

СТРУКТУРНО-ВРЕМЕННАЯ СХЕМА ПРЕОБРАЗОВАНИЙ  
КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ В МОЧЕВЫХ РЕЗЕРВУАРАХДеев Р.В.<sup>1,2</sup>, Ахмедов Т.А.<sup>3</sup>, Бозо И.Я.<sup>4</sup>, Фадеев В.А.<sup>5</sup>

УДК: 616.62:611.341/351.018.7

<sup>1</sup>ОАО «Институт стволовых клеток человека»,<sup>2</sup>ФГУ «Российский Научно-исследовательский институт  
травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий»,  
г. Санкт-Петербург<sup>3</sup>ГУЗ «ГКПБ №2», г. Санкт-Петербург<sup>4</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,  
г. Санкт-Петербург<sup>5</sup>ФГУ ВПО «Санкт-Петербургская медицинская академия  
им. И.И. Мечникова», г. Санкт-Петербург

## Резюме

Представлены результаты исследования морфо-функционального состояния слизистой оболочки мочевого резервуара, изготовленного из подвздошной кишки. В исследование включены биопсии от 38 пациентов обоего пола в сроки от 4-х мес. до 29 лет после выполнения реконструктивной операции. Применены гистологические, гистохимические, иммуногистохимические, морфометрические, электронномикроскопические методы исследований. Установлено, что в слизистой оболочке происходят выраженные гетерохронные структурно-функциональные изменения на уровне структурно-функциональных единиц, клеточно-дифференциальном уровне, ультраструктурной организации энтероцитов и в их синтетической активности. Они реализуются в трехфазном процессе: фазе «экстренной адаптации», занимающей до 2-х лет; фазе «плато» — до 5–7 лет; фазе «срыва» — после 7 лет и оканчивается дисплазией кишечного эпителия.

**Ключевые слова:** мочевой резервуар, кишечный эпителий, дисплазия, реактивность.

STRUCTURAL AND TEMPORAL PATTERN CHANGE  
INTESTINAL EPITHELIUM IN THE ILEAL NEOBLADDER

Deev R.V., Ahmedov T.A., Bozo I.J., Fadeev V.A.

The study presents the results of morpho-functional state of the urinary reservoirs mucosa made from ileum. The study included biopsies from 38 patients of both sexes in terms of 4-months to 29 years after the reconstructive surgery. Successfully applied histological, histochemical, immunohistochemical, morphometric, electron microscopic studies are performed. Found that in the mucosa are expressed heterochronous structural and functional changes at the level of structural and functional units of cell-type level, the ultrastructural organization of enterocytes and in their synthetic activity. They are implemented in a three-phase process: the phase of «emergency adaptation», takes up to 2 years; phase «plateau» - up to 5–7 years; phase of «collapse» — after 7 years and ends with dysplasia of the intestinal epithelium.

**Keywords:** neobladder, intestinal epithelium, dysplasia, reactivity.

В последнее время операции по реконструкции (воссозданию) мочевого пузыря после его удаления становятся все более широко распространенными. Вместе с тем, фундаментальный гистологический анализ морфо-функциональных преобразований, происходящих в функционально-ведущей ткани сформированного биопротеза — кишечном эпителии, крайне несовершенен. Клинические специалисты по понятным причинам пристально исследуют клинические, функциональные изменения, происходящие как с мочевыми резервуарами, так и с пациентом в целом. Однако, совершенно очевидно, что они являются следствием реактивных компенсаторных преобразований в слизистой оболочке, контактирующей с несвойственным для себя микроокружением.

На биопсийном клиническом материале в сроки от 15 до 40 мес. прошедших после операции показаны двухфазные преобразования в эпителии: сначала регистрировалась мозаичная утрата микроворсинок энтероцитами, а позднее — появление признаков переходноклеточной метаплазии [7, 8]. Кроме того, ряд авторов, базируясь на краткосрочных морфологических наблюдениях, констатируют трехлетний срок полной

адаптации кишечного эпителия к новым условиям существования [3].

Вместе с тем, подобные исследования остаются единичными, как правило, лишены теоретического обоснования и направлены на решение конкретных клинических задач [4].

Ранее нами показано, что реактивные компенсаторно-приспособительные процессы в слизистой оболочке мочевого резервуара (МР) и прежде всего — в эпителии, развиваются на основе известных классических закономерностей [1]. Так, считается, что любой процесс реактивных преобразований должен включать в себя три фазы — «экстренную мобилизацию» морфо-функциональных резервов под воздействием резкого изменения воздействующих факторов; фазу «плато» — относительно устойчивого функционирования морфологической системы на новом уровне; и при длительном воздействии экстремального фактора — фазу «срыва» или декомпенсации структурно-функциональной организации [5]. Очевидно, продолжительность этих фаз зависит не только от характеристик воздействующего фактора, но и от гистогенетических свойств ткани, на которые они

действуют. Следовательно, от этого же в конечном итоге зависят диагностическая и лечебная тактика при послеоперационном ведении таких пациентов.

Кроме того, известно, что подобный адаптационный процесс захватывает все уровни структурной организации материи, попадающих в поле зрения гистолога – субклеточный, клеточный, клеточно-дифференный (тканевый), уровень структурно-функциональных единиц [1, 5]. Преобразования кишечного эпителия в составе МР в полной мере не рассмотрены с позиции описанных общепатологических закономерностей.

**Цель исследования** – на основании данных современных морфологических методов исследования охарактеризовать структурно-функциональные преобразования кишечного эпителия в мочевых резервуарах у пациентов, перенесших илиоцистопластику в сроки от 3 мес. до 29 лет.

