

УДК 616.344-089.86-031:611.349.018

О.В. Чорний,**О.І. Іващук,****І.С. Давиденко,****В.Ю. Бодяка**Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ГІСТОМОРФОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ІЛЕОТРАНСВЕРЗОАНАСТОМОЗУ В
ЕКСПЕРИМЕНТІ****Ключові слова:** ілеотранс-
верзоанастомоз, ентероцити,
келихоподібні клітини.**Резюме.** У даній статті гістоморфологічно обґрунтовано переваги запропонованого кінцебокового ілеотрансверзоанастомозу в плані порівняно кращого перебігу компенсаторних процесів та швидкого відновлення нормальної функціональної здатності кишкового тракту. Встановлено, що формування запропонованого тонко-товстокишкового анастомозу після видалення ілеоцекального кута характеризується вищою оптичною густиною PAS-позитивного забарвлення глікокаліксу, PAS-позитивного забарвлення келихоподібних клітин, а також кількістю останніх, порівняно із своїми найближчими аналогами, що вказує на кращий перебігу компенсаторних процесів та швидке відновлення нормальної функціональної здатності кишкового тракту.**Вступ**

Рак ободової кишки займає друге місце в структурі злоякісних новоутворень шлунково-кишкового тракту (ШКТ). При неускладнених формах раку даної локалізації операцією вибору є одночасна резекція цієї ділянки з накладанням ілеотрансверзоанастомозу. Проте видалення такої важливої ділянки ШКТ, як ілеоцекальний кут, призводить до значної кількості ускладнень, пов'язаних з порушенням процесів травлення [2, 6].

Існуюча велика кількість ілеотрансверзоанастомозів свідчить про відсутність оптимального рішення цієї проблеми, оскільки за них відмічено ряд недоліків, саме: виникнення явищ "сліпого мішка", рефлюкс-ентериту, дисбактеріозу тощо [5].

Розробка нового адекватного інвагінаційного кінцебокового ілеотрансверзоанастомозу дещо поліпшить процеси травлення, тим самим покращить результати лікування хворих на рак правої половини ободової кишки.

Мета дослідження

Гістоморфологічно встановити стан слизової оболонки тонкої та товстої кишок, залежно від методу формування ілеотрансверзоанастомозу, після виконання резекції ілеоцекального кута.

Матеріал і методи

Експеримент проведено на 19 безпородних собаках, масою 10-12 кг, яким виконано резекцію ілеоцекального кута. Залежно від способу фор-

мування ілеотрансверзоанастомозу тварин розподілено на дві групи - порівняння та основну.

Тваринам групи порівняння сформовано ілеотрансверзоанастомоз за Кімбаровським (5 собак) та О.І. Іващуком (1997) (7 собак) [1].

Основній групі тварин, яка налічувала сім собак, сформовано кінцебоковий ілеотрансверзоанастомоз за власною методикою.

Спосіб формування запропонованого ілеотрансверзоанастомозу полягає у тому, що після мобілізації термінального відділу тонкої кишки, її пересікають під кутом 45 градусів до брижового краю, із залишенням добре вираженої крайової судини. Після типової мобілізації сліпої, висхідної та правої половини поперекової кишки формують куксу останньої обвивним та кисетними швами. Відступивши на 2,0-3,0 см від кукси та на 0,5 см нижче від м'язової стрічки поперекової кишки накладають задній поздовжній ряд швів між поперековою і тонкою кишками. На тонкій кишці цей ряд швів накладають відступивши на 3-4 см від її краю та паралельно розрізу. При затягуванні та зав'язуванні ниток, клубова кишка прилягає до осі поперекової під кутом 45 градусів. Передній ряд швів формують шляхом прошивання поперекової кишки, вище майбутнього розрізу, та клубової кишки в проекції заднього ряду швів. По м'язовій стрічці виконують поздовжній розріз на поперековій кишці, в який занурюють мобілізований відділ тонкої кишки на 3-4 см, після чого шви затягують та зав'язують. Для забезпечення кращої герметичності, анастомоз допов-

© О.В. Чорний, О.І. Іващук, І.С. Давиденко, В.Ю. Бодяка, 2015

нюється кількома вузловими швами по брижовому та протибрижовому краях. Далі зшивають дефект брижі між тонкою та товстою кишками [4].

