

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАРУШЕНИЙ ИННЕРВАЦИИ ТОЛСТОЙ КИШКИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ КОЛОСТАЗОМ

Л.А.Синицына, В.Б.Давид, Г.М.Боян, В.Г.Боян, А.В.Вахромеев

Научно-исследовательский институт охраны здоровья матери и ребенка, г. Кишинэу (Молдова)

ВИЗНАЧЕННЯ ПОРУШЕНЬ ІННЕРВАЦІЇ ТОВСТОЇ КИШКИ У ДІТЕЙ З ХРОНІЧНИМ КОЛОСТАЗОМ

Резюме. Імуногістохімічним методом із застосуванням моноклональних і поліклональних антитіл та системи візуалізації LSAB2 (Dako) досліджені фрагменти товстої кишки у 16 дітей з хронічним колостазом. Застосування моноклональних і поліклональних антитіл має важливе значення для виявлення аномалій іннервації кишечника.

Ключові слова: імуногістохімічний метод, хронічний колостаз.

Иммуногистохимический метод исследования иннервации кишечника особенно актуален в диагностике болезни Гиршспрунга и открывает новые перспективы для интравитальной диагностики. В последнее время ряд авторов [1-3] указывают на существование различных диспластических аганглиозов, дифференциальная диагностика которых осуществляется при использовании иммуногистохимической реакции.

Цель исследования. Изучить иммуногистохимическим методом иннервацию толстой кишки (ТК) у детей, оперированных по поводу хронического колостаза.

Материал и методы. Материалом для исследования послужили кусочки ТК, взятые интраоперационно на разных уровнях (нисходящей

ободочной, сигмовидной ободочной, прямой) у 16 детей с хроническим колостазом. Для иммуногистохимической реакции кусочки ТК фиксировали в забуференном формалине (рН 7,2-7,4) в течение 12-24 ч. Восстановление антигена проводилось в бытовой микроволновой печи "LG" при температуре +95°C. Время восстановления антигена варьировало между 10 и 20 мин в зависимости от используемых первичных антител. Использовались моноклональные и поликлональные антитела "Dako": нейронспецифическая энолаза (NSE), нейрофиламентарный протеин (NF), синаптофизин (SYP), хромогранин А (CGA). Инкубация первичными антителами проводилась в зависимости от рекомендованного производителем

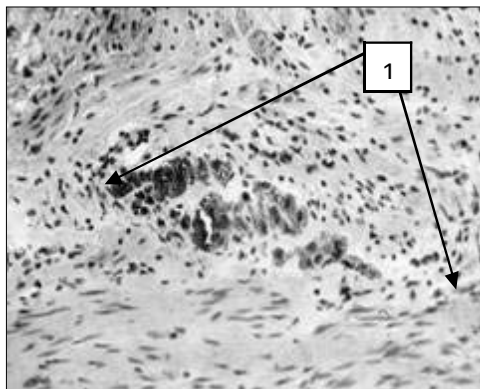


Рис. 1. Экспрессия 3+ нейронспецифической энолазы на одном из полюсов нервного ганглия (1). Иммуногистохимическая реакция. Об. 10, ок. 40.

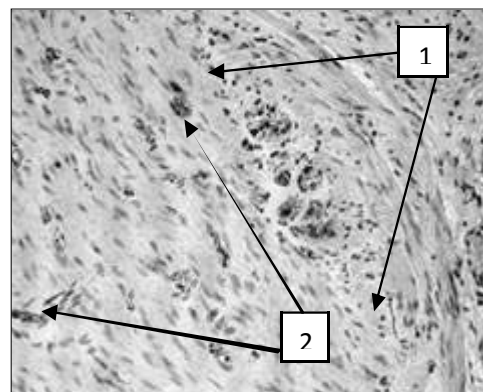


Рис. 2. Отдельные группы синаптофизин-положительных нейронов. Иммуногистохимическая реакция. Об. 10, ок. 20: 1 – нервный ганглий; 2 – нейромышечные окончания.

"Dako" времени и варьировало между 10 и 30 мин, а визуализация – с использованием системы LSAB2 (Dako). Отрицательный контроль осуществлялся при исключении первичных антител. Для статистической обработки полученных данных использован статистический пакет STATISTICA 7,0 компании StatSoft. Inc (США), 2006.

