

О. А. Говорухина¹, С. А. Новаковская², Л. И. Арчакова²

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ БОЛЕЗНИ ГИРШПРУНГА

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской хирургии»¹,
ГНУ «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»²

Введение. Болезнь Гиршпрунга – нейрокринопатия, характеризуется остановкой нормальной миграции нервно-гребешковых клеток и их дифференцировки. Электронно-микроскопическое исследование выявляет особенности ультраструктурной организации, которые имеют важное значение не только для изучения патогенеза, но и для разработки способов лечения этого сложного заболевания.

Материалы и методы. Выполнены исследования у 10 пациентов в возрасте от 2-х недель до 3 лет (5 пациентов) и от 14 до 16 лет (5 пациентов) в зоне аганглиоза и в участке кишки, проксимальнее ее. Субмикроскопическая организация в биоптатах кишки изучена электронно-микроскопическими методами.

Результаты. Электронно-микроскопическое исследование участков толстой кишки детей разных возрастных групп (от 2-х недель до 16 лет) с клиническим диагнозом – болезнь Гиршпрунга, иссеченных во время операции в зонах аганглиоза и проксимальных отделах толстой кишки с ненарушенной иннервацией, показало нарушение организации многих структурных компонентов регулирующих систем стенки кишки – нервной, иммунной, эндокринной и проводящей. Для каждого возрастного периода выявлены определенные закономерности ультраструктурных изменений в толстой кишке, отражающих глубину и распространенность патологического процесса. У детей старшего возраста отмечается усиление деструктивных процессов во всех слоях стенки толстой кишки. На месте разрушенных мышечных клеток происходит разрастание рыхлой соединительной ткани и коллагеновых волокон, которые замещают мышечный слой, делая стенку кишки более ригидной. В зонах аганглиоза и участках кишки, проксимальнее ее, деструктивным процессам подвергаются клетки иммунной системы (эозинофилы, тучные клетки) и эндокриноциты.

Заключение. Ультрамикроскопические изменения в стенке толстой кишки, проксимальнее зоны аганглиоза, свидетельствуют как о первичном недоразвитии нервно-мышечной, эндокринной и иммунной систем в стенке кишки, так и вторичных дегенеративных изменениях, происходящих с возрастом пациентов. Чем более выражены дегенеративные процессы в стенке ганглионарного участка толстой кишки, тем более существенны нарушения ее функции.

Ключевые слова: болезнь Гиршпрунга, аганглиоз, электронная микроскопия.

O. A. Govorukhina, S. A. Novakovskaya, L. I. Artchakova

ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE COLON WITH HIRSCHSPRUNG'S DISEASE

Introduction Hirschsprung's disease is neurocristopathy, characterized by a halt in the normal migration of scallop nerve cells and their differentiation. Electron microscopic examination reveals neurochemical ultrastructural findings, which are important not only for studying the pathogenesis of the disease, but also for developing methods of treating this complex disease.

Materials and methods. Studies were performed on 10 patients aged 2 weeks to 3 years (5 patients) and 14 to 16 years (5 patients) in the agangliosis zone and in the area of the intestine proximal to it. Submicroscopic organization in intestinal biopsy specimens was studied by electron microscopic methods.

Results. *An electron microscopic examination of the colon sections of children of different age groups (from 2 weeks to 16 years) with a clinical diagnosis of Hirschsprung's disease, excised during surgery in agangliosis zones and proximal colon with undisturbed innervation, showed a violation of the organization of many structural components regulatory systems of the intestinal wall – nervous, immune, endocrine and conductive. For each age period, certain patterns of ultrastructural changes in the colon are revealed, reflecting the depth and prevalence of the pathological process. In older children, an increase in destructive processes in all layers of the colon wall is noted. In place of the destroyed muscle cells, the growth of loose connective tissue and collagen fibers occurs, which replace the muscle layer, making the intestinal wall more rigid. In zones of agangliosis and sections of the intestine, proximal to it, cells of the immune system (eosinophils, mast cells) and endocrinocytes undergo destructive processes.*

