

© Боднар О.Б., 2011

УДК 616.346.5:616.346-089-019

СТАН APUD-СИСТЕМИ КЛУБОВО-СЛІПОКИШКОВОГО СЕГМЕНТА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ

О.Б.Боднар

Кафедра дитячої хірургії та отоларингології (зав. – проф. Б.М.Боднар) Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. Проведено експериментальне моделювання первинної і вторинної недостатності ілеоцекального замикального апарату, резекції ілеоцекального відділу кишечника та ілеоцекальної інвагінації. Вивчено стан APUD-системи клубово-сліпокишкового сегмента при моделюванні його хірургічної патології.

Ключові слова: клубово-сліпокишковий сегмент, експеримент, APUD-система.

Хвороби клубово-сліпокишкового сегмента (КСС) посідають одне з провідних місць в абдомінальній хірургії дитячого віку. Розрізняють первинну (ПНЦЗА) і вторинну (ВНЦЗА) недостатність ілеоцекального замикального апарату, ілеоцекальну інвагінацію (ІЦІ), захворювання (пухлини, хвороба Крона, неспецифічний виразковий коліт, тотальна форма агангліозу при хворобі Гіршпрунга), які потребують резекції ілеоцекального відділу кишечника (ІВК) [1-5].

APUD-система (Amine Precursors Uptake and Decarboxylating system) – сукупність клітин із загальним ембріональним походженням, які здатні виробляти і нагромаджувати біогенні аміни та (або) пептидні гормони. Враховуючи, що майже половина клітин APUD-системи розташована в шлунково-кишковому тракті, її роль у розвитку захворювань КСС очевидна, проте її стан при хірургічній патології КСС у дітей практично не вивчений [6, 7].

Мета дослідження. Вивчити стан APUD-системи КСС при експериментальному моделюванні його патологічних станів.

Матеріал і методи. Експериментальні дослідження виконані на 150 інфантильних щурах лінії Wistar масою тіла 100 ± 20 мг. Під час експерименту дотримувалися міжнародних принципів Хельсинської декларації про гуманне

ставлення до тварин. Всі дослідження проводили на фоні внутрішньоочеревинного введення етамінату (40 мг/кг). Моделювали ПНЦЗА (25 щурів) та ВНЦЗА (25), проводили резекцію ІВК (25) та ІЦІ (25), транслокацію ІВК (25).

Техніка моделювання первинної недостатності ілеоцекального замикального апарату. На передній поверхні ілеоцекального переходу виконували поздовжній розріз з роз'єднанням серозно-м'язового шару баугінієвої заслінки (без ушкодження слизової оболонки). Розріз продовжували на сліпу та клубову кишки по 0,5 см. Пошарово зашивали операційну рану.

Техніка моделювання вторинної недостатності ілеоцекального замикального апарату. ВНЦЗА викликали шляхом моделювання спайкового процесу в ділянці КСС завдяки пошкодженню (щиткою) мезотелію вісцеральної очеревини в ділянці ілеоцекального кута аж до появи "кров'яної роси".

Техніка резекції ілеоцекального відділу кишечника. Після обробки операційного поля проводили нижню середню лапаротомію. В рану виводили ІВК. Виконували його мобілізацію шляхом лігування судин нитками vicril 4/0. Проводили резекцію ІВК з формуванням кукси товстої кишки безперервним та кисетним швами (vicril 5/0). Накладали ілеоасцендоанастомоз "кінець у

бік" однорядними вузловими інвертованими швами (PDS 6/0). Рану поширово зашивали.

Техніка моделювання ілеоцекальної інвагінації. Проводили нижню серединну лапаротомію. Через анальний канал у термінальний відділ клубової кишки на 2-3 см від ілеоцекального переходу вводили катетер Nelaton № 8, який фіксували проведеною попри брижові судини капроною ниткою (3/0) на його кінцевому отворі. Виконували зовнішню тракцію катетера, тим самим занурюючи клубову кишку в сліпу на глибину 2-2,5 см. Операційну рану накривали серветкою з хлоргексидином. Упродовж 30 хв розвивався набряк інвагіната. Катетер вилучали, виконували дезінвагінацію. Черевну порожнину поширово зашивали.

