

© Дусик А.В

УДК: 611.345:616.45-001.1/.3-089.878

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

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ТОВСТІЙ КИШЦІ ПІСЛЯ ЇЇ РЕЗЕКЦІЇ ТА ВПЛИВУ СТРЕС

Резюме. Відомо, що стресова відповідь на хірургічне втручання відповідальна за перебіг пери- та післяопераційного періоду. Стрес є одним з ключових чинників який впливає на морфологічний стан товстої кишки. В результаті експериментальної роботи було встановлено, що після 3 доби експерименту ерозивно-виразкові дефекти у 30 % тварин тільки з резекцією та у 60 % в групі тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом. Після 30 доби експерименту прогресуючі виразки та поверхневі ерозії слизової оболонки товстої кишки в зоні анастомозу спостерігали у 5 % та 10 % тільки в групі тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом.

Ключові слова: товста кишка, резекція, стрес.

Дусик А.В

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТОЛСТОЙ КИШКЕ ПОСЛЕ ЕЁ РЕЗЕКЦИИ И В УСЛОВИЯ СТРЕССА

Резюме. Известно, что стрессовый ответ на хирургическое вмешательство ответственный за ход пери- и послеоперационного периода. Стресс является одним из ключевых факторов влияющим на морфологическое состояние толстой кишки. В результате экспериментальной работы было установлено, что после 3 суток эксперимента эрозивно-язвенные дефекты в 30 % животных только с резекцией и у 60 % в группе животных с резекцией толстой кишки,

находившихся под стрессовым воздействием. После 30 суток эксперимента прогрессировали язвы и поверхностные эрозии слизистой оболочки толстой кишки в зоне анастомоза наблюдали в 5 % и 10 % только в группе животных с резекцией толстой кишки, находившихся под стрессовым воздействием

Ключевые слова толстая кишка, стресс, резекция.

Dusykh A.V.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN LARGE INTESTINE AFTER RESECTION AND STRESS

Summary. It is known that the stress response to surgical intervention is responsible for the course of the peri- and postoperative period. Stress is one of the key factors that affects the morphological state of the colon. As a result of the experimental work, it was found that after 3 days of the experiment erosive ulcerative defects were observed in 30% of animals only with resection and 60 % in the group of animals with resection of the colon, which were under stressful influence. After 30 days of the experiment, progression of ulcers and surface erosion of the colon in the anastomosis zone was observed in 5 % and 10 % of the only group of animals with resection of the large intestine that was under stressful influence.

Key words: colon, stress, resection of the colon.

Вступ

Малоінвазивність, висока ефективність та короткий термін післяопераційної реабілітації є основними завданнями хірургії на сьогоднішній день. Все це досягається шляхом використання інноваційних хірургічних технологій, спрямованих на малоінвазивність та оптимізацію лікування [4, 5]. Вперше в світі на можливість суттєвого покращання результатів оперативного втручання, використовуючи дані принципи, звернув увагу Н. Kehlet [3, 8]. Основним постулатом “fast track” хірургії є значне зменшення стресової відповіді організму пацієнта на хірургічну травму. Відомо, що стресова відповідь на хірургічне втручання відповідальна за перебіг пери- та післяопераційного періоду [2, 4, 7]. Стрес є одним з ключових чинників який впливає на

морфологічний стан товстої кишки [6]. Механізм впливу стресу – комплексний, проте його основна складова пов'язана з дією стрес – гормонів [3,9].

Метою нашого дослідження є вивчення морфологічних змін в товстій кишці після її резекції та впливу стресу.

Матеріали та методи

Експеримент був виконаний на 54 білих лабораторних статевозрілих нелінійних щурах-самцях на базі науково-експериментальної клініки Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова масою 200-250 г. Першій групі тварин проводили резекцію товстої кишки за стандартною методикою, в другій групі тварин після проведення резекції моделювали хронічний стрес. Найбільш розповсюджена та доступна модель хронічного стресу – іммобілізація. Хронічний стрес у щурів відтворювали їх щоденної п'яти годинної іммобілізації. Для цього тварин щоденно протягом 30 днів на 5 годин ставили в пластикові пенали. Тварин обох груп виводили з дослідження на 3, 14, 30 добу експерименту. Евтаназію проводили під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) шляхом дислокації шийних хребців. Утримання тварин та експерименти проводились відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та відповідно закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3446 від 21.02.2006 р.) Препарати готували за стандартною методикою. Гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксиліном і еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, основним коричневим за Шубічем, комбінацією основного коричневого та міцного зеленого барвника, ШИК-реакції з альціановим синім [1]. Мікроскопію і фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 при збільшеннях у 40, 100, 200 і 400 разів. Отримували і обробляли знімки, проводили морфометрію та статистичну