Оперативні втручання проводили в умовах виварію Буковинського державного медичного університету відповідно до національних вимог "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2011), які узгоджені з положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985).

Операції виконували під загальним внутрішньовенним (в/в) знеболенням (тіопентал-натрію 30-40 мг/кг) з дотриманням правил асептики та антисептики. За 20 хвилин до наркозу тваринам виконували премедикацію шляхом внутрішньом'язового уведення, залежно від маси тіла, 0,5-1,0 мл 0,1% розчину атропіну та розчину аміназину в дозі 2,5 мг/кг [3].

Забір матеріалу проводили на 7-му, 15-ту та 30-ту доби після оперативного втручання, а також під час формування анастомозу. В стерильних умовах, під загальним в/в знеболенням (тіопентал-натрію 30-40 мг/кг), виконували лапаротомію, ентеротомію та колотомію, висічення шматка слизової оболонки. Після взяття матеріалу дефекти кишок та лапаротомну рану зшивали.

Для світлооптичного дослідження для гістологічного дослідження, біоптати стінки тонкої та товстої кишок фіксували в 10% нейтральному формаліні. Парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Використовували описову методику виявлених патоморфологічних змін.

Ставили на гістологічних зрізах PAS-реакцію для визначення глікопротеїнів. Для цілей морфометрії проводили підрахунок відсотку келихоподібних клітин серед епітеліальних у препаратах забарвлених гематоксиліном та еозином. На гістохімічних препаратах вимірювали методом комп'ютерної мікроденситометрії (комп'ютерна версія GIMP, 2,82) оптичну густину PAS-позитивне забарвлення у в. од. опт. густ. окремо в келихоподібних клітинах та глікокаліксі ентероцитів.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили з використанням електронних таблиць Microsoft Excel та пакета програм статистичної обробки PAST. Для перевірки нормальності розподілу даних у вибірках застосовували критерії Shapiro-Wilk. Розбіжності між групами досліджень визначали за допомогою критеріїв Mann-Whitney. Результат вважали вірогідним, якщо кое-

фіцієнт вірогідності був $\leq 0,05$, що є загальноприйнятим у медико-біологічних дослідженнях.

Обговорення результатів дослідження

Оцінюючи результати дослідження відсотку келихоподібних клітин слизової оболонки тонкої кишки, які наведені в таблиці 1, слід відмітити вірогідне зниження показників обох дослідних груп проти передопераційних, впродовж всього терміну спостереження. Відсоток келихоподібних клітин в основній групі вірогідно вищий проти групи порівняння протягом всього терміну дослідження. В обох дослідних групах має місце вірогідне зниження відсотку келихоподібних клітин на 14-ту добу спостереження та зростання на 30-ту. Динаміка відсотку келихоподібних клітин слизової оболонки товстої кишки подібна до тонкої, за виключенням того, що на 7-му добу спостереження показники основної групи невірогідні проти порівняння.

Представлені в таблиці 2 результати дослідження оптичної густини PAS-позитивного забарвлення (PAS-ПЗ) келихоподібних клітин слизової оболонки кишечника вказують зниження показників після виконання оперативного втручання протягом всього терміну дослідження, за винятком товстої кишки основної групи на 30-ту добу спостереження, де ця різниця невірогідна. Оптична густина PAS-ПЗ келихоподібних клітин слизової оболонки тонкої та товстої кишок у тварин основної групи вища проти порівняння, за виключенням показників товстої кишки впродовж перших 14-ти діб спостереження, де вони невірогідні. Динаміка показників протягом всього терміну дослідження в обох дослідних групах тварин подібна, а саме вірогідне зниження оптичної густини PAS-ПЗ келихоподібних клітин на 14-ту добу та зростання на 30-ту.

Аналізуючи результати дослідження оптичної густини PAS-ПЗ глікокаліксу слизової оболонки кишечника, які представлені в таблиці 3, слід відмітити вірогідно нижчі показники після виконання оперативного втручання впродовж всього терміну дослідження, за винятком товстої кишки основної групи на 30-ту добу спостереження. Оптична густина PAS-ПЗ глікокаліксу слизової оболонки тонкої та товстої кишок у тварин основної групи вища проти порівняння, за виключенням показників товстої кишки впродовж перших семи діб спостереження, де вони невірогідні. В обох дослідних групах тварин динаміка показників протягом всього терміну дослідження подібна, тобто відмічається вірогідне зниження оптичної густини PAS-ПЗ глікокаліксу на 14-ту добу та зростання на 30-ту.