## Материал и методы

Материал исследования – щипковые биоптаты слизистой оболочки мочевого резервуара, полученные при контрольных и диагностических цистоскопиях от 38 пациентов, находившихся на стационарном лечении в отделении урологии СПб ГУЗ «Городская многопрофильная больница №2» с 1980 по 2009 годы. При этом для изучения оказался доступным материал, полученный от разных пациентов в сроки от 4-х мес. до 29 лет после выполнения реконструктивной операции. Биоптаты забирали из нескольких участков слизистой оболочки, как правило, с передней, левой и правой стенок, а также из шейки МР.

Световая микроскопия. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. Гистологическую обработку проводили по стандартной схеме, окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори. Всего обработано 73 блока, из которых изготовлено и изучено 405 препаратов. При изучении микропрепаратов выполнялся гистологический и гистоморфометрический анализ при помощи цифровой видеокамеры, совмещенной с микроскопом, с использованием пакета программ «VideoTest» (Россия). Для получения статистически достоверных результатов проводили анализ не менее 100 объектов в нескольких полях зрения. Проводили морфометрическое исследование с вычислением следующих параметров: средней высоты ворсинок (мкм); средней глубины крипт (мкм); средней высоты эпителиоцитов (мкм); долю клеток Панета по отношению ко всем эпителиоцитам крипты (%).

Гистохимическое исследование. Для выявления функциональной активности клеток дифферона каемчатых энтероцитов и дифферона бокаловидных мукоцитов выполнено гистохимическое исследование с окрашиванием щелочной фосфатазы (ЩФ). Для определения в щеточной каемке каемчатых энтероцитов применен коммерчески доступный реактив BCIP-NBT (5-атом-4-хлор-3-индоил-фосфат и нитросиний тетразолий, Sigma, США). Результаты оценивали полуколичественно (в баллах) (табл. 1).

Электронномикроскопическое исследование. После фиксации материала 2,5% раствором глутарового альдегида и дофиксации 1% раствором тетраоксида осмия осуществляли обезвоживание и обезжиривание клеток по стандартной схеме. Полутонкие и ультратонкие срезы изготавливали по стандартной схеме. Микрокопирование осуществляли в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100C (Япония).

Иммуногистохимическое исследование. Для выполнения иммуногистохимического (ИГХ) исследования использовали срезы с парафиновых блоков, использованных в работе ранее. Обработку срезов выполняли согласно общим правилам для ИГХ-исследования.

Для оценки пролиферативной активности кишечного эпителия в условиях реактивных изменений использовали антитела к белку Ki-67 (клон MIB-1). Критериями положительного окрашивания считали отчетливое ядерное окрашивание. Регистрировали: долю пролиферирующих (Ki-67+) эпителиоцитов в крипте, на ворсинке и среднее значение (%). При этом анализировали не менее 1000 эпителиоцитов в каждом препарате.

Для обнаружения энтероэндокриноцитов (хромогранин А-, ХГА-положительные клетки) использовали антитела против хромогранина А – Anti-Human Chromogranin A (клон DAK-A3). Критерием положительной окраски считали диффузное иногда зернистое цитоплазматическое окрашивание отростчатых, разбросанных в эпителиальном пласте клеток. С целью определения доли энтероэндокриноцитов (%), вычисляли соотношение окрашенных клеток не менее чем к 300 эпителиоцитам в каждом препарате.

Для оценки структурной полноценности микроворсинок каемчатых энтероцитов использованы антитела к белку виллину – (клон CWWB1).

С целью определения сохранности комплексности однослойного эпителиального пласта при длительном функционировании в нефизиологических условиях проводили ИГХ-реакции с выявлением Е-кадгерина и коллагена IV типа. В работе использованы антитела против Е-кадгерина (клон NCH-38). Критерием положительной реакции считали окрашивание базолатеральных участков плазмолеммы без выраженного отложения диаминобензидина в цитоплазме клеток. Коллаген IV типа выявляли с целью прослеживания целостности базальной мембраны кишечного эпителия, как одного из сдерживающих факторов потенциально возможного распространения эпителиальных клеток в случае их трансформации. Применены антитела Anti-Human Collagen IV (клон CIV 22). Критерием положительной окраски считали субэпителиальное линейное окрашивание.

Экспрессию виллина, Е-кадгерина оценивали полуколичественно (табл. 1). Результаты реакции с антителами к коллагену IV типа, цитокератинам описывали, обращая внимание на равномерность и интенсивность окрашивания.

Табл. 1. Шкала полуколичественной оценки гистохимических и иммуногистохимических данных

| Баллы | Щелочная фосфатаза                                                               | Виллин                                                                                     | Е-кадгерин                                                                                       |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3     | Фермент на всем протяжении апикальной поверхности эпителиоцитов ворсинок и крипт | Продукт ИГХ-реакции на всем протяжении апикальной поверхности энтероцитов ворсинок и крипт | Продукт ИГХ-реакции на всем протяжении базолатеральных поверхностях энтероцитов крипт и ворсинок |
| 2     | Фермент на апикальной поверхности энтероцитов ворсинок                           | Продукт ИГХ-реакции на апикальной поверхности энтероцитов ворсинок                         | Продукт ИГХ-реакции на всем протяжении базолатеральных поверхностях энтероцитов ворсинок         |
| 1     | Фермент в щеточной каемке большей части энтероцитов ворсинок                     | Продукт ИГХ-реакции в щеточной каемке большей части энтероцитов ворсинок                   | Продукт ИГХ-реакции на всем протяжении базолатеральных поверхностях энтероцитов ворсинок         |
| 0     | Фрагментарное окрашивание или его отсутствие                                     | Фрагментарная положительная окраска                                                        | Положительная реакция для дискретных групп энтероцитов                                           |

После инкубации с первичными антителами проводили визуализацию продукта ИГХ-реакций при помощи системы EnVision (DakoCytomation, Дания), согласно протоколу фирмы-изготовителя с окрашиванием иммунных комплексов диаминобензидином.