Conclusion *Ultramicroscopic changes in the walls of the colon, proximal to the agangliosis zone, indicate both primary underdevelopment of the neuromuscular, endocrine and immune systems in the intestinal wall, and secondary degenerative changes that occur with age of the patients. The more pronounced degenerative processes in the wall of the ganglionic section of the colon, the more significant the violation of its function.*

Key words: *Hirschsprung's disease, agangliosis, electron microscopy.*

Больная Гиршпрунга – врожденное заболевание, связанное с нарушением иннервации толстой кишки. Это – комплексная генетическая патология, нейрокрестопатия, характеризующаяся остановкой нормальной миграции нервно-гребешковых клеток и/или их дифференцировки на протяжении кишки [2]. Распространенность заболевания составляет 1 случай на 5000 новорожденных. Накопление больших клинических серий и опыта в крупных специализированных клиниках показывает, что группа нейрокрестопатий является гораздо более неоднородной, чем было принято считать ранее, и включает не только аганглиоз толстой кишки, но и другие виды нарушений ее структурной организации, лечебно-диагностическая тактика при которых остается спорной до сих пор [2, 3, 4]. Не выработаны единые критерии и алгоритмы их диагностики и морфологической верификации, что делает затруднительным выбор соответствующего лечения.

Гистопатология болезни Гиршпрунга определяется полным отсутствием интрамуральных нервных клеток и гипертрофией нервных волокон в дистальных участках толстой кишки. Эти патоморфологические критерии хорошо выявляются стандартны-

ми ферментными и иммуногистохимическими тестами для постановки диагноза болезни Гиршпрунга [2, 5]. Электронно-микроскопическое исследование – более затратный по времени и трудоемкий процесс, поэтому в клинической практике электронно-микроскопический метод исследования не является основным при постановке диагноза болезни Гиршпрунга. Однако при помощи электронной микроскопии можно выявить ультраструктурные особенности тканей и органов, не видимые при световой микроскопии. Большое значение для изучения патогенеза болезни Гиршпрунга имеют комплексные исследования, включающие электронно-микроскопический, гистохимические и иммуногистохимические методы, играющие важную роль не только в диагностике, но и в разработке способов лечения этой сложной врожденной патологии.

Цель исследования – выявить закономерности ультраструктурных изменений в толстой кишке, отражающих распространенность патологического процесса в зависимости от возраста пациента при болезни Гиршпрунга.

Материалы и методы. В процессе выполнения исследования у 10 пациентов в возрасте от 2-х недель до 3 лет (5 паци-

ентов) и от 14 до 16 лет (5 пациентов) было проведено электронно-микроскопическое изучение биоптатов толстой кишки, изъятых во время операции из зоны аганглиоза и более проксимальных ее участков [1, 2]. Для этого образцы кишки погружали в фиксирующий раствор, состоящий из 3%-ного глutarового альдегида и 1%-ного параформа, затем их измельчали и обрабатывали 2%-ным раствором четырехоксида осмия. После промывания 0,1 М фосфатным буфером материал обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заключали в аралдит по общепринятой методике [1]. Срезы готовили на ультратоме LKB-8800 (LKB Bromma Ultratome Nova, Швеция) и просматривали в электронном микроскопе JEM-100B (Jeol, Япония).

Результаты и обсуждение. Электронно-микроскопическое исследование участков толстой кишки пациентов разных возрастных групп с клиническим диагнозом БГ, иссеченных во время операции в зонах аганглиоза и проксимальных отделах толстой кишки с сохраненной иннервацией, показало нарушение организации структурных компонентов регулирующих систем органа – нервной, иммунной, эндокринной и проводящей. Для каждого возрастного периода выявлены определенные закономерности ультраструктурных изменений в тол-

стой кишке, отражающих глубину и распространенность патологического процесса.

