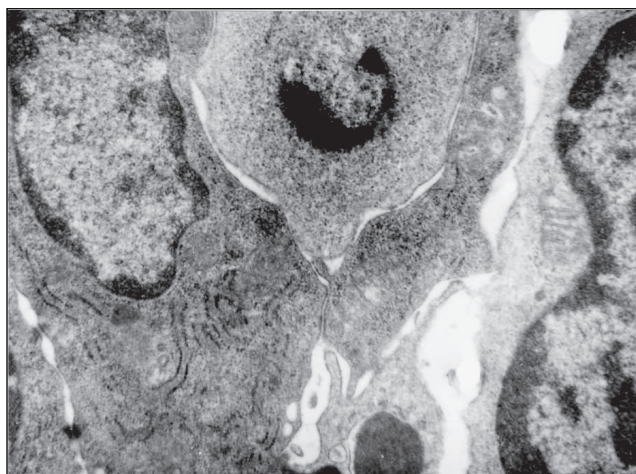
Гранулы деконденсированного ядерного хроматина в эндотелиоцитах равномерно рассеяны по матриксу. Перинуклеарные пространства на срезе были постоянной ширины.

Мелкие митохондрии содержали электронно-прозрачный матрикс и неизменные кристы. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума уплощены, на поверхности мембран присутствовало большое количество рибосом. Свободно лежащие в цитоплазме рибосомы и полисомы многочисленны. Цитоплазма эндотелиальных клеток кровеносных капилляров содержала большое количество микропиноцитозных пузырьков (рис. 11).

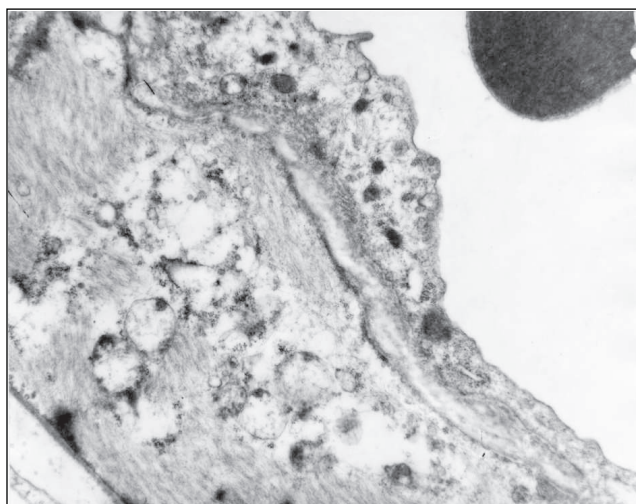
Таким образом, субмикроскопические изменения эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по модифицированной методике, свидетельствуют о развитии умеренной активации внутриклеточного метаболизма, что структурно подтверждается гиперплазией мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, увеличением как связанных с его мембранами рибосом, так и свободно лежащих в цитоплазме полисом и рибосом. Нормализация субмикроскопической архитектоники эндо-



**Рис. 9.** Ультраструктура шиповатых эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по модифицированной методике. Митохондрии с просветленным матриксом.  $\times 34\ 000$ . Контрастировано цитратом свинца



**Рис. 10.** Ультраструктура поверхностных эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода больных, оперированных по модифицированной методике. Уплотнение цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума.  $\times 32\ 000$ . Контрастировано цитратом свинца



**Рис. 11.** Ультраструктура эндотелиоцитов кровеносных капилляров пищевода больных, оперированных по модифицированной методике. Микропиноцитозные пузырьки в цитоплазме отростков.  $\times 42\ 000$ . Контрастировано цитратом свинца



телиоцитов кровеносных капилляров, появление в цитоплазме их отростков большого количества микропиноцитозных пузырьков подтверждают активность трансцеллюлярного транспорта веществ и электролитов через стенку сосудов.

### Выводы

1 Проведенное электронно-микроскопическое исследование клеток пищевода больных, опери-

рованных традиционными методами, показало наличие дистрофических, а иногда и деструктивных процессов, протекающих на субмикроскопическом уровне.