Статистическая обработка данных. При анализе полученных данных описывали изучаемые показатели (экспрессия маркеров клеточного цикла, доля бокаловидных клеток, клеток Панета, доля хромогранин А-положительных энтероцитов после операции, длины крипт и ворсинок, средняя высота эпителиоцитов) по группам (ворсинка (основание, вершина), крипта) с учетом сроков получения биоптатов. С помощью программы Statistica 5.0 (StatSoft Inc., США) определяли средние значения показателей, соответствие вида распределения признаков закону нормального распределения. Поскольку нормальное распределение признаков выявлено не было и с учетом необходимости оценки показателей до и после операции, в дальнейшем использовали непараметрические методы сравнения связанных групп по количественному признаку. Статистическую значимость различий между каждым показателем до и после операции на разных сроках оценивали с помощью критерия Вилкоксона при  $P < 0,05$ , интерпретацию результатов оформляли с приведением точных значений  $p$ .

Для сравнения полученные результаты соотносили с данными, выявленными при исследовании биоптатов нативной подвздошной кишки.

## Результаты и обсуждение.

Установлено, что уже в первые месяцы функционирования кишечного эпителия в составе МР в процесс реактивных преобразований включены все уровни структурной организации кишечного эпителия. В большей степени это касается структурно-функциональных единиц – систем «крипта-ворсинка» и клеточно-дифферонного состава эпителиальной выстилки. Уже в первые полгода экспозиции в среде МР на уровне «крипта-ворсинка» регистрируются реактивные структурные сдвиги по сравнению с контролем. Так, через 3–4 мес. отмечается разноразмерность кишечных ворсинок, их длина колеблется даже в пределах одного биоптата от 150 до 240 мкм (в нормальной подвздошной кишке показатель равен  $352,5 \pm 15,9$  мкм) (табл. 2). Ворсинки, находящиеся рядом, отличаются друг от друга длиной, шири-

ной, формой, поэтому средние величины показателя средней высоты ворсинки, имеют весьма условный характер и статистически не значимы. Большая часть ворсинок нестандартной формы – с несколькими перетяжками и локальными истончениями. Строение крипт оставалось весьма постоянным и существенно не отличалось от нормальной слизистой оболочки, их глубина колебалась от 145,6–233,9 мкм при величине в нативной кишке –  $190 \pm 9$  мкм. Данные изменения сохранялись в течение 6–12 мес. В дальнейшем нарастал полиморфизм ворсинок. Они располагались на неравных расстояниях друг от друга, были разными по высоте и форме, складки между ними характеризовались сложной формой. Сами ворсинки имели неправильную отросчатую форму. В некоторых участках ворсинки отсутствовали на значительном протяжении. Крипты имели извитой ход, за счет чего в срезе имелось большое количество поперечно и тангенсально срезанных крипт, полиморфизм проявлялся и в различном их диаметре.

В срок 17 мес. констатировали наличие обширных безворсинчатых полей, крипты были не глубоки и достигали 160–210 мкм. При этом они были разобщены между собой несколько фиброзированной и инфильтрированной лимфоцитами и эозинофилами стромой. Редкие сохранившиеся ворсинки были атипичной формы – с концевыми булавовидными расширениями (рис. 1).

На клеточно-дифферонном уровне отмечается выраженная гиперплазия продуцирующих слизь клеток, дифферон бокаловидных клеток становится функционально ведущим. В препаратах слизистой оболочки подвздошной кишки, находившейся в физиологических условиях доля бокаловидных клеток от всех эпителиоцитов не превышает 13%, при этом в крипте они обнаруживались только в верхней трети. Уже через 4 мес. контакта с мочой отмечается резкое увеличение доли бокаловидных мукоцитов – до 42,5%, а на ворсинке половина всех клеток, чьи ядра были визуализированы являлись мукоцитами (табл. 3). В дальнейшем разброс показателя доли бокаловидных мукоцитов был не значительным вплоть до поздних сроков наблюдений и колебался в пределах 20–30%, что, однако, двукратно превышало обычные показатели для подвздошной кишки. Клетки располагались в глубине крипт и в ряде случаев, могли быть идентифицированы, начиная с 6–7 клеточной позиции.