Результаты исследования и их обсуждение. Иммуногистохимическая реакция выявила разную степень экспрессии первичных антител как у различных, так и у одного и того же пациента, но на разных уровнях ТК. Иногда экспрессия антител выявлялась только на одном полюсе или в центре нервного ганглия, или в несколь-

ких нейронах межмышечного ганглия (рис. 1). Также при использовании SYP выявлялась и экспрессия разного уровня в нейромышечных окончаниях (рис. 2).

Как видно из таблицы и рисунка 3, частота экспрессии NSE составила $2,25 \pm 0,13$, тогда как NF, SYP и CGA – $1,64 \pm 0,15$, $1,56 \pm 0,13$ и $1,53 \pm 0,15$ соответственно. Сравнительный ана-

Таблица

Частота экспрессии первичных антител у пациентов с хроническим колостазом

Антитела	X±mx
NSE	2,25±0,13
NF	1,64±0,15
SYP	1,56±0,13
CGA	1,53±0,15

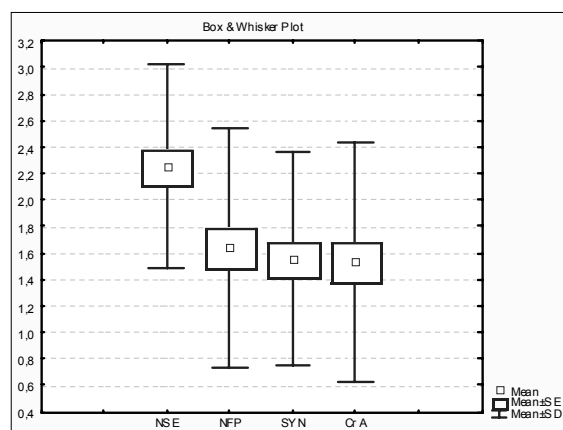


Рис. 3. Сравнительные данные экспрессии первичных антител NSE, NF, SYP и CGA у пациентов с хроническим колостазом.

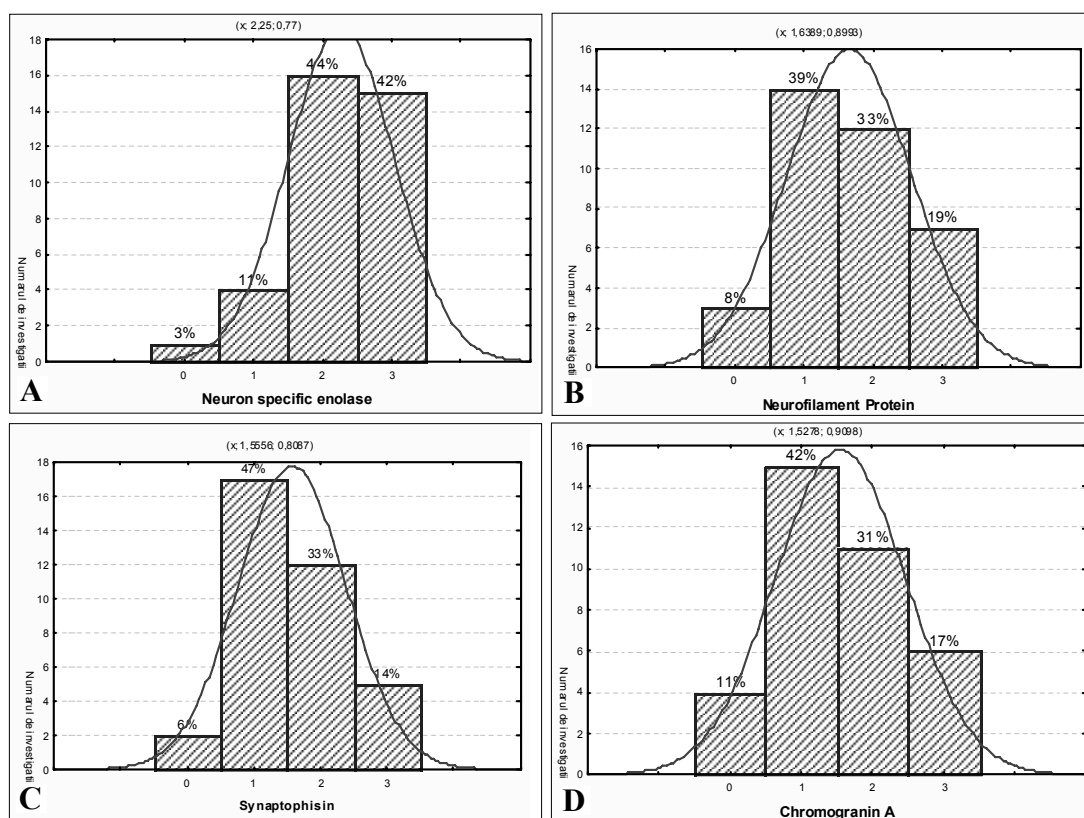


Рис. 3. Сравнительные данные экспрессии первичных антител NSE, NF, SYP и CGA у пациентов с хроническим колостазом.