обробку за допомогою програми «Quick PHOTO MICRO 2.3». Вміст і типування клітинних елементів визначали в 10 полях зору при збільшенні 400x з розрахунку на одиницю умовної площі ($S=0,01 \text{ мм}^2$) з наступним перерахунком на 1 мм^2 площі.

Результати. Обговорення

У групі тварин, яким була виконана тільки резекція в зоні анастомозу вже після третьої доби спостереження реєстрували ерозивно-виразкові дефекти слизової оболонки (СО) товстої кишки у 30 % піддослідних тварин. Поверхневий епітелій в краях виразок був десквамований, фрагментований з дистрофічними змінами та вакуолізацією цитоплазми, пікнозом та хаотичним розташуванням ядер. У субепітеліальних відділах відмічали набряк та лейкодіapedез. Ближче до виразкового дефекту дегенеративні зміни епітелію наростали та в зоні виразки були представлені зоною ексудації з некротизованим епітелієм у вигляді гомогенної безструктурної маси з домішками поліморфноядерних лейкоцитів (ПЯЛ) і невеликою кількістю лімфоїдних елементів. Глибше спостерігали ділянки ШИК-позитивного фібриноїдного некрозу, що проникали на всю товщу власної пластинки (рис. 1).

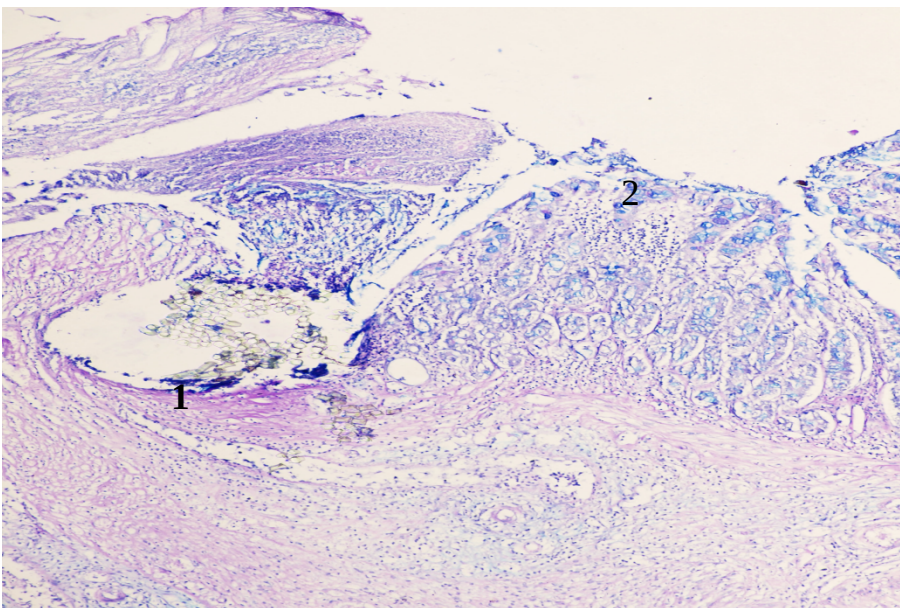


Рис. 1. Стінка товстої кишки щура. Група тварин з резекцією. 3 доба спостереження. Зabarвлення. ШИК-реакція з альціановим синім Ок*10, об * 10.

ШИК-позитивний фібриноїдний некроз в дні виразкового дефекту, що проникає до базальних відділів власної пластинки СО товстої кишки - 1. Редуція муцинів в поверхневому епітелію, що оточує виразку -2.

