

МОДЕЛИРОВАНИЕ ХИРУРГИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ ПРИ БОЛЕЗНИ ГИРШПРУНГА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИХ НЕДОСТАТКОВ

Новицкая С. К.^{1,2}, Дегтярев Ю. Г.^{1,3}

¹Государственное учреждение образования
«Белорусская академия последипломного образования»,
г. Минск, Республика Беларусь;

²Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр детской хирургии»,
г. Минск, Республика Беларусь;

³Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Для установления причин неудовлетворительных результатов после лечения болезни Гиршпрунга была разработана экспериментальная модель операции. Она осуществлялась путем прерывания парасимпатической иннервации дистального отдела толстой кишки. В дальнейшем проводилась оценка функциональных и морфологических изменений желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). В результате проведенного эксперимента установлено, что в условиях экстрамуральной денервации терминальной части толстой кишки сохраняется возможность рефлекторных взаимодействий между подвздошной и денервированной ободочной кишки. При гистохимическом исследовании собственной пластинки слизистой оболочки установлено увеличенное накопление ацетилхолинэстеразы в лишенной иннервации кишке, что объясняется ее денервацией и ишемией.

Ключевые слова: болезнь Гиршпрунга, экспериментальная модель операции, парасимпатическая иннервация, гистохимическое исследование, ацетилхолинэстераза.

Введение. Болезнь Гиршпрунга — первичная нейронная кишечная дисплазия, морфологическим проявлением которой является сужение пораженного участка кишки, распространяющееся в каудальном направлении вплоть до анального отверстия (сопровождается гипертрофией предлежащей нормально иннервированной кишки) и клинически проявляющееся упорными хроническими запорами, вплоть до полной непроходимости. Основная цель радикальной операции — резекция суженного аганглионарного и расположенного выше гипертрофированного участка кишки с низведением на промежность предварительно мобилизованной нормально иннервированной кишки при максимальном сохранении мышечного аппарата анальных сфинктеров и структуры анального канала. С момента начала оперативного лечения прошло более 100 лет и за это время предложены различные операции, разработанные в соответствии с уровнем развития анатомии, хирургии, анестезиологии. В настоящее время «золотым стандартом» лечения является трансанальное низведение кишки. Операция является эффективной в большинстве случаев

и может быть выполнена в периоде новорожденности. В ГУ «РНПЦ детской хирургии» выполняется с 2010 г. Несмотря на множество предложенных методов лечения в послеоперационном периоде часто отмечаются неудовлетворительные результаты: запоры отмечаются у 25 % детей после трансректального низведения толстой кишки и у 17 % пациентов, оперированных способами Дюамеля [1].

При любом виде операции возникает нарушение иннервации кишки при ее мобилизации и низведении. При изучении отдаленных результатов установлено, что после операции у детей возникают длительные запоры (стул отсутствует по 5–7 суток), угнетаются позывы на дефекацию. В литературе отсутствуют сведения об изменении механизмов регуляции моторики кишки в подобных условиях. Неизвестно, как происходит функционирование кишки как единого целого органа и какова роль его отдельных компонентов. В связи с этим мы решили провести экспериментальные исследования.

Для установления причин неудовлетворительных результатов после лечения была разработана экспериментальная модель операции.

Она осуществлялась путем прерывания парасимпатической иннервации дистального отдела толстой кишки. В дальнейшем проводилась оценка функциональных и морфологических изменений ЖКТ.

Цель работы — изучение ранних и отдаленных системных функциональных и морфологических изменений желудочно-кишечного тракта с помощью экспериментального моделирования операций, вариантов осложнений и неблагоприятных отдаленных последствий; изучение механизмов нервно-рефлекторных взаимодействий при создании модели экстрамуральной денервации и стеноза нисходящей ободочной кишки.