Характерной особенностью ультраструктурных преобразований в кишке в зоне аганглиоза у детей раннего возраста является их мозаичность. Очаги деструкции, охватывающие различные слои кишечной стенки, чередуются с анатомически целостными, не вовлеченными в патологический процесс участками, что свидетельствует о неравномерном характере поражения стенки толстой кишки при данной патологии. Электронно-микроскопические исследования показали полное отсутствие интрамуральных нейронов и недоразвитие интрамуральных нервных волокон в пораженных участках толстой кишки, представленных объемными гипертрофированными образованиями с очагами деструкции. Среди них рассеяны нервные окончания, частично или полностью лишенные медиаторных везикул (рис. 1).

Выявляемость интерстициальных клеток Кахаля (ИКК), ответственных за двигательную кишечную активность, в зонах аганглиоза значительно снижена. По ходу интрамуральных нервных сплетений определяются единичные малодифференцированные клетки проводящей системы с крупным ядром и узким ободком цитоплазмы, содержащие немногочисленные внутриклеточные органеллы с признаками деградации (рис. 2).

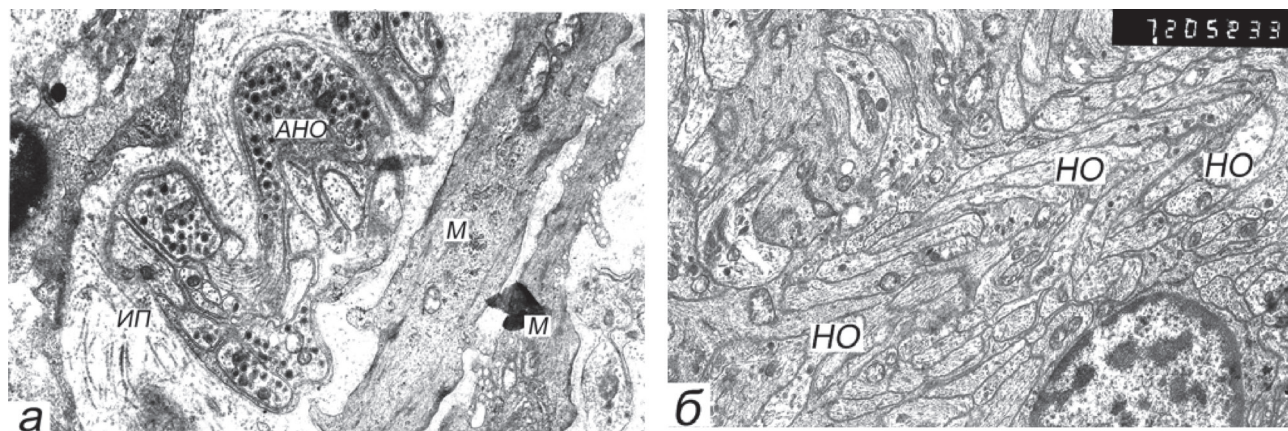


Рис. 1. Ультраструктурная организация стенки толстой кишки. Интрамуральные нервные волокна и сплетения у пациента 3-х месяцев с ненарушенной функцией кишки (а) и у пациента 3-х месяцев с болезнью Гиршпрунга (б). АНО – аксонное нервное окончание, М – миоцит мышечной пластинки, НО – нервное окончание. Ув. микроскопа: 9800 (а), 7200 (б)