Таблиця 1

Відсоток келихоподібних клітин слизової оболонки тонкої та товстої кишок після виконання резекції ілеоцекального кута, залежно від методу формування міжкишкового анастомозу, в різні терміни спостереження ($M \pm m$), %

Термін	Група тварин	Тонка кишка		Товста кишка	
		Перед операцією	Після операції	Перед операцією	Після операції
7-а доба	Порівняння n=12	71,21 ± 0,864 n=19	55,08 ± 0,645 *	79,68 ± 0,742 n=19	58,83 ± 0,777 *
	Основна n=7		59,14 ± 0,738 p<0,01 *		60,14 ± 0,769 p>0,05 *
14-та доба	Порівняння n=12	71,21 ± 0,864 n=19	24,25 ± 0,441 *,**	79,68 ± 0,742 n=19	38,1 ± 0,815 *,**
	Основна n=7		51,14 ± 0,829 p<0,001 *,**		49,43 ± 0,787 p<0,001 *,**
30-та доба	Порівняння n=12	71,21 ± 0,864 n=19	58,08 ± 0,761 *,**	79,68 ± 0,742 n=19	67,58 ± 0,821 *,**
	Основна n=7		64,85 ± 0,595 p<0,001 *,**		72,14 ± 0,748 p<0,01 *,**

Примітки: 1р – різниця між обома дослідними групами; 2 * – вірогідно проти показників до виконання оперативного втручання; 3 ** – вірогідно проти попереднього показника у кожній групі тварин

Таблиця 2

Оптична густина PAS-позитивного забарвлення келихоподібних клітин слизової оболонки тонкої та товстої кишок після виконання резекції ілеоцекального кута, залежно від методу формування міжкишкового анастомозу, в різні терміни спостереження ($M \pm m$), в. од. опт. густ.

Термін	Група тварин	Тонка кишка		Товста кишка	
		Перед операцією	Після операції	Перед операцією	Після операції
7-а доба	Порівняння n=12	0,39 ± 0,011 n=19	0,19 ± 0,013 *	0,31 ± 0,01 n=19	0,24 ± 0,011 *
	Основна n=7		0,24 ± 0,009 p<0,05 *		0,26 ± 0,008 p>0,05 *
14-та доба	Порівняння n=12	0,39 ± 0,011 n=19	0,13 ± 0,013 *,**	0,31 ± 0,01 n=19	0,18 ± 0,011 *
	Основна n=7		0,18 ± 0,015 p<0,05 *,**		0,21 ± 0,01 p>0,05 *,**
30-та доба	Порівняння n=12	0,39 ± 0,011 n=19	0,26 ± 0,013 *,**	0,31 ± 0,01 n=19	0,26 ± 0,007 *,**
	Основна n=7		0,32 ± 0,013 p<0,05 *,**		0,29 ± 0,008 p<0,01 **

Примітки: 1 р – різниця між обома дослідними групами; 2 * – вірогідно проти показників до виконання оперативного втручання; 3 ** – вірогідно проти попереднього показника у кожній групі тварин

Виконання резекції ілеоцекального кута призводить до зниження оптичної густини PAS-ПЗ глікокаліксу, PAS-ПЗ келихоподібних клітин, а також кількості останніх слизової оболонки кишечника, проте на 7-му добу спостереження відмічаються вірогідно вищі показники тонкої кишки при формуванні запропонованого ілеотрансверзоанастомозу, порівняно із загальновідомими (рис.

1, рис.2).

На 14-ту добу дослідження оптична густина PAS-ПЗ глікокаліксу, PAS-ПЗ келихоподібних клітин, а також кількість останніх, в обох дослідних групах, вірогідно знижуються проти показників 7-ї доби спостереження. Відмічається переважання показників основної групи проти порівняння, за винятком оптичної густини келихоподібних клітин

Таблиця 3

Оптична густина PAS-позитивного забарвлення глікокаліксу слизової оболонки тонкої та товстої кишок після виконання резекції ілеоцекального кута, залежно від методу формування міжкишкового анастомозу, в різні терміни спостереження ($M \pm m$), в. од. опт. густ.