Материалы и методы. Экспериментальная работа осуществлена на базах центральной научно-исследовательской лаборатории Белорусского государственного медицинского университета и института физиологии НАН Республики Беларусь. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с правилами,

утвержденными Министерством здравоохранения СССР 6 июля 1973 г., и в соответствии с Директивой Совета ЕС от 24 ноября 1986 г. по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС), в индивидуальных клетках при температуре 18–22 °С, 12 ч — свет, 12 ч — темнота. Был установлен режим проветривания, обеспечивающий смену 15 объемов помещения в час, концентрацию CO₂ не более 0,15 объемных процентов. Использовали белых самцов крыс линии Вистар массой от 330 до 350 г. Животные получали стандартный пищевой рацион (ПК–120–1) и воду, соответственно ГОСТу «Вода пищевая» 2874-82. Эксперименты проводили согласно протоколу испытаний, который был одобрен комитетом по этике БГМУ.

Создавали модель операции Де ла Торре путем прерывания парасимпатической иннервации дистального отдела толстой кишки из S2-S4 (рисунок 1).

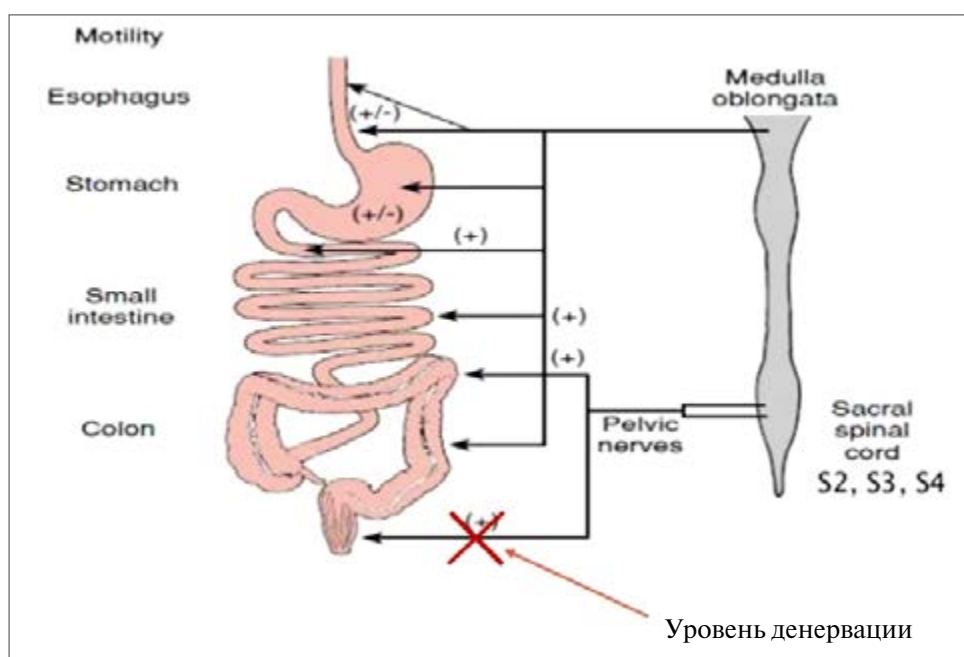


Рисунок 1 — Схема парасимпатической иннервации

Методика операции: осуществляли разрез, отступая 3 мм от слизисто-кожного перехода по задней полуокружности кожно-слизистого перехода прямой кишки. С помощью зажима мобилизовали кишку на расстоянии 3 см по задней стенке кишки до переходной складки брюшины, пересекая нервный ствол, прерывая иннервацию S2-S4 от спинного мозга к стенке кишки. Осуществляли гемостаз. Операционная рана по-

слойно ушивалась отдельными узловыми швами. Время операции составила 15 ± 4 мин. Животные были разделены на две группы: первая с созданной экспериментальной моделью операции Де ля Торре, вторая — контрольная группа здоровых животных. Были соблюдены одинаковые условия проживания и одинаковое питание. Обе группы животных были адаптированы к контакту с человеком и приучены к

нахождению в руках. Фиксировали общее состояние животных, измеряли кратность актов дефекации, объем и характер каловых масс. Условия проживания обеих групп животных и их количество также были идентичными, что позволило оценить их поведенческие особенности.

Через три недели животных выводили из эксперимента, проводили гистохимическое исследование активности ацетилхолинэстеразы в разных отделах толстой кишки.