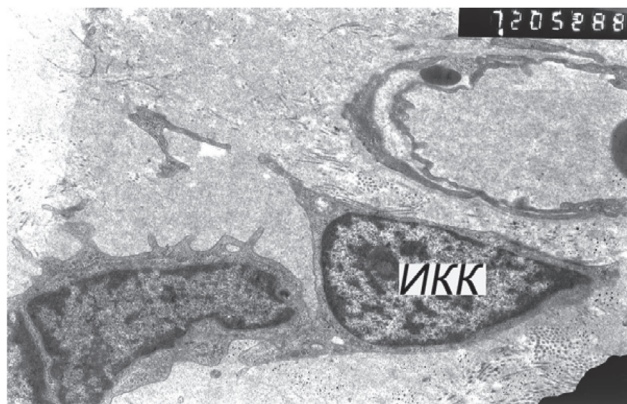


Рис. 2. Интерстициальная клетка Кахаля в стенке толстой кишки пациента 2-х мес. с болезнью Гиршпрунга. ИКК – интерстициальная клетка Кахаля. Ув. микроскопа: 7200

Обширные очаги деструкции выявляются в мышечном слое стенки толстой кишки. В миоцитах наблюдаются ультраструктурные изменения литического характера. Большая часть их внутриклеточных органелл подвергается разрушению, в результате которого в цитоплазме мышечных клеток формируются объемные фаголизосомы. Между пучками мышечных клеток отмечаются разрастания рыхлой волокнистой соединительной ткани, которые постепенно замещают разрушенные миоциты и приводят к фиброзу (рис. 3).

У пациентов в возрасте от 14 до 16 лет очаги деструкции в зоне аганглиоза распространяются на все слои кишечной стенки. Интрамуральные нервные окончания в пораженных участках толстой кишки представлены объемными гипертрофированными аномальными нервными структурами, полностью лишенными медиаторных везикул и заполненных электроннопрозрачной аксоплазмой, содержащей остатки нейрофиламентов в виде детрита. В некоторых нервных волокнах вследствие отека аксоплазмы происходит разрыв клеточных мембран и выход детрита в межклеточное пространство. Остатки нервных волокон подвергаются лизису (рис. 4).

ИКК у данной группы пациентов выявляются в виде структур с признаками

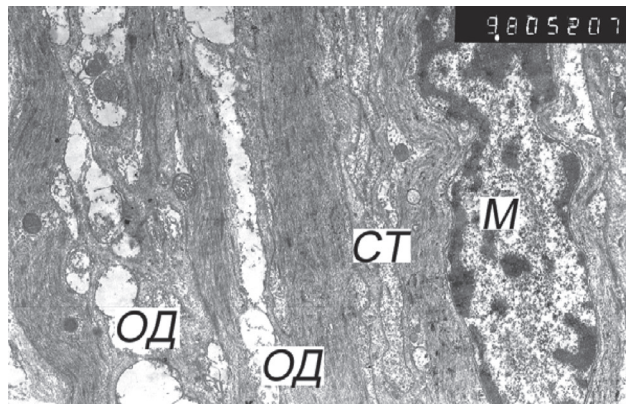


Рис. 3. Мышечный слой стенки толстой кишки пациента 3 мес. с болезнью Гиршпрунга. Очаги деструкции в толще мышечных волокон. М – миоцит, ОД – очаг деструкции, СТ – соединительная ткань. Ув. микроскопа: 9800

прогрессирующей деструкции, проявляющейся в локальном разрушении клеточных мембран, появлении крупных митохондрий с поврежденными кристами, разрозненными и частично разрушенными пластинками гранулярной эндоплазматической сети и пластинчатого комплекса Гольджи. Внутриклеточные органеллы в области поврежденных участков цитоплазматических мембран выходят в межклеточное пространство, цитоплазма клеток и ее отростки разрушаются, или заполняются объемными лизосомами (рис. 5).