Табл. 2. Линейные морфометрические показатели

| Срок (мес.) | Средняя длина ворсинок и крипт (мкм) |        | Средняя высота энтероцитов (мкм) |                       |                     |
|-------------|--------------------------------------|--------|----------------------------------|-----------------------|---------------------|
|             | Ворсинки                             | Крипты | В крипте                         | На основании ворсинки | На вершине ворсинки |
| 0           | 352,5                                | 190    | 38,5                             | 41                    | 54,2                |
| 3           | 174                                  | 178    | 38                               | 42,7                  | 43                  |
| 4           | 237                                  | 194,5  | 35                               | 36                    | 55                  |
| 4,5         | 216,5                                | 164    | 36                               | 58,5                  | 56                  |
| 6           | 169                                  | 143    | 30                               | 55                    | 49                  |
| 8           | –                                    | 197    | 33,4                             |                       | 37,6                |
| 9           | 181                                  | 145,6  | 38,7                             | 67,6                  | 67,6                |
| 12          | 220                                  | 233    | 41,6                             | 55,5                  | 44,3                |
| 15          | 218                                  | 210    | 37                               | 47,5                  | 53                  |
| 16          | 127                                  | 182    | 36,5                             | 46                    | 39,5                |
| 17          | 151,3                                | 205    | 40                               | 58,5                  | 48,5                |
| 19          | 169                                  | 169    | 41                               | 65                    | 53                  |
| 31          | –                                    | 187    | 44,5                             |                       | 60                  |
| 32          | 123,5                                | 253    | 48                               | 61                    | 45                  |
| 39          | –                                    | 171    | –                                | –                     | –                   |
| 44          | 137                                  | 220    | 41                               | 54                    | 51                  |
| 49          | –                                    | 202    | 41                               | 40                    |                     |
| 60          | 167                                  | 185    | 44                               | 55                    | 48,5                |
| 64          | –                                    | –      | 43                               | 50                    | 46                  |
| 72          | 146                                  | 151    | 40                               | 47                    | 41                  |
| 348         | –                                    | 80     | 64                               | –                     | –                   |
| p           | 0,001                                | 0,184  | 0,205                            | 0,001                 | 0,025               |

Р – значимость различий по сравнению с нормальной подвздошной кишкой.

Табл. 3. Динамика клеточно-дифференного состава кишечного эпителия в составе МР

| Срок (мес.) | Доля бокаловидных мукоцитов (%) |              |                    | Доля клеток Панета (%) | Доля ХГА-положительных клеток (%) |              |                    |
|-------------|---------------------------------|--------------|--------------------|------------------------|-----------------------------------|--------------|--------------------|
|             | В криптах                       | На ворсинках | Средний показатель |                        | В криптах                         | На ворсинках | Средний показатель |
| 0           | 12,5                            | 13,5         | 13                 | 6,75                   | 4,2                               | 2,1          | 3,15               |
| 3           | 37                              | 48           | 42,5               | 10                     | –                                 | –            | –                  |
| 4           | 25                              | 29,5         | 27,3               | 16                     | 10,4                              | 5,6          | 8                  |
| 4,5         | 39                              | 29           | 34                 | 20                     | 7,1                               | 5,5          | 6,3                |
| 6           | 41                              | 20           | 30,5               | 14                     | –                                 | –            | –                  |
| 8           | 30                              | –            | 30                 | –                      | –                                 | –            | –                  |
| 9           | 37                              | 32           | 34,5               | 10                     | –                                 | –            | –                  |
| 12          | 24,5                            | 26           | 25,3               | 8                      | 10                                | –            | –                  |
| 15          | 21                              | 32           | 26,5               | 7,5                    | 5,8                               | 9            | 7,4                |
| 16          | 30                              | 35,5         | 32,8               | 10                     | –                                 | –            | –                  |
| 17          | 31                              | 27           | 29                 | 5,3                    | –                                 | –            | –                  |
| 19          | 31                              | 30           | 30,5               | 11                     | –                                 | –            | –                  |
| 31          | 46                              | 23           | 34,5               | 18                     | –                                 | –            | –                  |
| 32          | 21                              | 28           | 24,5               | –                      | 18                                | –            | –                  |
| 39          | 22                              | 24           | 23                 | 17                     | –                                 | –            | –                  |
| 44          | 22                              | 31           | 26,5               | 20                     | –                                 | –            | –                  |
| 49          | 41                              | –            | 41                 | 12                     | –                                 | –            | –                  |
| 60          | 18                              | 22           | 20                 | 18,8                   | –                                 | –            | –                  |
| 64          | 10                              | –            | 10                 | 8                      | –                                 | –            | –                  |
| 72          | 11                              | 24           | 17,5               | 4,5                    | 13,7                              | 4,5          | 9,1                |
| P           | 0,0002                          | 0,0004       | 0,0001             | 0,001                  | 0,028                             | 0,068        | 0,068              |

Р – значимость различий по сравнению с нормальной подвздошной кишкой.



Дифферон кишечных энтероэндокриноцитов (ХГА-положительные клетки) реагировал на изменившиеся условия функционирования. Уже через 4 мес. их количество увеличивается двукратно как в криптах, так и в ворсинках. Эта тенденция поддерживалась и при более длительной экспозиции.