Моделирование стеноза толстой кишки. Модель стеноза выполнена на крысах по следующей методике: после лапаротомии в 4 см от прямой кишки сквозь разрез брюшной полости вблизи стенки нисходящей ободочной кишки проводили силиконовую полоску шириной 2 мм. Соединяли нитью концы полоски, формируя кольцо, свободно вращающееся вокруг

кишки. Диаметр кольца формировали на 1–2 мм больше диаметра кишки для того, чтобы данный зазор частично сохранял естественную ее проходимость. Острые опыты проводили через 9–14 дней после указанных операций. Во время них регистрировали потенциалы гладких мышц (ПГМ) подвздошно-толстокишечного комплекса.

Результаты и их обсуждение. При моделировании низведения кишки на промежность животные наблюдались в течение трех недель. Экспериментальная группа животных вела себя беспокойно, животные часто прятались в угол клетки, избегали контакта с человеком, легкие касания боковой поверхности живота вызывали писк и беспокойство. Попытки взять экспериментальное животное в руки сопровождались выраженным нежеланием. Поведенческие реакции животных отражены в таблице 1.

Таблица 1 — Физиологические данные экспериментальной и контрольной групп животных

Критерий	Группа 1 (эксперимент) (n = 3)	Группа 2 (контроль) (n = 3)
Общее состояние	Защитная реакция: избегают контакта с человеком, на руках сидят неохотно, при касании пищат	Активные, поведение спокойное
Стул (длина, консистенция)	0,7–0,8 см Неплотный, глинообразный	0,3–0,5 см Плотный, оформленный

У животных первой группы отмечался несформированный, глинообразный характер кала, объясняемый обтеканием сформированного плотного калового камня, у животных контрольной группы при одинаковом характере кормового и пищевого режимов стул был плотной консистенции. Эти данные указывают на нарушение функции и растяжение нижних отделов толстой кишки у экспериментальной группы животных. Для объективизации результатов проводился подсчет каловых комочков и измерялись их размеры (длина). Установлено, что у животных первой группы среднее количество кала в сутки составило $37,25 \pm 7,8$ ед., а у животных контрольной — $44 \pm 16,2$ ед. ($p > 0,005$). Усредненная длина каловых масс у экспериментальных животных была 0,7 см, у контрольной — 0,5 см ($p > 0,005$).

Для выяснения нарушения механизма пассажа кишечного содержимого животные через три недели выводились из эксперимента. При вскрытии животных установлено: каловые массы в экспериментальной группе животных были расположены на протяжении $5 \pm 1,4$ см во всей терминальной части толстой кишки (в

контрольной группе — на расстоянии $2 \pm 0,7$ см ($p > 0,005$).

Отмечалось увеличение в диаметре дистальных отделов толстой кишки у экспериментальных животных $0,9 \pm 0,3$ см на 30 % по сравнению с контрольной группой $0,4 \pm 0,2$ см ($p > 0,005$) животных.

Проводилось гистохимическое исследование биопсийного материала (стенка дистального отдела толстой кишки) для изучения активности ацетилхолинэстеразы. При гистохимическом исследовании собственная пластинка слизистой оболочки была пронизана густой сетью АХЭ-позитивных сплетений с высокой активностью фермента. Установлено, что накопление ацетилхолинэстеразы в смоделированной, лишенной иннервации кишке значительно больше, чем в нормально иннервированном участке толстой кишки.

В результате проведенного исследования можно обозначить, что полученные морфологические изменения в денервированном участке толстой кишки, в том числе подтвержденные гистохимическим методом, имеют сходство с болезнью Гиршпрунга. Что под-

тверждено и клиническими экспериментальными данными — более редкий и плотными каловыми массами.

Во второй серии эксперимента для изучения механизмов физиологического функционирования пассажа содержимого по нижним отделам желудочно-кишечного тракта проводились запись потенциалов гладких мышц между подвздошной и толстой кишкой (ПГМ). В контрольной группе ПГМ подвздошно-толстокишечного комплекса во всех опытах были представлены высокоамплитудными медленными волнами (иногда с наложенными спайками) в подвздошной кишке и медленными волнами меньшей амплитуды, но более продолжительными с периодически возникающими длительными вспышками пиковых разрядов высокой амплитуды в нисходящей ободочной кишке.