У пациентов старшего возраста в зоне аганглиоза отмечается усиление деструктивных процессов в мышечных слоях стен-

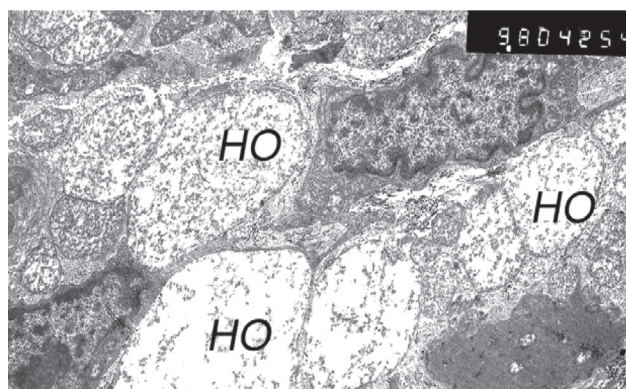


Рис. 4. Интрамуральные нервные окончания в пораженных участках толстой кишки у пациента 14 лет с болезнью Гиршпрунга. НО – нервное окончание. Ув. микроскопа: 9800

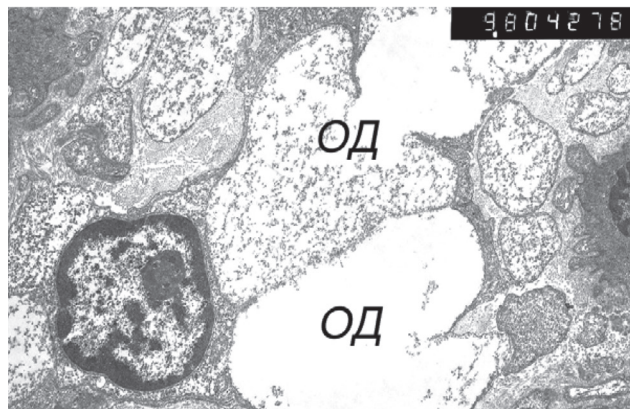


Рис. 6. Мышечные клетки толстой кишки на стадии прогрессирующих дегенеративных изменений у пациента 15 лет с болезнью Гиршпрунга. ОД – очаг деструкции. Ув. микроскопа: 9800

ки толстой кишки. Миоциты представлены гигантскими клетками веретенообразной формы с выраженными признаками прогрессирующих дегенеративных изменений – разобщенными пучками миофиламентов и обширными очагами деструкции. Очаги разрушения мышечной ткани на некоторых участках стенки кишки достигают значительных размеров и в поле зрения отмечаются лишь фрагменты миоцитов. На месте разрушенных мышечных клеток происходит разрастание рыхлой соединительной ткани и коллагеновых волокон, которые постепенно замещают мышечный слой, делая стенку кишки более ригидной (рис. 6).

Отмечается ультраструктурная реорганизация сосудов микроциркуляторного русла участков толстой кишки, расположенных проксимальнее зоны аганглиоза у пациентов обеих возрастных групп. В капиллярах определяются эндотелиальные разрастания, которые заполняют сосудистый просвет и создают препятствия для кровотока. Наблюдается обтурация просвета сосудов форменными элементами крови и крупными образованиями, заполненными электронно-прозрачным или зернистым материалом. В результате нарушения проницаемости сосудистой стенки происходит диапедез эритроцитов за пределы кровеносного русла в окружающее межклеточное пространство стенки кишки (рис. 7).

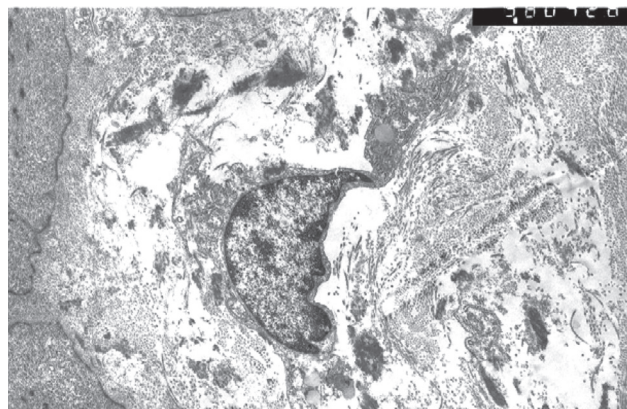


Рис. 5. Интерстициальная клетка Кахаля с признаками прогрессирующей клеточной деструкции в стенке толстой кишки пациента 14 лет с болезнью Гиршпрунга. Ув. микроскопа: 5800