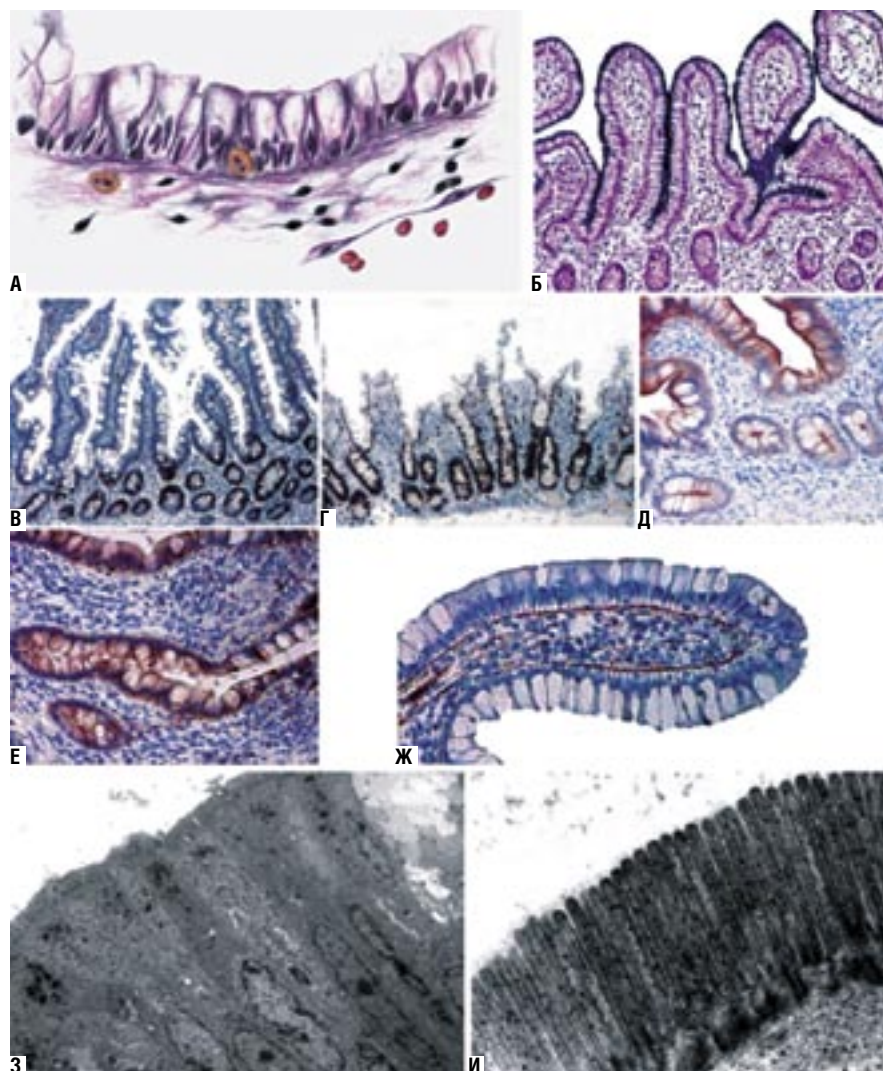
Динамика доли клеток Панета (ДКП) претерпевала значительные колебательные изменения, но выявленные тенденции свидетельствуют, что сразу после начала контакта с мочой – в первые 3–4 мес. их доля среди всех клеток крипт резко повысилась по сравнению с нормой. В дальнейшем показатель стабилизировался на уровне 6–10%, что в большинстве случаев было статистически значимо больше чем в подвздошной кишке в нормальных условиях ( $3 \pm 0,12\%$ ).

Пролиферативная активность в эпителиальной ткани резко возросла в первые месяцы контакта с мочой. Так, уже через 4–5 мес. доля делящихся в крипте энтероцитов достигала 70–86%, в то время как в подвздошной кишке в физиологических условиях Ki67+ клетки наблюдаются в криптах с 5 по 19 клеточные позиции, что, по нашим

данным, составляет не более 60% от всех клеток в криптах. Следует отметить, что в условиях реактивных изменений всей слизистой оболочки пролиферирующие клетки также обнаружены на ворсинках, что в обычных условиях не наблюдается, а также среди клеток Панета. В дальнейшем пролиферация также находилась на аномально высоком уровне, что свидетельствовало об увеличении интенсивности клеточного обновления в эпителиальном пласте [2].

В меньшей степени на первом этапе преобразований изменениям подвергается ультраструктура клеток. Так, каемчатые энтероциты сохраняли свою обычную форму на протяжении длительного времени, вплоть до 40–60 мес. При этом их высота, измеренная в трех контрольных точках – в крипте, у основания ворсинки и на вершине ворсинки длительное время не претерпевали длительных изменений и колебались в пределах, сопоставимых с нормальными для подвздошной кишки (табл. 1).

Ультраструктурные изменения энтероцитов через 2 года постоянного контакта с мочой были выражены незначительно (рис. 1). Отмечалось некоторое истончение каемчатых энтероцитов в средней части и на вершинах



**Рис. 1.** Состояние эпителия слизистой оболочки МР, фаза «экстренной адаптации»: А – гиперплазия бокаловидных клеток, 4,5 мес.; Б – ЩФ на щеточной каемке, 4,5 мес.; В – экспрессия Ki-67, нормальная подвздошная кишка; Г – экспрессия Ki-67, 4 мес.; Д – экспрессия виллина, 4,5 мес.; Е – экспрессия Е-кадгерина, 4,5 мес.; Ж – коллаген IV типа в составе базальной мембраны, 4,5 мес.; З – эпителиоциты через 24 мес.; И – микроворсинки щеточной каемки, 24 мес. Окраска: А – гематоксилин и эозин; Б – BCIP-NBT, основной фуксин; В–Ж – продукт иммуногистохимической реакции коричневого цвета, докраска гематоксилиом; З, И – контрастирование солями свинца. Ув.: А  $\times 900$ ; Б  $\times 100$ ; В, Г  $\times 32$ ; Д–Ж  $\times 250$ , З  $\times 2000$ ; И  $\times 3000$

ворсинок, приобретение ядрами вытянутой формы и изрезанных контуров с большим количеством эухроматина, пристеночным расположением глыбок гетерохроматина, одним ядрышком. Микроворсинки на апикальной поверхности – обычной формы, длины, плотности расположения; над ними регистрируется слой гликокаликса. В базолатеральных участках регистрировалось обычное количество межклеточных контактов по типу десмосом, ровные контуры базальной мембраны, что подтверждалось и ИГХ-данными; базальные границы клеток соответствовали ей на всем протяжении.