лиз экспрессии первичных антител у больных с хроническим колостазом выявил, что уровень экспрессии NSE достоверно отличается от уровня экспрессии NF, SYP и CGA ($p < 0,05$).

В результате анализа гистограмм распределения частот (рис. 4) на основе экспрессии первичных антител было установлено, что центр распределения частот в группе NSE (A) имеет тенденцию сдвига ко 2-3 уровню экспрессии и частота максимальной экспрессии составляла 86%, тогда как 2-3 уровни экспрессии NF (B), SYP (C) и CGA (D) составляют 52, 47 и 48% соответственно, и центр распределения частот в этих группах имеет тенденцию сдвига влево.

Таким образом, можно утверждать, что не только повреждения нервных межмышечных ганглиев ТК, но и нарушения в цепи передачи нервного импульса приводят к нарушениям кишечного пассажа и, в конечном итоге, к хроническому колостазу. В этой связи исследователи отмечают необходимость применения иммуно-

гистохимического метода для выявления аномалий иннервации кишечника, в том числе в нервных волокнах и нейромышечных синапсах [2].

Выводы. 1. Иммуногистохимическое исследование иннервации толстой кишки у детей с хроническим колостазом с использованием моноклональных и поликлональных антител выявило, что экспрессия NSE достоверно ($p < 0,05$) более выражена по сравнению с экспрессией NF, SYP и CGA в межмышечных нервных ганглиях, при этом моноклональным антителом выбора в выявлении нейронов в нервных ганглиях является нейронспецифическая энзолаза. 2. Использование моноклональных и поликлональных антител NF, SYP, CGA наряду с NSE имеет важное значение для выявления аномалий иннервации кишечника как на уровне межмышечных нервных ганглиев, так и на других уровнях цепи распространения нервного импульса в стенке толстой кишки у детей с хроническим колостазом.

Литература

1. Aprodu G. Diagnosticul si tratamentul megacolonului congenital prin metode clasice / G.Aprodu, Doina Mihaila, C.Botez [et al.] // *J. de Chirurgie*. – 2007. – Vol. 3, № 4. – P. 141-147.
2. Boman Françoise. Maladie de Hirschsprung: attitude pratique / Françoise Boman, Laurent Corsois, François Paraf // *Ann. de Pathol.* – 2004. – Vol. 24, № 6. – P. 486-498.
3. Matsuda H. Histopathological and immunohistochemical study of the enteric innervations among various types of aganglionoses including isolated ant syndrome Hirschsprung disease / H.Matsuda, J.Hirato, M.Kuroiwa, Y.Nakazato // *Neuropathol.* – 2006. – Vol. 26, № 1. – P. 8-23.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАРУШЕНИЙ ИННЕРВАЦИИ ТОЛСТОЙ КИШКИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ КОЛОСТАЗОМ

Резюме. Иммуногистохимическим методом с применением моноклональных и поликлональных антител и системы визуализации LSAB2 (Dako) исследованы фрагменты толстой кишки у 16 детей с хроническим колостазом. Использование моноклональных и поликлональных антител имеет важное значение для выявления аномалий иннервации кишечника.

Ключевые слова: иммуногистохимический метод, хронический колостаз.

DIAGNOSING DISTURBANCES OF THE LARGE INTESTINAL INNERVATION IN CHILDREN WITH CHRONIC COLOSTASIS

Abstract. Fragments of the large intestine of 16 children with chronic colostasis have been investigated by means of the immunohistochemical method, using monoclonal and polyclonal antibodies and the system of visualization – LSAB2 (Dako). The use of monoclonal and polyclonal antibodies is of great importance, when detecting anomalies of the intestinal innervations.

Key words: immunohistochemical method, chronic colostasis.

Scientific-Research Institute of Mother and Child Welfare (City of Kishineu, Moldova)

Надійшла 06.05.2010 р.

Рецензент – д. м. н. І.Ю.Олійник (Чернівці)