По периферії анастомозу спостерігали значну поліморфноклітинну інфільтрацію з перевагою лейкоцитарних елементів. Цитоплазма залозистих клітин була однорідна, базофільна. Більша частина ядер гіперхромна, місцями пікнотична та фрагментовна. За даними морфометричного аналізу в цей період дослідження в зоні анастомозу переважали сегментоядерні лейкоцити $2266 \pm 135,4$ з розрахунку на 1 мм^2 (табл. 1).

У власній пластинці СО товстої кишки часто спостерігали запальну інфільтрацію, характер якої був різноманітний, проте переважали нейтрофільні лейкоцити, в ділянках виразкових дефектів вона розповсюджувалася до серозного шару місцями розшаровуючи м'язові волокна з втягненням всіх шарів кишкової стінки та домішками лімфоцитів, макрофагів та плазматичних клітин.

Таблиця 1. Щільність розташування клітинних елементів власної пластинки слизової оболонки товстої кишки в зоні анастомозу на третю добу експерименту (з розрахунку на 1 мм^2)

Експериментальні групи	Клітинний склад					
	ПЯЛ	Макрофаги	Лімфоцити	ПЛ	ТБ	ФБ
Резекція	$2266 \pm 135,4$	$730 \pm 70,0$	$690 \pm 61,8$	$600 \pm 57,7$	$580 \pm 67,9$	$710 \pm 52,6$
Резекція + стрес	$2710 \pm 158,1$	$840 \pm 40,0$	$730 \pm 49,5$	$710 \pm 48,1$	$730 \pm 42,3$	$810 \pm 51,5$

Примітки: 1. ПЯЛ - поліморфноядерні лейкоцити; 2. ПЛ – плазмоцити; 3. ТБ - тканинні базофіли; 4 - ФБ - фібробласти;

Підслизова основа з набряком, поряд із запальною інфільтрацією має вогнищеві крововиливи. У щурів даної групи в зоні накладених швів анастомозу визначали набряк та повнокрів'я СО товстої кишки. У м'язовому шарі реєстрували міоліз

м'язових волокон з розшаруванням їх запальними елементами. В серозній оболонці також спостерігали периваскулярний набряк, повнокрів'я судин та лейкоцитарну інфільтрацію.

У щурів з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом на третю добу експерименту реєстрували більш інтенсивну запальну реакцію в порівнянні з іншими групами тварин. Кількість лейкоцитів ($2710 \pm 158,1$), макрофагів ($840 \pm 40,0$) і лімфоцитів ($730 \pm 49,5$) на 1 мм^2 збільшувалася в зоні накладених швів (див. табл. 1), часто вони виявлялися у всіх шарах СО товстої кишки. У м'язовому шарі тривав міоліз м'язових волокон. Ерозивні-виразкові дефекти відмічали у 60 % піддослідних тварин, поряд з описаними вище змінами, характерними для виразкових дефектів в просвіті вен, венул та артеріол спостерігали формування еритроцитарно-фібринових та змішаних тромбів. У серозній оболонці та м'язовому шарі, поряд із запальною інфільтрацією, при забарвленні альціановим синім відмічали збільшення кількості кислих сіаломуцинів (рис. 2).