Техніка транслокації ілеоцекального відділу кишечнику. Проводили нижню серединну лапаротомію. В рану виводили ІВК. Пересікали клубову кишку (КК) на відстані 4 см від баугінієвої заслінки зі збереженням судин брижі. Формували дистальну куксу КК безперервним та кисетним швами (PDS 5/0). Пересікали висхідну ободову кишку на відстані 4 см від баугінієвої заслінки. Формували проксимальну куксу товстої кишки безперервним та кисетним швами (PDS 5/0). Відновлювали прохідність кишечнику шляхом накладання ілеоасцендоанастомозу "кінець у бік" між проксимальною ділянкою КК та дистальною ділянкою товстої кишки однорядними вузловими інвертованими швами (PDS 6/0). В рану виводили петлю порожньої кишки на відстані 8 см від дванадцятипалої кишки. Накладали анастомоз між порожньою та сліпою кишками вузловими інвертованими швами (PDS 6/0) до 0,3 см у діаметрі. Рану поширово зашивали.

Декапітацію шурів виконували через 30 діб після моделювання ПНЦЗА, ВНЦЗА, резекції ІВК та транслокації ІВК. Забій тварин після моделювання ІЦІ проводили через 4 год після дезінвагінації, що відповідало умовам гострого експерименту. Для морфологічного дослідження вирізали фрагменти клубової і сліпої кишок та власне ІВК з баугінієвою заслінкою. Зразки кишкової стінки фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Після традиційного проведення шматочки заливали в парафін. На ротаційному мікромомі виготовляли зрізи товщиною 3-5 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином.

Для виявлення секреторних гранул у цитоплазмі апудоцитів проводили реакції: 1) аргірофільну, яка заснована на здатності клітин нагромаджувати іони срібла з розчину, але металево срібло з'являється лише після додавання зовнішнього відновника; метод Гримеліуса, при якому продукт позитивної реакції відкладається в цитоплазмі у вигляді дрібних коричнево-чорних зерен; 2) аргентафінну, яка заснована на наявності в клітинах речовин, здатних самостійно відновлювати іони срібла з аміачного розчину до металевого срібла; реакція Массона в модифікації Гамперля, при якій аргентафінні речовини – темно-коричневі (інколи з різними відтінками) на жовтому фоні, ядра червоні.

Підрахунок кількості ендокринних клітин проводили за допомогою світлового мікроскопа Олутрис-СХ 41 шляхом визначення середньої кількості апудоцитів у 10 полях зору кожного зрізу при збільшенні $\times 200$. Статистичну обробку результатів проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента. Відмінності вважали статистично вірогідними при рівні надійності 0,05 і вище.

Результати дослідження та їх обговорення. У тварин контрольної групи ендокринні клітини (APUD-клітини), гранули яких забарвлюються сріблом за Гримеліусом та Масоном-Гамперлем, у залозах слизової оболонки представлені у великій кількості. Гранули розміщені як у базальній, так і в апікальній частині клітин. Вони мають різну форму, охоплюють більшу частину клітини, що свідчить про нормальну секреторну активність ендокринних клітин. Середня кількість апудоцитів у слизовій оболонці ілеоцекального кута в контрольній групі становила $326 \pm 16,8$.

При моделюванні ПНЦЗА у слизовій оболонці спостерігалось зменшення кількості APUD-клітин (рис. 1), які виявлялися лише в окремих залозах. Секреторні гранули цих клітин малі, охоплювали невелику частину клітин, тобто функціональна активність APUD-клітин була зниженою. Середня кількість апудоцитів у даній групі становила $82 \pm 4,8$, що значно менше, ніж в контрольній групі, але вірогідно більше, ніж в групі резекції ІВК ($p < 0,05$).

При моделюванні ВНЦЗА спостерігалось як зменшення кількості апудоцитів (рис. 2), так і зниження їхньої функціональної активності, про що свідчать розміри аргірофільних гранул.