Термін	Група тварин	Тонка кишка		Товста кишка	
		Перед операцією	Після операції	Перед операцією	Після операції
7-а доба	Порівняння n=12	0,4 ± 0,008 n=19	0,21 ± 0,007 *	0,32 ± 0,008 n=19	0,23 ± 0,008 *
	Основна n=7		0,26 ± 0,007 p<0,01 *		0,24 ± 0,009 p>0,05 *
14-та доба	Порівняння n=12	0,4 ± 0,008 n=19	0,15 ± 0,004 *,**	0,32 ± 0,008 n=19	0,11 ± 0,007 *,**
	Основна n=7		0,19 ± 0,009 p<0,05 *,**		0,16 ± 0,008 p<0,01 *,**
30-та доба	Порівняння n=12	0,4 ± 0,008 n=19	0,29 ± 0,007 *,**	0,32 ± 0,008 n=19	0,24 ± 0,007 *,**
	Основна n=7		0,34 ± 0,007 p<0,01 *,**		0,29 ± 0,013 p<0,01 **

Примітки: 1 p – різниця між обома дослідними групами; 2 * – вірогідно проти показників до виконання оперативного втручання; 3 ** – вірогідно проти попереднього показника у кожній групі тварин

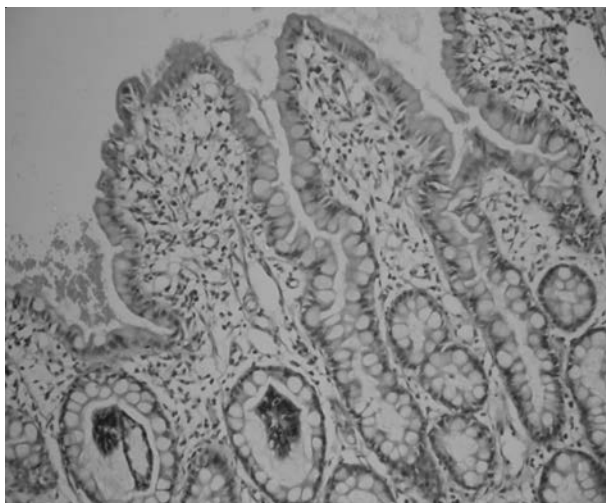


Рис. 1. Фото мікропрепарату стінки тонкої кишки собаки після виконання резекції ілеоцекального кута та формування запропонованого анастомозу, на 7-му добу спостереження. Набряк стромы, зменшення кількості келихоподібних клітин та слизу. Гематоксилін і еозин. Об. 10 \times . Ок. 10 \times .

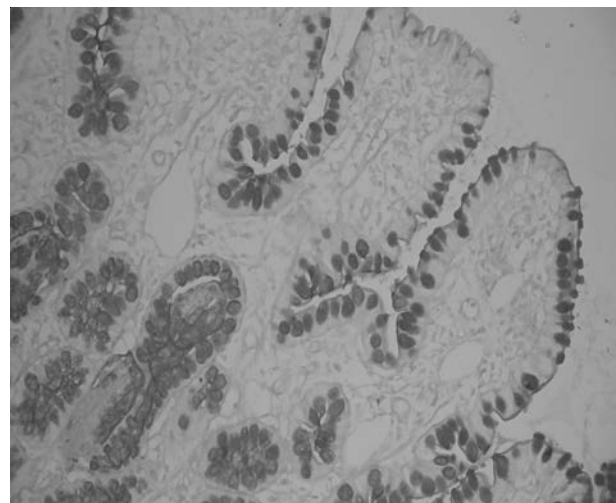


Рис. 2. Фото мікропрепарату стінки тонкої кишки собаки після виконання резекції ілеоцекального кута та формування запропонованого анастомозу, на 7-му добу спостереження. Зменшення кількості глікопротеїнів. Ураження глікокаліксу ентероцитів, у вигляді його витонченням та зменшенням інтенсивності забарвлення. Розширення лімфатичних судин. PAS-реакція. Об. 10 \times . Ок. 10 \times .

