

• 基础研究 •

先天性肛门直肠畸形模型大鼠肛门内括约肌
肌间神经节细胞及神经丛的病理改变

王龙,孟祥宇,丁丽楠,梁桃

[摘要] 目的 观察肛门直肠畸形动物模型肛门内括约肌肌间神经节细胞及神经丛的数目和形态。方法 用乙烯硫脲诱导健康妊娠 Wistar-I mammichi 大白鼠产生有内括约肌的肛门直肠畸形胎鼠,取胎仔行正中矢状面连续切片,经染色后观察直肠肛管发育情况及肛门内括约肌肌间神经节细胞和神经丛数的数目。结果 实验组肛门直肠畸形胎鼠每个视野的肛门内括约肌肌间神经节细胞数为 (1.206 ± 0.012) ,神经丛数仅为 (0.308 ± 0.051) ,对照组正常胎鼠分别为 (3.710 ± 0.043) 和 (1.227 ± 0.072) ,两者比较差异均有统计学意义($P < 0.05 \sim 0.01$),而实验组正常胎鼠两项数值分别为 (3.012 ± 0.032) 和 (1.187 ± 0.004) ,与对照组相比,差异无统计学意义。结论 肛门内括约肌肌间神经节细胞数和神经丛数的减少是肛门直肠畸形的重要病理改变。

[关键词] 肛门内括约肌;肛门直肠畸形;神经节细胞;乙烯硫脲

Pathologic Changes of Ganglion Cell and Nerve Plexus in Internal Anus Sphincter of Rats with Congenital Anorectal Malformations
WANG Long, MENG Xiang-yu, DING Li-nan, et al. The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang, China

Abstract: **Objective** To observe the pathologic changes of ganglion cell and nerve plexus in internal anus sphincter of rats with congenital anorectal malformations (ARM). **Methods** Healthy and pregnant Wistar-I mammichi rats were induced to ARM by ethylene thiourea (ETU). There were 67 rats with ARM at all. The pelvis was continuously cut from the exactly midsagittal plane. The HE staining was performed, and the numbers of the ganglion cell and nerve plexus in the internal anus sphincter were observed under the microscope. **Results** The average numbers of the ganglion cell and nerve pluxes in the ARM embryos were (1.206 ± 0.012) and (0.308 ± 0.051) . Those of the normal control embryos were (3.710 ± 0.043) and (1.227 ± 0.072) respectively. There was a significant difference between two groups ($P < 0.05 \sim 0.01$). While, those of the embryos without ARM which dealt with ETU were (3.012 ± 0.032) and (1.187 ± 0.004) respectively, didn't differ from the normal control embryos. **Conclusion** The decrease of the ganglion cell and the nerve plexus in internal anus sphincter is an important pathologic change of ARM.

Key words: internal anus sphincter; anorectal malformations; ganglion cell; ethylene thiourea

[中图分类号] R726.4 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2008)06-0537-02

[本文著录格式] 王龙,孟祥宇,丁丽楠,等. 先天性肛门直肠畸形模型大鼠肛门内括约肌肌间神经节细胞及神经丛的病理改变[J]. 中国康复理论与实践, 2008, 14(6): 537—538.

先天性肛门直肠畸形是小儿常见的消化道畸形,也是世界卫生组织监测的先天畸形之一,发病率为 $0.02\% \sim 0.07\%$ 。肛门直肠畸形的病因至今仍不清楚,目前仅知是胚胎期直肠发育发生障碍的结果。该畸形严重影响患儿以及其长大后的生活质量,给家庭和社会带来沉重的负担^[1,2]。解决先天性肛门直肠畸形治疗术后排便控制问题、提高患儿的生活质量,一直是小儿外科医生的重点课题。近来随着肛门直肠畸形基础及临床研究的深入,肛门内括约肌在先天性肛门直肠畸形治疗术后排便控制中的作用受到广泛重视。肛门内括约肌受自主神经支配,具有耐疲劳、反射性松弛反应等独特的、无可替代的功能;肛管静息压大部分由肛门内括约肌的张力收缩所维持,对术后排便控制起重要作用^[3]。本研究通过对先天性肛门直肠畸形肛门内括约肌肌间神经节细胞及神经丛数目的观察,探讨先天性肛门直肠畸形的病理基础,为临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 体重 $250 \sim 300$ g的健康成熟未育的Ⅰ级 Wistar-I mammichi 大白鼠 60 只。雌雄(按比例 $2:1$)晚上合笼过夜,次日晨做阴道涂片,见到精子提示已交配。此日记为孕 0 d。