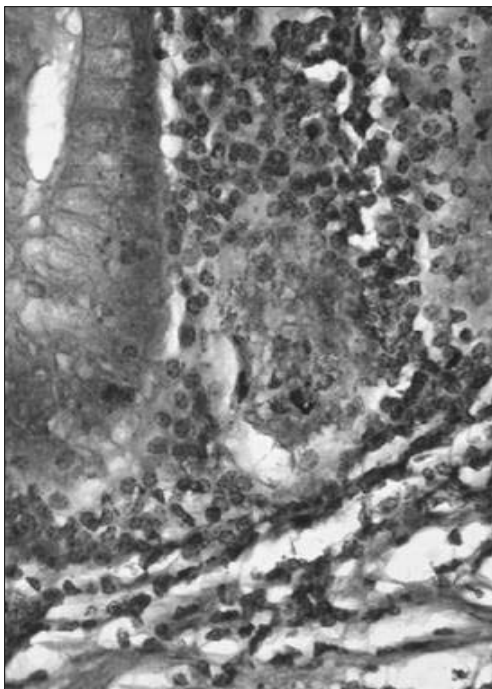


Рис. 1. Кишкова стінка з ділянки баугієвої заслінки на 30-ту добу після моделювання первинної недостатності ілеоцекального замикального апарату. Мала кількість апудоцитів з дрібними секреторними гранулами. Мікропрепарат. Забарвлення за методом Гримеліуса. Зб. 400[×].

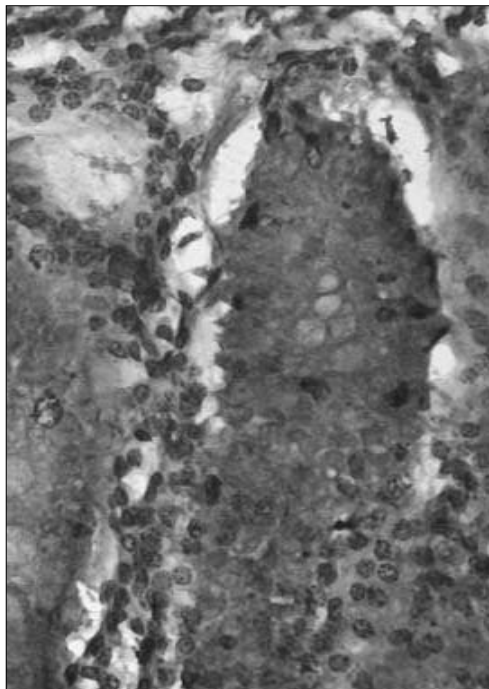


Рис. 2. Кишкова стінка з ділянки баугієвої заслінки на 30-ту добу після моделювання вторинної недостатності ілеоцекального замикального апарату. Мала кількість апудоцитів у залозах слизової оболонки. Мікропрепарат. Забарвлення за методом Гримеліуса. Зб. 400[×].

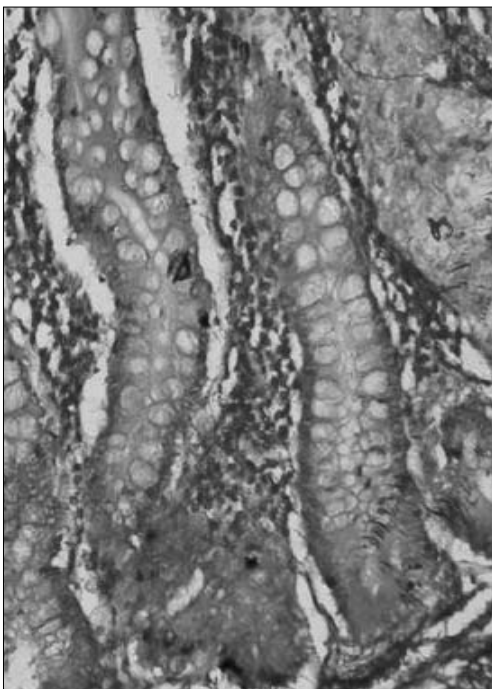


Рис. 3. Кишкова стінка з ділянки ілеоколоноанастомозу на 30-ту добу після резекції ілеоцекального відділу кишкового тракту. Істотне зменшення кількості апудоцитів, дрібні аргірофільні гранули. Мікропрепарат. Забарвлення за методом Гримеліуса. Зб. 400[×].