слизової оболонки товстої кишки, де ця різниця невірогідна (рис. 3, 4).

На 30-ту добу дослідження оптична густина PAS-ПЗ глікокаліксу, PAS-ПЗ келихоподібних клітин, а також співвідношення останніх, в обох дослідних групах тварин, вірогідно зростає, порівняно з показниками 14-ї доби спостереження. Вірогідно переважають показники основної групи проти порівняння. Слід відмітити, що показники оптичної густини PAS-ПЗ келихоподібних клітин та

PAS-ПЗ глікокаліксу основної групи мають невірогідну різницю порівняно з передопераційними (рис. 5, 6).

Підсумовуючи результати дослідження слід відмітити, що виконання резекції ілеоцекального кута призводить до вірогідного зниження оптичної густини PAS-позитивного забарвлення глікокаліксу, PAS-позитивного забарвлення келихоподібних клітин, а також кількості останніх. Отримані результати дослідження вказують на віро-

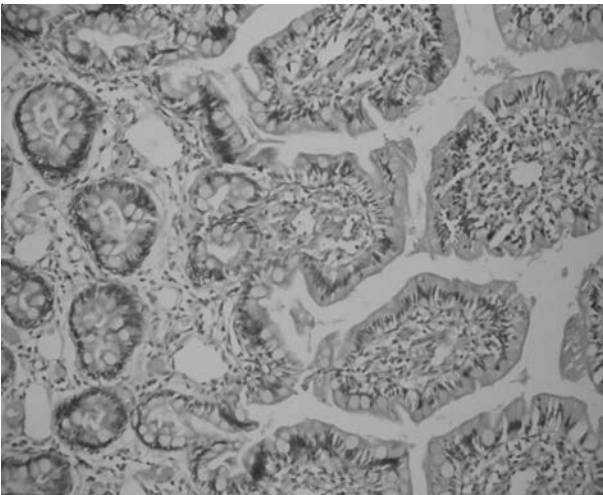


Рис. 3. Фото мікропрепарату стінки товстої кишки собаки після виконання резекції ілеоцекального кута та формування запропонованого анастомозу, на 14-ту добу спостереження. Розширені лімфатичні судини, запалення стромы кишки. Гематоксилін і еозин.

Об. 10[×]. Ок. 10[×].

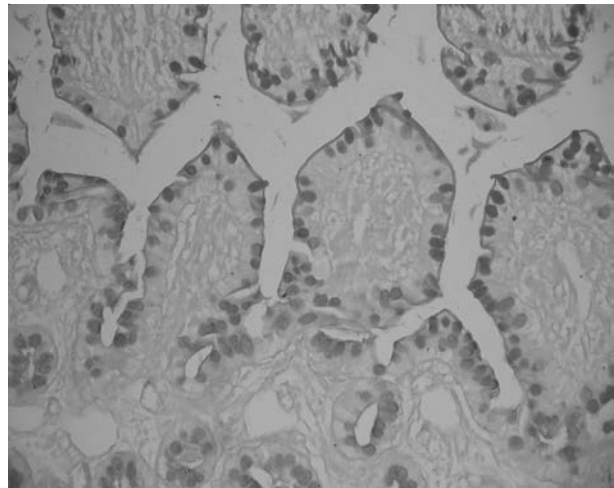


Рис. 4. Фото мікропрепарату стінки товстої кишки собаки після виконання резекції ілеоцекального кута та формування запропонованого анастомозу, на 14-ту добу спостереження. Збережений глікокалікс, без особливих змін. Порівняно більша кількість келихоподібних клітин з вогнищами інтенсивного забарвлення. PAS-реакція. Об. 10[×]. Ок. 10[×].