Синтетическая активность энтероцитов сохранялась на обычном уровне до 17–20 мес. Реакция на щелочную фосфатазу (ЩФ) подтвердила активную выработку фермента практически всеми энтероцитами, а сохранность цитоскелета микроворсинок (ИГХ реакция на виллин) – их структурную полноценность (табл. 4).

Через 31–32 мес. слизистая оболочка характеризовалась глубокими нарушениями архитектоники в системе «крипта-ворсинка». Типичные ворсинки в биоптатах отсутствовали, при этом имелись расширенные и короткие выпячивания стромы, покрытые однослойным кишечным эпителием. В ряде случаев внутри их массивированно инфильтрированной лимфоцитами стромы находились начальные отделы извитых крипт.

В сроки 36–44 мес. на поверхности слизистой оболочки отмечались единичные полиморфные ворсинки, некоторые достаточно длинные – до 140–200 мкм. В некоторых участках наблюдали локальные полиповидные разрастания эпителия, которые также могли быть охарактеризованы как анастомозирующие ворсинки. Клетки Панета занимали 1–6 клеточные позиции, выходя за пределы своей естественной ниши (1–3 клеточные позиции).

Через 49 мес. после операции следует констатировать субтотальную атрофию ворсинок, уменьшение количества крипт, в некоторых препаратах – до единичных; фиброзирование стромы.

В препарате, полученном через 60 мес. после операции отмечены разноразмерные ворсинки, на одну длинную (140 мкм), приходится до 3–4 коротких – 80–100 мкм. Крипты субатрофичны, напоминают межворсинчатые складки и могут быть идентифицированы как крипты только по наличию клеток Панета.

Через 72 мес. ворсинки не определяются, имеются лишь локальные возвышения, покрытые полиморфным кишечным эпителием. Крипты немногочисленны, клетки Панета в них единичны. Субэпителиальный слой стромы

склерозирован, глубже так же отмечается развитие волокнистой соединительной ткани с мощными коллагеновыми волокнами. Аналогичная картина наблюдается и через 84 мес.

На поздних сроках – более 50 мес. – доля бокаловидных клеток снижалась, вплоть до того, что в ряде случаев они не могли быть морфологически идентифицированы. Статистически значимое изменение высоты констатировали после 40 мес. Параллельно с удлинением клеток они заметно истончались, особенно на боковых поверхностях ворсинок или, в случае полной атрофии последних, на безворсинчатых полях.

Через 5 лет после операции зарегистрировано прогрессирование ультраструктурных изменений. Ядра характеризовались углублением описанных изменений, несколько изменилось ядерно-цитоплазматическое соотношение в сторону превалирования удельного объема ядра. Разновысокие микроворсинки располагались рыхло, группами по 4–5 (рис. 2). Прослеживался пылеобразный слой гликокаликса, субмембранный слой апикальной части клеток содержал большое количество больших митохондрий. В базолатеральном домене отмечалось уменьшение количества десмосом, появление широких межклеточных пространств, в которые соседние энтероциты формировали небольшие выросты цитоплазмы, контактирующие между собой; такие межклеточные щели заполнены рыхлыми светлыми компонентами.

Отмечалось снижение интенсивности окрашивания на ЩФ, Е-кадгерин, коллаген IV типа (табл. 4).