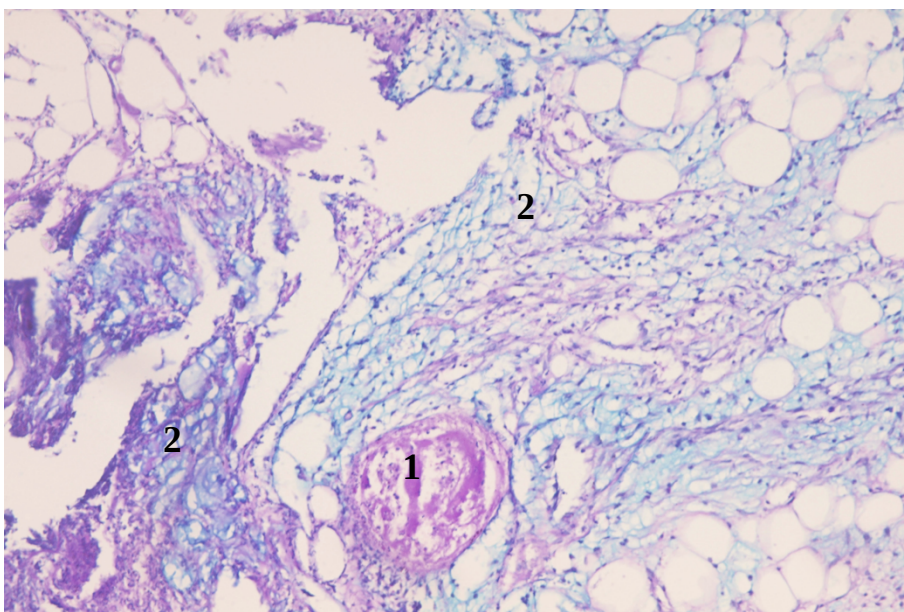


Рис. 2. Стінка товстої кишки тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом на 3 добу експерименту. Забарвлення ШИК-реакція з альціановим синім Ок.*10, об. * 20.

1 - Змішаний тромб в просвіті венули серозної оболонки товстої кишки. 2 - Збільшення кількості кислих сіаломуцинів (синього кольору).

Деструктивні зміни в ділянці дна виразкових дефектів, де виявлено товстий ШИК-позитивний пласт некрозу, розповсюджувалися до базальних відділів та підслизової основи, м'язова пластинка СО в дні виразки була завжди зруйнована. У дні виразки, переважно на межі з оточуючою СО відзначалася густа інфільтрація нейтрофільними лейкоцитами, серед клітинного інфільтрату виявляли також макрофаги і лімфоцити. Макрофаги були округлої або неправильно овальної форми, різні за величиною, ядро їх розташовано ексцентрично, з помірною базофілією. Цитоплазма клітин вакуолізована, містить еозинофільний матеріал. Судинна реакція проявлялася повнокрів'ям та діapedезними крововиливами. Поряд з лейкоцитарною та макрофагальною інфільтрацією слід підкреслити достовірне збільшення кількості тканинних базофілів (ТБ) у СО товстої кишки у тварин з резекцією та під впливом стресу – $730 \pm 42,3$; $p < 0,001$, у порівнянні з резекцією (див. табл. 1).

На 14 добу експерименту найбільш виразні зміни були виявлені в групі піддослідних тварин, що підлягали резекції та одночасно зазнавали стресового впливу. Так поверхневі ерозії в зоні анастомозу виявлено у 30 %, виразки у 40 %. У порівнянні епітелізація виразок спостерігалися тільки у 10 % щурів в групі з резекцією та одночасно зазнавали стресового впливу, проте як в групі резекції без стресового впливу у 20 %. У щурів, що підлягали резекції та резекції з одночасним впливом стресу поверхневі ерозії характеризувалися утворенням зони фібриноїдного некрозу поверхневих епітеліоцитів з лімфо-лейкоцитарною інфільтрацією по периферії. Поряд з цим глибина виразок зменшувалася за рахунок потоншення зони гнійного ексудату та фібриноїдного некрозу (рис. 3). Під тонким шаром фібриноїдного некрозу виявляли грануляційну тканину з типовим розташуванням її капілярів (переважно перпендикулярно до поверхні виразки), з різко набряклими ендотеліальними клітинами.