Для изучения тонкотолстокишечного взаимодействия стимулировали перистальтику аппликацией ацетилхолина (АЦХ) нейромедиатором, осуществляющим нервно-мышечную передачу, стенку толстой и тонкой кишки. В 10 (100 %) опытах установлено, что аппликация ацетилхолина (АЦХ) на серозную оболочку подвздошной кишки вызывала в 8 (80 %) случаях местное торможение. Одновременно регистрируемые в толстой кишке ответы в семи (70 %) случаях приводили к усилению сокращений гладкой мускулатуры кишки. Напротив, стимуляция холиномиметиком толстой кишки сопровождалась в шести (60 %) случаях местным увеличением амплитуды ПГМ, тогда как проксимальнее, в подвздошной кишке, ответ был преимущественно в виде торможения у семи (70 %) животных. Таким образом, если при раздражении подвздошной кишки в ободочной кишке наблюдали чаще стимулирующий эффект, тогда как в обратном направлении (с ободочной на подвздошную) в большем числе проб отмечен тормозной рефлекторный ответ.

В следующей серии опытов на фоне сформировавшегося мегаколона подвздошно-толстокишечные медленные потенциалы, в отличие от контроля, сопровождались высокоамплитудными вспышками спайковых потенциалов, свидетельствующих о мощных сокращениях, растянутых, наполненных кишечным содержимым петель. В толстой кишке медленные волны либо отсутствовали, либо были низкоамплитудными с наложенной спайковой высокоамплитудной активностью.

Опыты показали, что аппликация АЦХ на нерасширенную (дистальнее преграды) тол-

стую кишку приводит к увеличению амплитуды ПГМ гипертрофированного участка восходящей ободочной и подвздошной кишки в 8 (80 %) случаях. Наложение полоски, пропитанной холиномиметиком, на расширенную подвздошную кишку сопровождалось усиленным в 8 (80 %) случаях ответом нормального (нерасширенного) участка толстой кишки и неопределенной реакцией, гипертрофированной восходящей ободочной кишки, обусловленным разнонаправленностью изменений моторики, что отражено на схеме (рисунок 2).

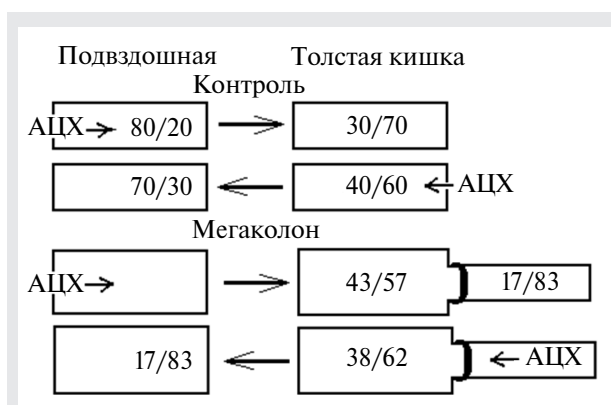


Рисунок 2 — Схема развития реакций подвздошной и толстой кишки на действие ацетилхолина (АЦХ — область аппликации холиномиметика (цифрами обозначено соотношение тормозящих (слева) и возбуждающих реакций, %)

На рисунке представлена схема развития реакций подвздошной и толстой кишки на действие ацетилхолина. Большими стрелками обозначено направление развития рефлекторных реакций в пределах подвздошно-толстокишечного комплекса. В контроле у здоровых крыс при воздействии АЦХ на подвздошную кишку отмечали дистальнее стимулирующий эффект, тогда как в краниальном направлении, с ободочной на подвздошную, наблюдали торможение. В условиях мегаколона и денервации толстой кишки регистрируется повышенная миоэлектрическая активность гипертрофированной (толстой) и расширенной (подвздошной) кишки. Как спонтанная активность, так и ответы на стимуляцию холиномиметиком характеризовались местно и отдаленно увеличением амплитуды ПГМ (главным образом, пиковых), а в составе фазовых эффектов преобладало усиление.

На рисунке 3 представлены результаты формирования гипертрофированной толстой кишки.