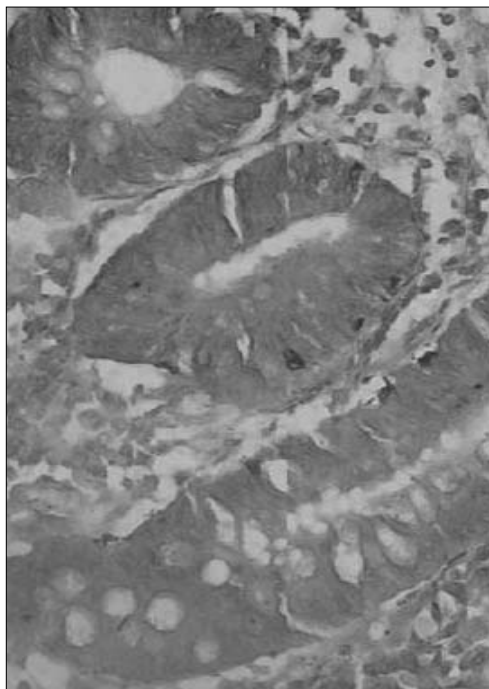


Рис. 4. Ілеоцекальна інвагінація (гострий експеримент). Кишкова стінка ілеоцекального кута через 24 години після дезінвагінації. Поодинокі апудоцити в залозах. Мікропрепарат. Забарвлення за методом Гримеліуса. Зб. 400[×].

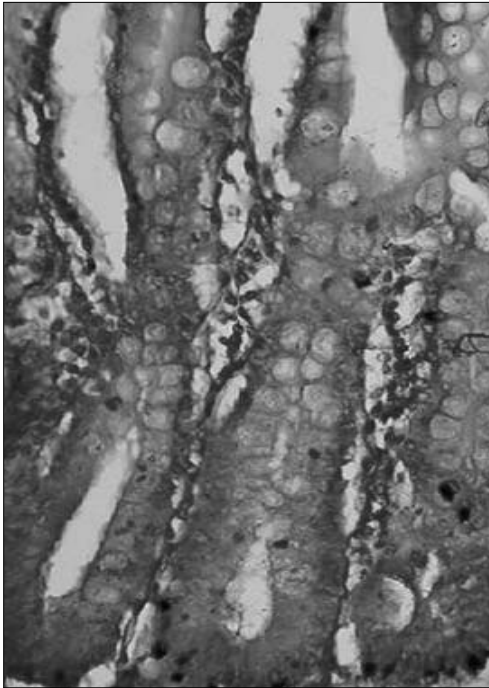


Рис. 5. Кишкова стінка ілеоцекального відділу на 30-ту добу після його транслокації. Помірна кількість апудоцитів у залозах слизової оболонки. Мікропрепарат. Забарвлення за методом Гримеліуса. Зб. 400 \times .

Кількість APUD-клітин у даній групі становила $62 \pm 8,4$, що вірогідно менше, ніж в контрольній групі.

При резекції ІВК спостерігається більш виражене зменшення кількості апудоцитів (рис. 3). Аргірофільні та аргентафінні гранули в них дрібні, заповнювали невелику частину клітини, тобто активність ендокринних клітин була значно зниженою. Середня кількість апудоцитів у слизовій оболонці ілеоколоноанастомозу становила $56 \pm 6,8$.

При ІЦІ виявлена майже повна відсутність APUD-клітин у залозах (рис. 4). Аргентафінна реакція за Масоном-Гамперлем не виявила апудоцитів у слизовій оболонці кишкової стінки, а при забарвленні за Гримеліусом лише в окремих залозах були виявлені поодинокі APUD-

клітини з невеликими базально розміщеними аргірофільними гранулами. Отже, морфофункціональна активність клітин APUD-системи у даній групі тварин була різко знижена за рахунок некрозу слизової оболонки. Слід зазначити, що у тих випадках, де некроз не був тотальним, у кишкової стінці збереглися ділянки слизової оболонки, а картина при забарвленні за Гримеліусом відрізнялася від аналогічного забарвлення в попередніх групах, в яких не спостерігалося некротичних змін – слизова була не жовтувато-помаранчевого кольору, а коричневого, оскільки слизова в стані переднекротичної стадії по-іншому сприймає барвник.

При транслокації ІВК у слизовій оболонці кишкової стінки виявлена помірна кількість апудоцитів (рис. 5), переважно в базальних відділах залоз, де клітини розміщені як окремо, так і групами. Середня кількість APUD-клітин становила $180 \pm 26,4$, що менше ніж у контрольній групі, але вірогідно більше в порівнянні з рештою серії експерименту.