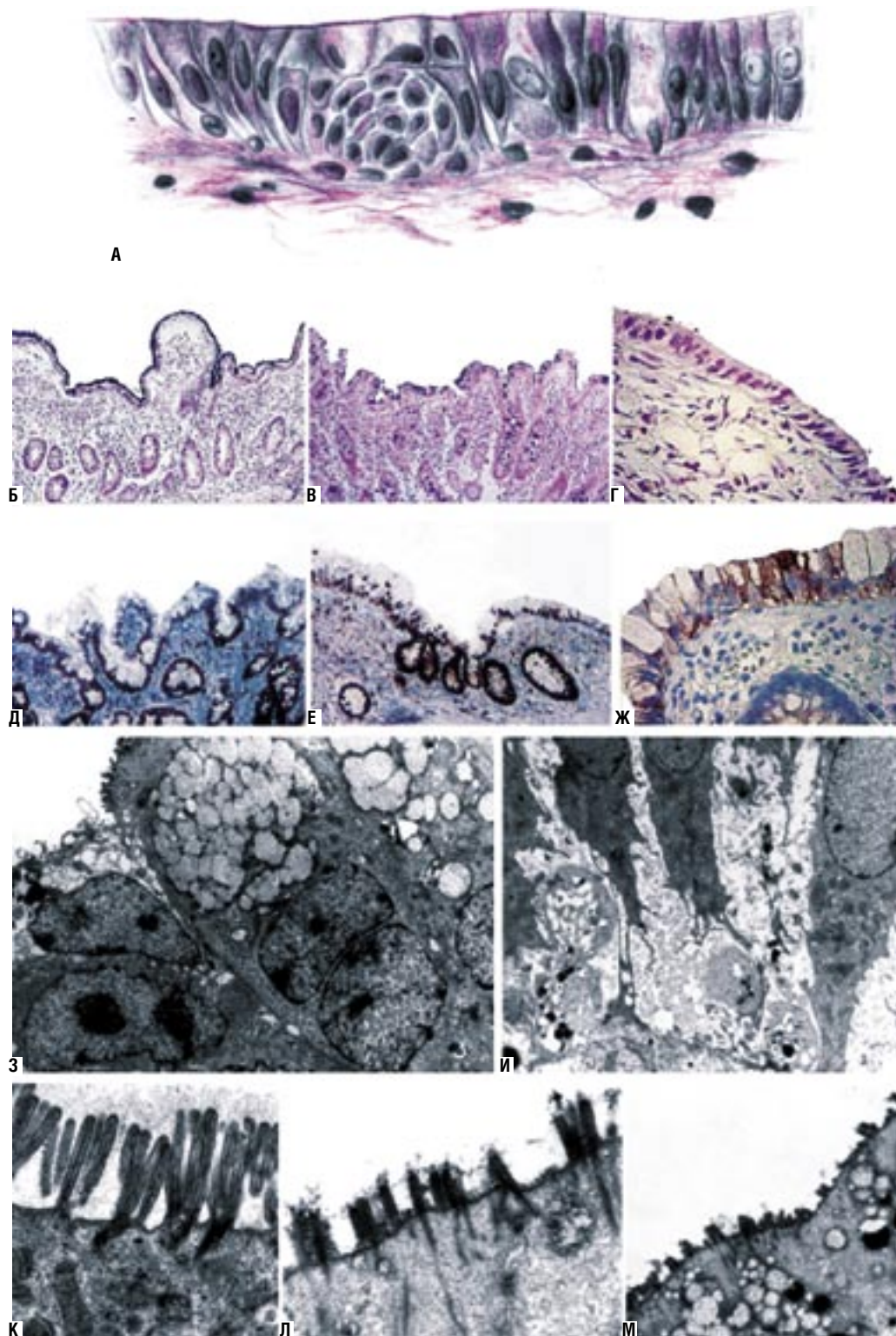
Через 7 лет контакта с мочой на ворсинках находились энтероциты с выраженными признаками структурных перестроек. Истонченные энтероциты располагались тесно, часто в 2–3 ряда, что на светооптическом уровне могло быть принято за многорядность эпителия. Инцизуры в ядрах достигали значительной выраженности. Организация апикальной поверхности мало отличалась от пятилетнего срока. Межклеточные щели сильно выражены. Отмечалась мозаичная электронноплотность цитоплазмы, появление в ней неправильной формы вакуолей, заполненных рыхлым материалом, различным по своей электронной плотности как в соседних клетках, так и внутри одной клетки. При этом сохранялась общая тенденция к тому, что каемчатые энтероциты имели более электронноплотную цитоплазму.

Таким образом, к этому сроку происходит постепенное наращивание диспластических процессов, что знаменует собой наступление третьей фазы компенсаторных преобразований – декомпенсации.

Табл. 4. Результаты полуколичественной оценки гистохимической реакции на ЩФ и ИГХ реакций на виллин и Е-кадгерин (баллы)

| Срок (мес.) | 0 | 4   | 4,5 | 9 | 12 | 15 | 17 | 32 | 43 | 49 | 64 | 72 |
|-------------|---|-----|-----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| ЩФ          | 3 | 2-3 | 2   | 2 | 2  | 2  | 2  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| Виллин      | 3 | 3   | 3   | 3 | 3  | 3  | 3  | 3  | 3  | 3  | 3  | 3  |
| Е-кадгерин  | 3 | 2   | 2   | 2 | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 1  |





**Рис. 2.** Состояние эпителия слизистой оболочки МР, фаза «декомпенсации»: А – полиморфизм эпителиоцитов, многоядное расположение, внутриэпителиальные пролифераты и двуядерные энтероциты, 29 лет; Б – ЩФ на щеточной каемке, 42 мес.; В – ЩФ на щеточной каемке, 60 мес.; Г – ЩФ на щеточной каемке, 72 мес.; Д – экспрессия Ki-67, 60 мес.; Е – экспрессия Ki-67, 72 мес.; Ж – экспрессия Е-кадгерина, 72 мес.; З – эпителиоцит «смешанного фенотипа» с двумя ядрами, 29 лет; И – базальный домен эпителиоцитов с большим количеством отростков, частичная фрагментация базальной мембраны, 29 лет; К – микроворсинки щеточной каемки, 60 мес.; Л – микроворсинки щеточной каемки, 72 мес.; М – микроворсинки щеточной каемки, 29 лет. Окраска: А – гематоксилин и эозин; Б–Г – ВСРР-NBT, основной фуксин; Д–Ж – продукт иммуногистохимической реакции коричневого цвета, докраска гематоксилиом; З–М – контрастирование солями свинца. Ув.: А ×900; Б, В ×32; Г ×400; Д–Е ×32; Ж ×400; З, И ×2000; К–М ×3000

Наиболее выраженную дисплазию удалось выявить в биоптате у пациента с 348-месячным анамнезом после операции. Большая часть эпителиоцитов была представлена полиморфными веретенновидными клетками. При окраске полутонких срезов толудиновым синим обращает внимание на себя различная окраска ядер – от светлой и прозрачной, до темной. Ядра соседних энтероцитов часто лежат в 2–3 ряда. В некоторых клетках обнаруживали сегментированные ядра или ядра с перетяжкой.