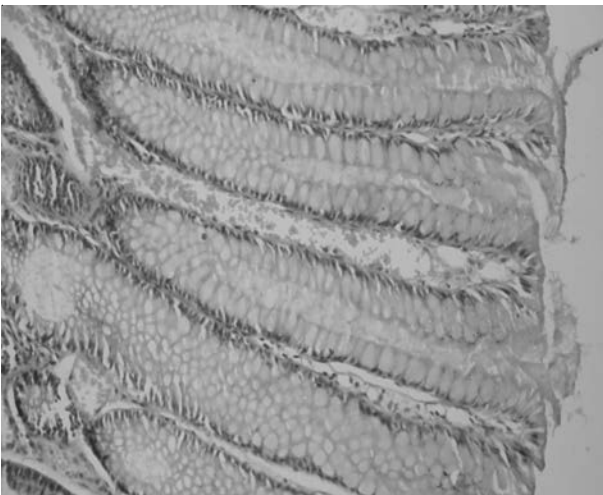


Рис. 5. Фото мікропрепарату стінки товстої кишки собаки після виконання резекції ілеоцекального кута та формування запропонованого анастомозу, на 30-ту добу спостереження. Помірне повнокрів'я.

Гематоксилін і еозин.

Об. 10[×]. Ок. 10[×].

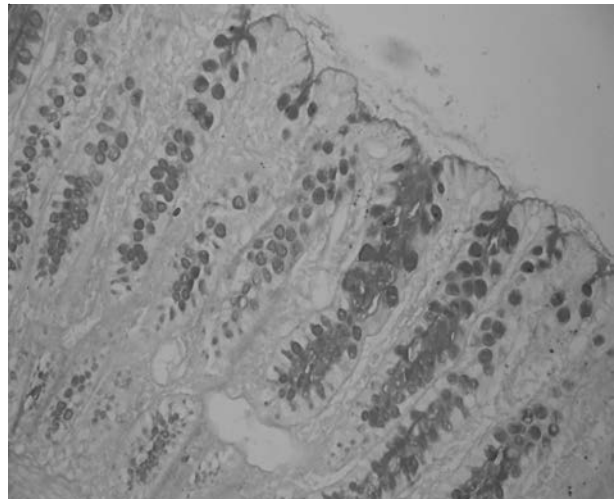


Рис. 6. Фото мікропрепарату стінки товстої кишки собаки після виконання резекції ілеоцекального кута та формування запропонованого анастомозу, на 30-ту добу спостереження. Товщина глікокаліксу та інтенсивність його забарвлення наближена до норми.

PAS-реакція. Об. 10[×]. Ок. 10[×].

гідно вищі показники основної групи тварин проти групи порівняння, впродовж всього терміну спостереження. Оптична густина PAS-позитивного забарвлення глікокаліксу та PAS-позитивного забарвлення келихоподібних клітин слизової оболонки товстої кишки на 30-ту добу має невірорідну різницю з передопераційними показниками.

Таким чином, формування запропонованого ілеотрансверзоанастомозу, після видалення такої важливої анатомічної ділянки як ілеоцекальний кут, призводить до кращого перебігу компенсаторних процесів та швидкого відновлення нормальної функціональної здатності кишечника, порівняно із своїми найближчими аналогами.

Висновок

Формування запропонованого тонко-товстокишкового анастомозу після видалення ілеоцекального кута характеризується вищою оптичною густиною PAS-позитивного забарвлення глікокаліксу, PAS-позитивного забарвлення келихоподібних клітин, а також кількістю останніх, порівняно із своїми найближчими аналогами, що вказує на кращий перебіг компенсаторних процесів та швидке відновлення нормальної функціональної здатності кишечника.

Перспективи подальших досліджень

Вважаємо за доцільне дослідити біохімічні та мікробіологічні особливості слизової оболонки

тонкої та товстої кишок після накладання запропонованого ілеотрансверзоанастомозу, з метою подальшого обґрунтування його ефективності.