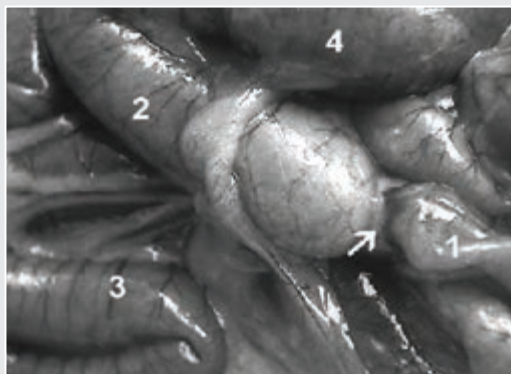


Рисунок 3 — Макроморфологическая картина подвздошно-толстокишечного фрагмента

Стрелка указывает на пережимающее кольцо. Проксимальнее последнего расположен расширенный участок толстой кишки (2) ниже — спавшийся участок нисходящей кишки. Слепая (4) и подвздошная кишка (3) расширены (14-е сутки после операции формирования окклюзии).

Толщина и диаметр просвета кишки крысы подвергаются увеличению проксимальнее искусственной преграды из-за гипертрофии и гиперплазии гладкой мускулатуры. Наблюдали также увеличение размера гладкомышечных клеток, уменьшение плотности иннервации гипертрофированной кишки, неоангиогенез и гипертрофию энтеральных и сенсорных (дорсальные корешковые ганглии) нейронов.

Взаимодействие и координация ПГМ между подвздошной и ободочной кишкой в условиях экстрамуральной денервации кишки привели к предположению о том, что экстрамуральные кишечные нервы не играют главную роль в гипертрофии кишечной мышцы, а интактная интрамуральная нервная система в этих условиях обеспечивает перистальтические рефлексы в полном объеме [2].

Запись изменения амплитуды потенциалов гладких мышц при раздражении АЦХ восходящей ободочной кишки и рефлекторный ответ подвздошной кишки на это воздействие у крыс с обструктивным мегаколоном представлена на рисунке 4.

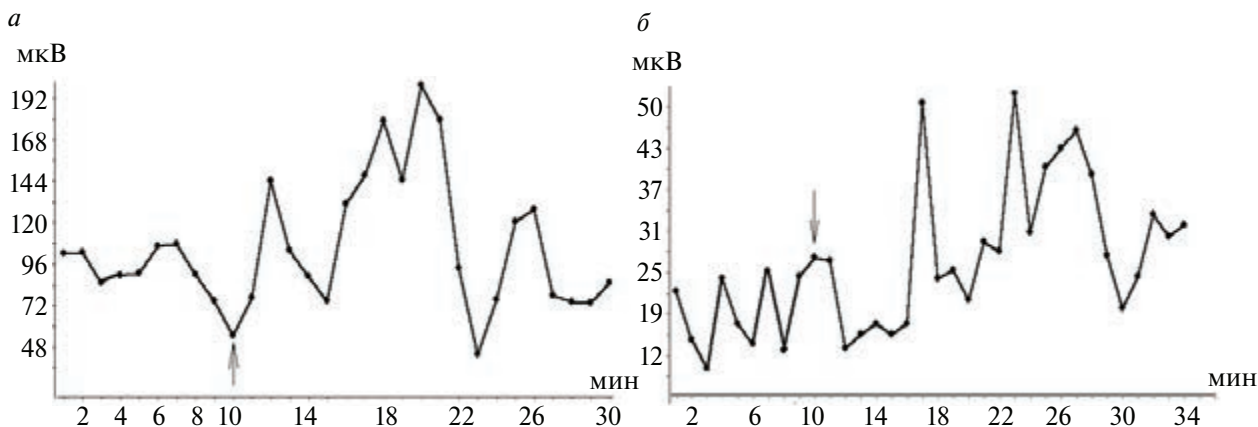


Рисунок 4 — Амплитуда потенциалов гладких мышц: а — ободочная кишка; б — подвздошная кишка (Стрелка «вверх» указывает момент нанесения раздражения, а стрелка «вниз» — на рефлекторный ответ подвздошной кишки.)

Полученные в экспериментальных исследованиях на крысах данные свидетельствуют, что в условиях денервации терминальной части толстой кишки сохраняется возможность рефлекторных взаимодействий расширенных участков дистальной части подвздошной кишки и ободочной кишки. Однако рефлекторные влияния на активность гладких мышц тех и других сегментов кишки существенно изменены по регистрируемым реакциям: отсутствует четкая направленность эффектов. Предполагается, что в данных нарушениях моторной функции ведущую роль играет расстройство

механизмов нервного взаимодействия в илеоцекальной области.