Единичные крипты малы, по глубине почти равны высоте эпителиоцитов и достигают 80–85 мкм. Подлежащая строма образована уплотненной волокнистой соединительной тканью с мощными коллагеновыми волокнами. Апикальный аппарат энтероцитов был представлен резко атрофичными микроворсинками, которые зачастую напоминали мембранные пузырьки, отшнуровывающиеся от поверхности клеток. Базальные тельца были длиннее чем сами ворсинки. Дифференцировка клеток на различные типы энтероцитов прослеживалась нечетко, в большинстве случаев клетки были заполнены дискретными пузырьками со слизеподобным веществом. Появлялись клетки со «смешанным фенотипом», демонстрирующие признаки как каемчатых, так и бокаловидных клеток. Базолатеральный домен клеток характеризовался чрезвычайной отросчатостью, при этом проследить ход базальной мембраны не представлялось возможным (рис. 2).

Неожиданной находкой стали двужадерные энтероциты, они отчетливо выявлялись и на полутонких срезах при иммерсионной микроскопии и на электроннограммах, что расценено как выраженный признак дисплазии кишечного эпителия.

Ни в одном случае признаков прямо или косвенно свидетельствовавших о переходноклеточной метаплазии обнаружено не было, что представляется вполне оправданным с точки зрения детерминации эпителия энтодермального типа [6].

Таким образом, выполненное исследование позволяет констатировать наличие выраженных структурно-функциональных изменений на изученных уровнях организации – уровне структурно-функциональных единиц, клеточно-дифференном уровне, ультраструктурной организации энтероцитов и их синтетической актив-

ности. Однако на всех уровнях изменения происходят гетерохронно. Вместе с тем, вне зависимости от уровня проявления реактивных изменений, они в общем реализуются в трехфазном процессе (табл. 5), оканчивающимся дисплазией кишечного эпителия. Данное обстоятельство, не смотря на гистогенетический консерватизм и стойкую детерминацию кишечного эпителия подвздошной кишки, требует определенной онкологической настороженности на поздних сроках функционирования МР.

*Авторы выражают признательность автору двух рисунков И.Н. Нестяку.*

#### Литература

1. Деев Р.В. Реактивные изменения эпителия подвздошной кишки в составе мочевых резервуаров / Р.В. Деев, Т.А. Ахмедов // Вопросы морфологии XXI века. Сборник научных трудов, посвященный 100-летию кафедры медицинской биологии СПбГМА им. И.И. Мечникова, 2008, СПб, 2008. – С. 107–114.
2. Деев Р.В. Клеточное обновление в кишечном эпителии в условиях реактивных изменений слизистой оболочки / Р.В. Деев, Т.А. Ахмедов, Б.К. Комяков // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. – Т. 4, №1. – С. 69–73.
3. Рогачиков В.В. Морфофункциональные особенности искусственного мочевого пузыря в зависимости от отдела кишечника, использованного для реконструкции. – Автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.В. Рогачиков. – М., 2009. – 26 с.
4. Рогачиков В.В. Морфологические и функциональные особенности искусственного мочевого пузыря в зависимости от использованного при реконструкции отдела кишечника (обзор литературы) / В.В. Рогачиков, С.Н. Нестеров, А.Л. Левчук, Д.В. Семенов // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2008. – Т. 3, № 1. – С. 72–77.
5. Саркисов Д.С. Приспособительные и компенсаторные реакции / Д.С. Саркисов, В.С. Пауков, П.Ф. Литвицкий // В кн. Патология: руководство / Под ред. М.А. Пальцева, В.С. Паукова, Э.Г. Улумбекова. – М: ГЭОТАР Медицина, 2002. – С. 128–145.
6. Хлопин Н.Г. Общепатологические и экспериментальные основы гистологии / Н.Г. Хлопин. – Л.: Из-во АН СССР, 1946. – 491 с.
7. Aragona F. Structural and ultrastructural changes in ileal neobladder mucosa: a 7-year follow-up / F. Aragona, R. De Caro, A. Parenti et al. // Br. J. Urol. – 1998. – Vol. 81, №1. – P. 55–61.
8. Gottfried H.W. Ultrastructural studies of the ileum neobladder / H.W. Gottfried, T. Grau, K. Miller, R. Hautmann // Urologe A. – 1993. – Vol. 32, №6. – P. 470–474.

#### Контактная информация

Деев Р.В.  
г. Москва «Институт стволовых клеток человека»  
тел.: +8 (965) 147-13-64  
e-mail: romdey@gmail.com

**Табл. 5.** Трехфазные изменения кишечного эпителия в составе МР

| Уровни структурной организации        | Фаза «экстренной адаптации», до 2 лет                                                                   | Фаза «плато», от 2 до 5 лет                                                                                        | Фаза «срыва», свыше 5 (7) лет                                                                                                          |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Структурно-функциональные единицы     | Нарастание полиморфизма                                                                                 | Полиморфизм; начало атрофии ворсинок                                                                               | Субтотальная атрофия ворсинок, нарастание атрофии крипт                                                                                |
| Клеточно-дифференный состав           | Увеличение клеток дифференгов мукоцитов, клеток Панета и энтеро-эндокриноцитов; увеличение пролиферации | Стабилизация доли бокаловидных мукоцитов, снижение доли клеток Панета; стабилизация пролиферации на высоком уровне | Снижение доли бокаловидных мукоцитов                                                                                                   |
| Ультраструктура и функции энтероцитов | Незначительные изменения ультраструктуры; сохранность синтетической функции (ЩФ, Е-кадгерин)            | Появление признаков изменения ультраструктуры энтероцитов; снижение синтеза (ЩФ, Е-кадгерин)                       | Нарастание признаков дисплазии энтероцитов, атрофия оргanelл; нарушение синтетических процессов вплоть до прекращения (ЩФ, Е-кадгерин) |