В зоне аганглиоза и участках кишки, проксимальнее ее, деструктивным процессам подвергаются клетки иммунной системы (эозинофилы, тучные клетки) и эндокриноциты. Наиболее выражены ультраструктурные изменения в подслизистом слое толстой кишки у пациентов в возрасте от 14 до 16 лет. Характерным признаком альтерации тучных клеток и эозинофилов при данной патологии является появление в них многочисленных очагов дегрануляции, свидетельствующих о выходе из клеток биологически активных веществ и утрате ими своих защитных функций. Аналогичная картина наблюдается и в эндокриноцитах слизистого слоя кишки, в цитоплазме которых формируются гигантские вакуоли и обширные очаги деструкции (рис. 8).

Таким образом, электронно-микроскопическое исследование биоптатов толстой кишки, иссеченных во время операции из зон аганглиоза при болезни Гиршпрунга у пациентов разных возрастных групп, свидетельствует о прогрессировании с возрастом дегенеративных процессов во всех слоях стенки толстой кишки, на развитие которых влияет не только полное отсутствие интрамуральных нейронов, но и недоразвитие интрамуральных нервных волокон и сплетений в пораженных участках кишки при данной патологии. Ультраструктурные

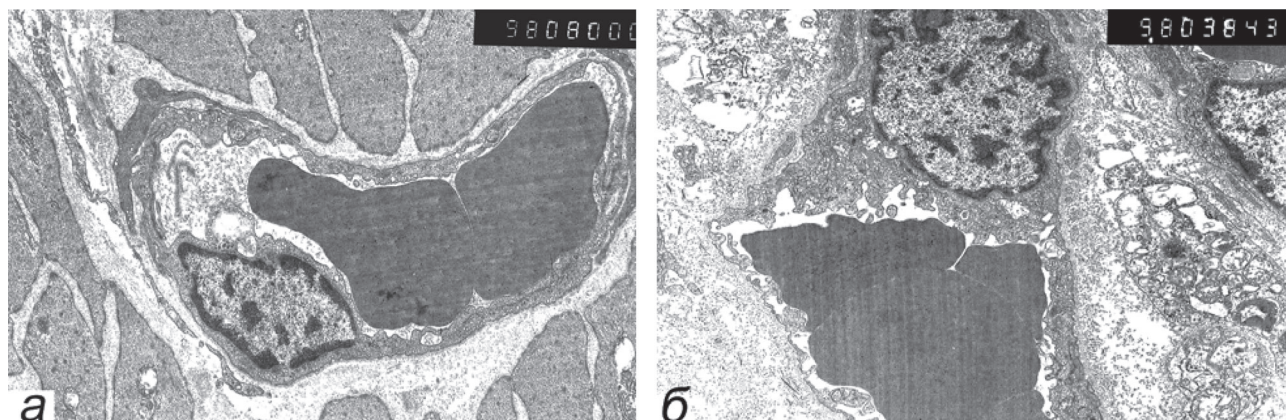


Рис. 7. Тотальная обструкция просвета сосудов форменными элементами крови: пациент 2 мес. с болезнью Гиршпрунга (а); б. пациент 14 лет с болезнью Гиршпрунга (б). Ув. микроскопа: 9800