В результате проведенного эксперимента установлено, что в течение 2–3 недель после разрушения нейронов развивается нарушение ноцицептивных реакций. Активизация перистальтики и гипертрофия проксимальных отделов кишки являются компенсаторной реакцией, и она формируется для продвижения кишечного содержимого через денервированную и стенозированную зону [3, 4].

Заключение. Предложенная методика операции позволяет воспроизвести операцию Де

ла Торре для изучения результатов лечения в клинической практике. Причиной осложнений является интраоперационное нарушение парасимпатической иннервации из S2–S4 низводимой кишки при выделении таковой из окружающих тканей и явлениями ишемии стенки кишки, проявляющееся симптоматикой болезни Гиршпрунга. Как следствие, данные пациенты нуждаются в дальнейшем симптоматическом лечении или повторной операции.

Доказано, что денервация и сужение толстой кишки приводит к увеличению давления в подвздошной и слепой кишке. Полученные данные доказывают необходимость, как можно раньше устранять препятствие для пассажа кишечного содержимого и, соответственно, уменьшать возраст, в котором проводится радикальная операция — резекция денервированного участка кишки.

В то же время установлено, что даже в условиях денервации терминальной части тол-

стой кишки сохраняется возможность рефлекторных взаимодействий расширенных участков дистальной части подвздошной кишки и ободочной кишки. Это подтверждает сохранение интрамуральных нервных связей при резекции участка толстой кишки. Экстрамуральная денервация и сужение толстой кишки при низведении на промежность, особенно при сужении и на протяжении, приводят к увеличению давления в подвздошной и слепой кишке и не приводит к расслаблению толстой кишки в ответ на раздражение подвздошной. Возможно, этим объясняются гипертрофия терминального отдела подвздошной кишки и перфоративные язвы при энтероколите, встречающиеся в послеоперационном периоде после лечения болезни Гиршпрунга. Нарастание этого состояния со временем указывает на необходимость, как можно быстрее уменьшать возраст, в котором проводится радикальная операция.

Список цитированных источников

1. Холостова, В. В. Эндохирургическое лечение хронических запоров органического происхождения у детей / В. В. Холостова, Е.Ю. Ермоленко // *Детская хирургия*. — 2019. — № 7. — С. 14–22.
2. Вавилова, Т. И. Гистохимическая диагностика болезни Гиршпрунга / Т. И. Вавилова, Г. И. Воробьев, А. П. Жученко // *Хирургия*. — 1986. — № 3. — С. 15–22
3. Problems of carcinogenesis / Y. Degtyarev [et al.] // *Inter. J. Current Advanced Research*. — 2020. — Vol. 9, № 3 (C). — P. 21603–21605. DOI: 10.24327/ijcar.2020.
4. Outcome of transanal endorectal vs. transabdominal pull-through in patients with Hirschsprung's disease / P. Romero [et al.] // *Langenbecks Arch. Surg.* — 2011. — 396 p.

Modeling of surgical operations in Hirschsprung's disease to identify their shortcomings

Novitskaya S. K.^{1,2}, Degtyarev Yu. G.^{1,3}

¹ *State Educational Institution "The Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education", Minsk, Republic of Belarus;*

² *State Institution "Republican Scientific and Practical Center of Pediatric Surgery", Minsk, Republic of Belarus;*

³ *Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

To establish the reasons for unsatisfactory results after treatment of Hirschsprung's disease, an experimental model of the operation was developed. It was carried out by interrupting the parasympathetic innervation of the distal colon. In alater experiment, functional and morphological changes of the gastrointestinal tract were evaluated. As a result of the experiment, it was found that in the conditions of extramural denervation of the terminal part of the colon, the possibility of reflex interactions between the ileum and the denervated colon remains. Histochemical examination of the own plate of the mucous membrane revealed an increased accumulation of acetylcholinesterase in the innervated intestine, which is explained by its denervation and ischemia.

Keywords: hirschsprung's disease, experimental model of surgery, parasympathetic innervation, histochemical examination, acetylcholinesterase.

Поступила 14.06.2022