Література. 1. Івашук О.І. Відновлення прохідності кишкового тракту після правобічної гемиколектомії та деякі аспекти становлення компенсаторних змін: дис. ... канд. мед. наук : 14.01.03 / Івашук Олександр Іванович. - К., 1997. - 159 с. 2. Карякин А.М. Конце-концевой анастомоз как метод выбора при правосторонней гемиколектомии / А.М. Карякин, М.А. Иванов, С.А. Алиев // Вестник хирургии. - 1998. - Т. 157, № 1 - С. 36-38. 3. Лабораторні тварини в медико-біологічних експериментах: метод. посібн. / [В.П. Пішак, В.Г. Висоцька, В.М. Магалає та ін.]. - Ч.: Медуніверситет, 2006. - 350 с., іл. 4. Патент України на корисну модель 85715, МПК А61В17/00. Спосіб формування тонко-товстокишкового анастомозу / Івашук О.І., Чорний О.В.; заявник та патентовласник Буковинський державний медичний університет. - № у 2013 07550 заявл. 14.06.13; опубл. 25.11.13, Бюл. № 22. 5. Профилактика ранних послеоперационных осложнений у больных колоректальным раком / Б.В. Сорокин, В.Ю. Пироговский, А.А. Тараненко [и др.] // Онкология. - 2011. - Т. 13, № 4. - С. 332-334. 6. Функциональное состояние кишечника после правосторонней гемиколектомии в зависимости от вида анастомоза / Г.И. Воробьев, К.Н. Саламов, Л.Л. Капуллер [и др.] // Анналы хирургии. - 1998. - № 3. - С. 33-35.

ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИЛЕОТРАНСВЕРЗОАНАСТОМОЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

О.В. Чорный, А.И. Иващук, И.С. Давиденко,

В.Ю. Бодяка

Резюме. В данной статье гистоморфологически обосновано преимущества предложенного концебокового илеотрансверзоанастомоза анастомоза в плане сравнительно лучшего протекания компенсаторных процессов и быстрого восстановления нормальной функциональной возможности кишечника. Определено, что формирование предложенного тонко-толстокишечного анастомоза после удаления илеоцекального угла характеризуется большей оптической плотностью PAS-положительным окрашиванием гликокаликса, PAS-положительным окрашиванием бокаловидных клеток, а также количества последних, в сравнении из своими наиболее близкими аналогами, что указывает на лучшее протекание компенсаторных процессов и быстрое восстановление нормальной функциональной способности кишечника.

Ключевые слова: илеотрасверзоанастомоз, энтероциты, бокаловидные клетки.

HISTOMORPHOLOGICAL SUBSTANTIATION OF ILEOTRANSVERSEANASTOMOSIS IN EXPERIMENT

O.V. Chorny, O.I. Ivashchuk, I.S. Davydenko, V.Yu. Bodaya

Abstract. Advantages of the suggested end-to-side ileotransverseanastomosis in the view of comparatively better course of compensatory processes and quick restoration of normal functional capacity of the bowels are histomorphologically substantiated in this paper.

The aim of the research - to determine histomorphologically the state of the mucous membrane of the large and small intestine depending on the method of ileotransverseanastomosis formation following resection of ileocecal angle.

Material and methods. Experiment was carried out on 19 mongrel dogs, who underwent resection of ileocecal angle. The animals were divided into two groups; basic and group of comparison group. Ileotransverseanastomosis was formed to the group of comparison according to the methods of Kimbarovsky and O.I. Ivashchuk (1997) and the own method was used (pat. № 85715) - to the basic group.

Sampling of the material was carried out on the 7th, 15th, and 30th day after operative intervention, as well as during anastomosis formation. Histomorphological anastomosis of the mucous membrane of the large and small intestines was carried out.

Discussion of the results. Resection of ileocecal angle results in probable lowering of optical density of PAS-positive glycocalyx staining, PAS-positive staining of the goblet cells and the number of the latter as all. The obtained results of investigation show probably higher indices in the basic group of animals against the group of comparison during the period of observation. Optic density of PAS-positive glycocalyx staining and PAS-positive staining of goblet cells of the mucosa membrane of the large intestine on the 30th day has incredible difference in comparison with indices before operation.

Conclusion. Formation of the suggested large - small intestinal anastomosis after removing ileocecal angle is characterized by higher optic density of PAS-positive glycocalyx staining, PAS-positive staining of goblet cells as well as the quantity of the latter in comparison with their nearest analogues that shows better course of compensatory processes and rapid restoration of the normal functional capacity of the bowels.

Key words: ileotransverseanastomosis, enterocytes, goblet cells.

Bukovyna State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №1 (51). - P.182-187.

Надійшла до редакції 01.02.2015

Рецензент – проф. Р.І. Сидорчук

© О.В. Чорний, О.І. Иващук, І.С. Давиденко,

В.Ю. Бодяка, 2015