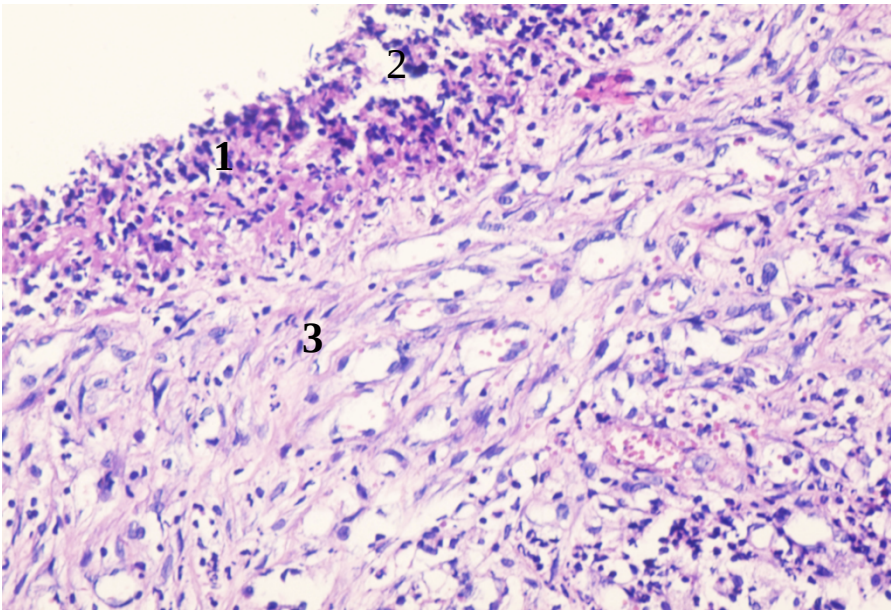


Рис. 3. Стінка товстої кишки тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом на 14 добу експерименту. Забарвлення гематоксилін й еозин. Ок.*10, об. * 20

Тонкий шар фібриноїдного некрозу – 1, гнійного ексудату – 2, з підлеглою грануляційною тканиною – 3.

Після 30 доби спостереження в групі щурів, яким була проведена тільки резекція деструктивні зміни СО товстої кишки не були характерними. В групі тварин, що підлягали резекції та одночасно зазнавали стресового впливу у 5 % щурів не дивлячись на місячний термін спостереження реєстрували прогресуючі виразки анастомозу та у 10 % поверхневі ерозії. У виразках, що загоювалися шар грануляційної тканини був більш виражений, товщина шару некрозу зменшувалася, інколи повністю зникала. В прогресуючих виразках з перевагою деструктивних змін інколи шар грануляційної тканини був повністю або частково зруйнований та некроз розповсюджувався на підлеглу рубцеву тканину з великою кількістю ПЯЛ, лімфоцитів, макрофагів та лімфоцитів (рис. 4).

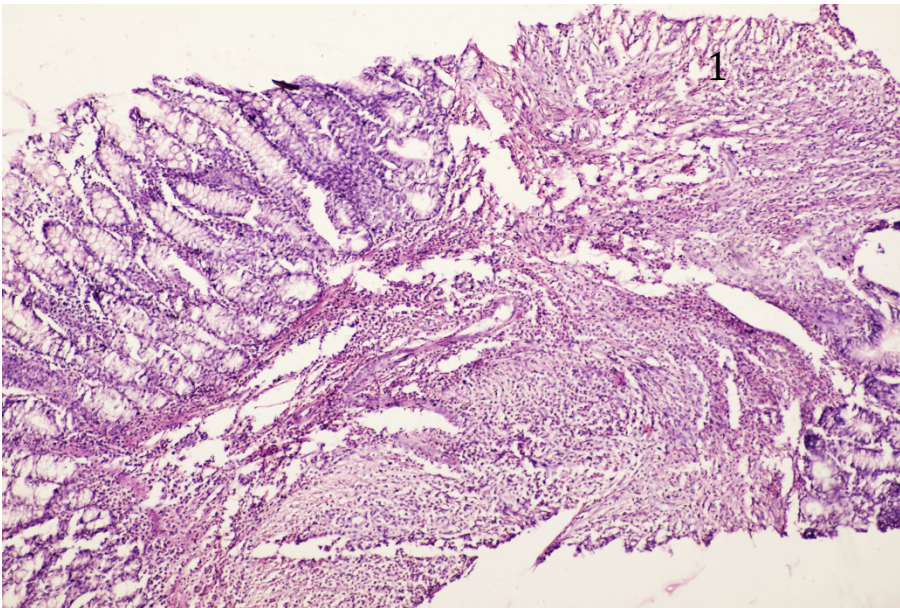


Рис. 4. Стінка товстої кишки тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом на 30 добу експерименту. Забарвлення гематоксилін й еозин. Ок.*10, об. * 10

Прогресуюча виразка анастомозу товстої кишки - 1.