Висновки. 1. Порушення анатомічної цілісності ілеоцекального відділу кишечника (моделювання первинної і вторинної недостатності ілеоцекального замикального апарату, його резекція) призводять до зменшення кількості апудоцитів та пригнічення APUD-системи. 2. При моделюванні ілеоцекальної інвагінації APUD-система ілеоцекального відділу кишечника зазнає найбільших змін, що пов'язано з некрозом слизової оболонки. 3. Транслокація ілеоцекального відділу кишечника супроводжується найменшими змінами в APUD-системі (відсутність порушення його анатомічної структури).

Перспективи наукового пошуку. На підставі проведених досліджень доцільно розробити та вивчити методи корекції порушень APUD-системи при моделюванні захворювань клубово-сліпокишкового сегмента в експерименті, що буде підставою для застосування їх в клінічній практиці.

Література

1. Гриценко С.М. Дивертикул Меккеля та його ускладнення в хірургії дитячого віку / С.М.Гриценко, М.І.Гриценко // Хірургія дит. віку. – 2006. – № 2. – С. 60-64.
2. Дронов А.Ф. Послеоперационные спаечные осложнения после лапароскопической хирургии у детей / А.Ф.Дронов, В.И.Котлобовский, А.Н.Смирнов [и др.] // Хирургия им. Н.И.Пирогова. – 2008. – № 10. – С. 54-59.
3. Клеменов А.В. Недостаточность баугиниевой заслонки как висцеральное проявление недифференцированной дисплазии соединительной ткани [Электронный ресурс] / А.В.Клеменов, В.Л.Мартынов, Н.С.Торгушина // Тер. арх. – 2003. – № 4. – Режим доступа до журн.: <http://www.medlit.ru/medrus/ta030444.htm>.
4. Сушко В.І. Дивертикул Меккеля у дітей /

В.І.Сушко, Є.І.Нагорний, О.М.Барсук [та ін.] // *Хірургія дит. віку.* – 2004. – № 4. – С. 20-23. 5. Щитинин В.Е. *Лечебная тактика при кишечной инвагинации в детском возрасте* / В.Е.Щитинин, М.И.Пыков, С.А.Коровин [и др.] // *Хирургия им. Н.И.Пирогова.* – 2008. – № 2. – С. 54-57. 6. Cervantes-Pahm S.K. *Ileal digestibility of amino acids in conventional, fermented, and enzyme-treated soybean meal and in soy protein isolate, fish meal, and casein fed to weanling pig* / S.K.Cervantes-Pahm, H.H.Stein // *J. Anim. Sci.* – 2010. – Vol. 20, № 5. – P. 39-44. 7. Ferro C.O. *Catalase activity in lung, kidney and small bowel non-ischemic in rats after intestinal reperfusion* / C.O.Ferro, V.L.Chagas, M.F.Oliveira [et al.] // *J. Rev. Col. Bras. Cir.* – 2010. – Vol. 37, № 1. – P. 31-38.

СОСТОЯНИЕ APUD-СИСТЕМЫ ПОДВЗДОШНО-СЛЕПОКИШЕЧНОГО СЕГМЕНТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Резюме. Проведено експериментальне моделювання первичної і вторичної недостаточності ілеоцекального замкательного апарата, резекції ілеоцекального відділа кишечника і ілеоцекальної інвагинації. Изучено состояние APUD-системы подвздошно-слепкишечного сегмента при моделировании его хирургической патологии.

Ключовые слова: подвздошно-слепкишечный сегмент, експеримент, APUD-система.

THE CONDITION OF THE APUD-SYSTEM OF THE ILEOCECAL SEGMENT IN EXPERIMENTAL PATHOLOGY

Abstract. Experimental modeling of primary and secondary insufficiency of the ileocecal obturative apparatus, resection of the ileocecal portion of the intestine and ileocecal invagination have been carried out. The state of the APUD-system of the ileocecal segment has been studied in case of simulating its surgical pathology.

Key words: ileocecal segment, experiment, APUD-system.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла 17.11.2010 р.
Рецензент – д. мед. н. В.В.Білокий (Чернівці)