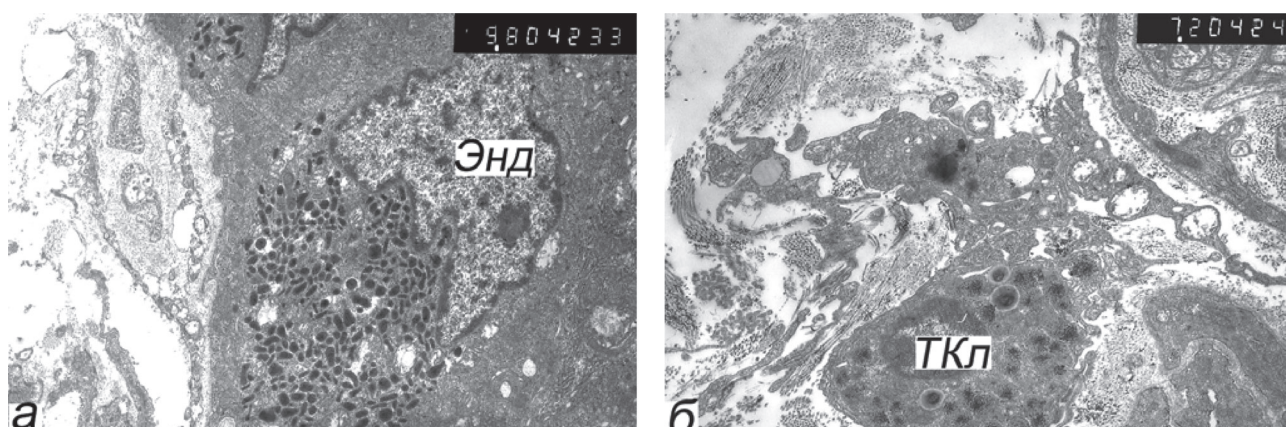


Рис. 8. Эндокриноцит (а) и тучная клетка (б) с очагами деструкции в слизистой оболочке толстой кишки пациента 14 лет с болезнью Гиршпрунга. Энд – эндокриноцит, ТКл – тучная клетка. Ув. микроскопа: 9800

изменения в стенке толстой кишки проксимальнее зоны аганглиоза свидетельствуют как о первичном недоразвитии нервно-мышечной, эндокринной и иммунной систем в стенке кишки, так и вторичных дегенеративных изменениях, развивающихся с возрастом у пациентов. Чем более выражены дегенеративные процессы в стенке ганглионарного участка толстой кишки, тем более существенны нарушения ее функции.

Литература

1. Боголепов Н. Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга. М.: Издание Института мозга АМН СССР, 1976. – 72 с.
2. Holschneider AM, Puri P, eds. Hirschsprung's Disease and Allied Disorders. 3rd ed. New York, NY: Springer, 2008. – 414 p.
3. Khazdouz M, Sezavar M, Imani B, Akhavan H, Babapour A, Khademi G. Clinical outcome and bowel

function after surgical treatment in Hirschsprung's disease // Afr. J. Paediatr. Surg. – 2015. – N 12(2). – P. 143–147. Doi: 10.4103/0189-6725.160403.

4. Langer JC, Rollins MD, Levitt M, Gosain A, Torre L, Kapur RP, Cowles RA, Horton J, Rothstein DH, Goldstein AM. Guidelines for the management of postoperative obstructive symptoms in children with Hirschsprung disease // Pediatr. Surg. Int. – 2017. – N 33(5). – P. 523–526. Doi: 10.1007/s00383-017-4066-7.

5. Lu C, Hou G, Liu C Geng Q, Xu X, Zhang J, Chen H, Tang W. Single-stage transanal endorectal pull-through procedure for correction of Hirschsprung disease in neonates and nonneonates: A multicenter study // J. Pediatr. Surg. – 2017. – N 52(7). – P. 1102–1107. Doi: 10.1016/j.jpedsurg.2017.01.061.

6. Thakkar HS, Bassett C, Hsu A, Manuele R, Kufeji D, Richards CA, Agrawal M, Keshtgar AS. Functional outcomes in Hirschsprung disease: A single institution's 12-year experience // J. Pediatr. Surg. – 2017. – N 52(2). – P. 277–280. Doi: 10.1016/j.jpedsurg.2016.11.023.

Поступила 3.07.2020 г.