Лімфо-лейкоцитарна інфільтрація СО товстої кишки місцями поширювалася на м'язову пластинку з розповсюдженням у підслизову основу. Власна м'язова пластинка вогнищево була потовщена за рахунок гіпертрофічних змін міоцитів. В групі експериментальних тварин тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом у 50 % та 70 % щурів відповідно після 1-го місяця спостереження відбувалося значне вкорочення та потовщення крипт з їх згладжуванням, розширенням, кістоподібною трансформацією, нерівномірним розподілом крипт із зменшенням слизоутворення, а також вогнищевим склерозом підслизового та м'язового шару. У власній пластинці СО та підслизовій основі товстої кишки спостерігали чисельну перевагу фібробластів, що підтверджувалося даними морфометрії (табл. 2).

Таблиця 2. Щільність розташування клітинних елементів власної пластинки слизової оболонки товстої кишки в зоні анастомозу на 30 добу експерименту (з розрахунку на 1 мм²)

Експер	Клітинний склад					
	ПЯЛ	Макрофа	Лімфоцит	ПЛ	ТБ	ФБ

имента льні групи		ги	и			
Резекц ія	760 ± 47,6	650±63,7	890±31,4	840±52,1	450±77,8	900±36,5
Резекц ія + стрес	850 ± 99,2	680±48,9	960±49,8	880±62,8	590±82,3	980±32,6

Після 30 діб спостереження в групі тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом було збереження гістологічної архітекτονіки СО дистального відділу товстої кишки попри прогресування атрофічних змін. Ця група спостережень характеризувалася наростанням однотипності морфологічного процесу: зменшенням числа, глибини, зміною форми крипт з значним переважанням низьких широких і сплюснених. Поверхневий епітелій кубічної був навіть плоскої форми. Це проявляється у вираженому згладженні СО товстої кишки за рахунок різкого сплюснення міжкрипталних сполучнотканинних прошарків.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. За нашими даними після 3 доби експерименту ерозивно-виразкові дефекти СО товстої кишки при резекції товстої кишки з накладанням анастомозу кінець в кінець виникали у 30 % тварин тільки з резекцією та у 60 % в групі тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом.
2. Після 14 доби експерименту ерозивно-виразкові дефекти СО товстої кишки прогресували в групах тварин з резекцією та тварин тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом 30 та 40 % відповідно.
3. Після 30 доби експерименту прогресуючі виразки та поверхневі ерозії СО товстої кишки в зоні анастомозу спостерігали у 5 % та 10 % тільки в групі тварин з резекцією товстої кишки, які знаходилися під стресовим впливом.

Перспективою подальших розробок є розробка покращення морфологічних змін товстої кишки в умовах застосування програми “fast track” хірургії.

Список посилань

1. Автандилов ГГ. Основы количественной патологической анатомии. Москва: Медицина; 2002. 240 с.
2. Бойко ВВ, Леонов ІА, Тарабан ІА. Неспроможність кишкових швів Харківська хірургічна школа. 2013;63(6): 5-8.
3. Овечкін АМ. Хірургічна стрес-відповідь її патологічна значимість і спосіб модуляції. Регіональна анестезія і лікування гострого болю. 2008;2:34-39.
4. Щепотин ІБ, Колесник ЕА, Лукашенко АВ. Перспективы использования мультимодальной программы «Fast track surgery» в хирургическом лечении опухолей органов брюшной полости. Клиническая онкология. 2012;1(5):22-32.
5. Стеценко ОП. Використання принципів «Fast track» в хірургічному лікуванні захворювань товстої кишки - перший досвід. Український журнал малоінвазивної та ендоскопічної хірургії. 2016;20(1):32-36.
6. Barun K, Choudhury. Norepinephrine mediates the transcriptional effects of heterotypic chronic stress on colonic motor function. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. 2009;296(6):1238-47.
7. Jun-hua Zhao, Jing-xu Sun, Peng Gao Fast-track surgery versus traditional perioperative care in laparoscopic colorectal cancer surgery: a meta-analysis. BMC Cancer. 2014;14(1):607-619.
8. Kehlet H, Wilmore DW. Evidence-based surgical care and the evolution of fast-track surgery. Ann Surg. 2008;248(2):189-198.
9. Scaldaferri F, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: progress and current concepts of etiopathogenesis. J. Dig. Dis. 2007;128(8):171-8.

Рецензент – д.мед.н., проф. Костюк Г.Я

Стаття надійшла до редакції

Дусик Андрій Володимирович – к.мед.н., доцент кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; 0432-353379; dusikandriy@gmail.com