1.2 方法 共有 28 只雌鼠受孕,随机分为实验组及对照组各 14 只,于孕 11 d 给实验组经胃管注入 1% 乙烯硫脲(ethylene thiourea, ETU)溶液 125 mg/kg,对照组给同等量的生理水。孕 22 d 剖宫取胎仔,用 4% 甲醛固定 24 h,常规脱水,石蜡包埋,沿标本正中矢状面连续切片,厚约 $8\text{ }\mu\text{m}$,HE 染色,光镜下观察直肠肛管发育情况以及肛门内括约肌单位面积内肌间神经丛和神经节的数目和形态。

1.3 统计学处理 各组数据均用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 Z-test 统计软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 两组胎鼠肛门直肠畸形发生率比较 实验组获胎鼠 112 只,平均 8 只/窝孕鼠,均有吸收胎、死胎。肛门直肠畸形胎为 67 只,平均 4.86 只/窝孕鼠(发生率为 59.82%),其中雄性胎鼠 68 只,畸形发生率 72.06% ,雌性胎鼠 39 只,畸形发生率

作者单位:哈尔滨医科大学第一临床医学院,黑龙江哈尔滨市 150001。作者简介:王龙(1970-),男,山东草县人,主治医师,讲师,硕士,主要研究方向:小儿普通外科及骨科。

40.91%,雌雄比率1:1.76,性别间的差异有显著性意义($\chi^2 = 23.79, P < 0.05$)。对照组孕鼠共获胎鼠129只,平均9.21只/窝孕鼠,无吸收胎、死胎。

2.2 畸形胎鼠肛门直肠的病理学改变 光镜下示畸形胎鼠的直肠黏膜为单层柱状上皮,直肠壁内环肌在直肠末端局限性增厚形成内括约肌;矢状面观肛门内括约肌为不对称式生长,多见于肛管前壁,呈上小下大楔形或条索状结构,肌纤维由前下走向后上,且与直肠肌纤维及尿道球部括约肌相连。

有瘘型肛门直肠畸形瘘管内覆有未角化的复层上皮,为正常鳞状上皮幼稚型,细胞小,着色深,上界与直肠黏膜单层柱状上皮分界清晰,下界与膀胱、尿道或阴道上皮分界清晰。此类畸形胎鼠其直肠末端环肌层在复层上皮覆盖区域明显增厚,位于此区域全部上2/3,肌细胞发育正常。即有瘘型肛门直肠畸形具有明显的内括约肌。

无瘘型高、中位肛门直肠畸形直肠末端内未见复层上皮,皆由单层柱状上皮构成,亦未见环肌层明显增厚。无瘘型低位肛门直肠畸形于直肠盲端覆有角化的鳞状上皮,范围广,发育正常,在鳞状上皮覆盖区环肌局限性增厚,肌细胞发育正常,即存在内括约肌。

2.3 3组胎鼠肛门内括约肌神经节数和神经丛数比较 标本经HE染色,显微镜下观察每高倍视野中内括约肌肌间神经节细胞和肌间神经丛数目,实验组先天性肛门直肠畸形胎鼠每个视野内的神经节细胞数平均为1.206个,而对照组为3.710个,两者比较差异有显著性意义($u = 2.16, P < 0.05$)。实验组肛门直肠畸形胎鼠每个视野的神经丛数仅为0.308个,对照组为1.227个,两者比较差异有非常显著性意义($u = 2.98, P < 0.01$)。但实验组中未伴发先天性肛门直肠畸形的胎鼠以上两项数值分别为3.012和1.187,与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 肛门直肠畸形胎鼠与正常胎鼠肛门内括约肌内神经节数与神经丛数比较(个/HP, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	神经节数	神经丛数
试验组直肠肛门畸形鼠仔组	67	1.206 ± 0.012 ^a	0.308 ± 0.051 ^b
实验组正常鼠仔组	45	3.012 ± 0.032	1.187 ± 0.004
对照组正常鼠仔组	129	3.710 ± 0.043	1.227 ± 0.072