2. После проведения оперативного лечения модифицированным нами методом ультраструктурная архитектура клеток пищевода восстанавливается, а описанные изменения лежат в пределах физиологической компенсации.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Галлингер Ю.И.* Эндоскопическое лечение рубцовых стенозов пищевода / Ю.И. Галлингер, Э.А. Годжелло // Эндоскопическая хирургия. — 2000. — №5. — С. 33—39.
2. *Жерлов Г.К.* Арефлюксные анастомозы в хирургии рака желудка / Г.К. Жерлов, Д.В. Зыков, А.И. Баранов. — Томск, 1996. — 172 с.
3. *Муравьев В.Ю.* Эндоскопическая лазерная коррекция рубцовых стриктур анастомозов / В.Ю. Муравьев, Д.Ш. Хасанова // Эндоскопическая хирургия. — 1999. — №6. — С. 35.
4. *Сотников В.Н.* Вибрационные и эндохирургические способы лечения стенозов пищевода-кишечных

- и пищеводно-желудочных анастомозов / В.Н. Сотников, А.В. Сотников // Эндоскопическая хирургия. — 2000. — №4. — С. 10 — 16.
5. *Эндоскопическая хирургия опухолевых и послеоперационных стенозов у больных раком пищевода и желудка / Ю.П. Кувшинов, Б.К. Поддубный, О.Н. Ефимов [и др.] // Современная онкология. — 2000. — Т. 2, №3. — С. 72—78.*
6. *Mechanical reconstruction after total gastrectomy. Analysis of results / L. Santini, G. Conzo, C. Caraco [et al.] // Minerva Chir. — 1999. — №54(6). — P. 389—394.*

### УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ КЛІТИН СТРАВОХОДУ У ХВОРИХ ПІСЛЯ ОПЕРАТИВНИХ ВТРУЧАНЬ ІЗ ФОРМУВАННЯМ СТРАВОХІДНИХ АНАСТОМОЗІВ

*В. В. Бойко, Є. А. Новіков,  
С. О. Савві, І. В. Белозьоров*

**Резюме.** Обстежено 254 хворих із верифікованими раками шлунка та стравоходу у віці від 28 до 86 років, які перенесли у період з 1999 до 2010 р. операції з формуванням стравохідних анастомозів. Стравохідно-шлункові анастомози сформовано у 87 пацієнтів, стравохідно-кишкові — у 167. В основній групі, що становила 124 хворих, для формування стравохідних анастомозів застосували модифіковані авторами антирефлюксні методики. У групі порівняння зі 130 хворих використовували стандартні, прийняті в клініці ДУ «ІЗНХ НАМНУ» методики. Для дослідження стану субмікроскопічної організації клітин стравоходу в післяопераційному періоді використовували субопераційний та ендоскопічний матеріали.

**Ключові слова:** *стравохідні анастомози, антирефлюксні методики, ультраструктура тканин стравоходу.*

### ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN CELLS OF THE ESOPHAGUS IN PATIENTS AFTER SURGERY WITH THE FORMATION OF ESOPHAGEAL ANASTOMOSES

*V. V. Boyko, Ye. A. Novikov,  
S. A. Savvi, I. V. Belozerov*

**Summary.** 254 patients with verified esophageal and stomach cancers, aged between 28 and 86 years, who underwent surgery with formation of esophageal anastomoses from the year 1999 to 2010 were investigated. Esophagealgastric anastomosis were performed in 87 patients, esophageal-intestinal — in 167. The main group consisted of 124 postsurgical patients with esophageal anastomoses. For those patients, antireflux methods were used which were modified by us. The comparative group consisted of 130 patients, who underwent standard methods of surgery adopted in our clinic. In order to study the state of submicroscopic organization of esophageal cells, intraoperative and endoscopic material in postsurgical period were used.

**Key words:** *esophageal anastomoses, antireflux methods, ultrastructure of the esophageal tissues.*