注:a.与对照组比较, $u = 2.16, P < 0.05$;b.与对照组比较, $u = 2.98, P < 0.01$ 。

3 讨论

先天性肛门直肠畸形病理改变很复杂,许多因素都影响此类患儿术后的排便功能。临床上往往在完成了肛门成形术后,部分患儿仍出现腹胀、排便困难等表现。术后半年内,便秘患儿的大便性状多为糊状,黏度极高,患儿排出有一定困难,因而造成便秘^[4,5]。肛门内括约肌在先天性肛门直肠畸形治疗术后排便控制方面有着重要的作用。在本实验中,形态学观察结果显示,正常肛门内括约肌为前后壁对称式发育,低位有瘘、无瘘型肛门直肠畸形内括约肌发育同ETU处理后的正常胎鼠;而高、中位有瘘型肛门直肠畸形及泄殖腔畸形内括约肌面积相对

变小,畸形位置越高,畸形越复杂,面积越小,其中以泄殖腔畸形内括约肌发育最差,且为不对称式生长;高、中位无瘘型肛门直肠畸形内括约肌面积为零^[6]。这也从一个侧面解释了高、中位无瘘型肛门直肠畸形术后排便功能不理想的原因,显示肛门内括约肌在先天性肛门直肠畸形治疗术后排便控制方面的重要作用,同时也为先天性肛门直肠畸形患儿的手术治疗提供了一定参考,提示在手术中应最大限度保留直肠盲端肛门内括约肌结构^[7-9]。

本实验中,实验组肛门直肠畸形胎鼠肛门内括约肌肌间神经节细胞数目较正常胎鼠为少,神经丛数也较正常胎鼠为少,表明肛门内括约肌肌间神经节细胞数和神经丛数的减少是肛门直肠畸形的重要病理改变。先天性肛门直肠畸形支配肛门内括约肌的神经元发育明显异常,而且畸形位置越高,神经元减少越明显,但其发生机制尚不清楚,有待进一步研究。本研究的实验组中未伴发肛门直肠畸形的胎鼠肛门内括约肌肌间神经节细胞数及神经丛数与正常对照组相比无显著性差异,提示神经元减少可能不是ETU直接毒性作用的结果,猜测ETU的毒性作用仅是肛门内括约肌肌间神经节细胞及神经丛减少并发生肛门直肠畸形的一个诱发因素,先天性肛门直肠畸形的具体发病机制尚需更深入的研究^[10]。

本实验中的另一发现是肛门直肠畸形的发生存在性别差异,雄性发生率高于雌性,与文献报道^[8,10]相似。

[参考文献]

[1]王果. 小儿肛肠外科学[M]. 郑州:中原农民出版社,1999:653—656.

[2]Kluth D, Lambrecht W, Reith P, et al. SD mice — An animal model for complex anorectal malformations[J]. Eur J Pediatr Surg, 1991,1:183—185.

[3]Low JH, Banard CN. Congenital intestinal atresia, observations on its origin[J]. Lancet,1995,19:165—168.

[4]冯晓兰,王恩礼,周晓岩. 乙烯硫脲对胎鼠的致畸作用—肛门闭锁动物模型的建立[J]. 中华小儿外科杂志,1994,15(3):174—175.

[5]桥本良造. 高位型锁肛の发生病理[J]. 小儿外科,1994,26(10):1164—1168.

[6]李正. 先天性肛门直肠畸形及临床研究进展[J]. 中华小儿外科杂志,1996,17(1):1—5.

[7]Li L, Li Z, Wang LY, et al. Anorectal anomaly: Neuropathological changes in the sacral spinal cord[J]. J Pediatr Surg,1993,28(7):880—883.

[8]李龙,李正,王练英,等. 先天性无肛畸形儿骶髓的异常改变[J]. 中华小儿外科杂志,1994,15(5):24—27.

[9]Li L, Li Z, Hou HS, et al. Sensory nerve endings in the puborectalis and anal region of the fetus and newborn[J]. Dis Colon Rectum, 1992,6:552—556.

[10]王伟,李正,王练英,等. 新生儿及无肛畸形儿直肠远端肠壁内胆碱能神经的观察[J]. 中华小儿外科杂志,1993,14(6):345—347.

(收稿日期:2008-01-17)