

Egyetemi doktori (Ph. D.) értekezés

**KÍSÉRLETES ÉS KLINIKAI ADATOK
AZ ILEOCOECALIS JUNCTIO
GYERMEKSEBÉSZETI VONATKOZÁSAIHOZ**

Dr. Cserni Tamás
DE OEC Gyermekklinika, Gyermeksebészeti Részleg

Témavezető:

Prof. Dr. Mikó Irén
az orvostudomány kandidátusa

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Általános Orvostudományi Kar
Sebészeti Intézet
Sebészeti Műtéttani Tanszék

Debrecen
2007.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
2.1. Az ileocecalis junctio anatómiája	8
2.1.1. Makroszkópos megjelenés	8
2.1.2. Mikroszkópos anatómia	9
2.1.2.1. Nyálkahártya, submucosa	9
2.1.2.2. Izomrétegek	9
2.1.2.3. Intrinsic idegrendszer	10
2.1.2.3.1. Ismert tények	10
2.1.2.3.2. Ismeretlen adatok	10
2.1.2.3.2.1. Térbeli szerkezet, kvantitatív adatok	10
2.1.2.3.2.2. A vékonybél és a vastagbél közötti idegi összeköttetés	11
2.1.2.3.2.3. Az ileocecalis billentyű intrinsic beidegzésének infantilis jellemzői	12
2.1.3. A modellválasztás anatómiai szempontjai	12
2.2. Az ileocecalis junctio élettana	13
2.2.1. Anterograd passzázs kontroll	13
2.2.2. Regurgitáció kontroll	14
2.2.3. Mikrobiológiai funkció	14
2.2.4. Az ileocecalis junctio reflexei	15
2.2.4.1. Ileo-ileocecalis inhibíciós reflex	15
2.2.4.2. A colo-ileocecalis excitációs reflex	15
2.2.4.3. Egyéb reflexek	15
2.3. Az ileocecalis junctio patológiája	16
2.3.1. Fejlődési rendellenességek	16
2.3.1.1. Az ileocecalis billentyű atresiaja	16
2.3.1.2. Az ileocecalis billentyű agenesiaja	16
2.3.1.3. Az ileocecalis junctio szerepe újszülött- és gyermekkori sebészeti betegségekből	18
2.3.1.3.1. Invaginatio	18
2.3.1.3.1.1. Az invaginatio experimentális modellje	19
2.3.1.3.2. A „rövidbél” szindróma és az ileocecalis billentyű	21
2.3.1.3.3. A Crohn betegség és az ileocecalis billentyű	22
2.3.2. Az ileocecalis junctio sebészete	22
2.3.2.1. Ileocecalis billentyű-plasztika	22
2.3.2.2. Ileocecalis billentyű-rekonstrukció	23
2.3.2.3. Biliaris atresia és az ileocecalis billentyű	25
3. CÉLKITŰZÉSEK	27
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	28
4.1. Az ileocecalis junctio mikroszkópos anatómiája	28
4.1.1. Kísérleti állatok, szövettani mintavétel	28
4.1.2. Az izomrétegek vizsgálata	28
4.1.3. Az enterális idegrendszer szerkezetének vizsgálata hosszanti és haránt metszeteken	28
4.1.3.1. Enzimhisztokémiai vizsgálatok	28
4.1.3.1.1. Acetil-kolin-észteráz (AChE) festés	28
4.1.3.1.2. Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát-diaforáz (NADPH-d) festés	29
4.1.3.1.3. Protein Gene Product 9.5 (PGP 9.5) immunhisztokémia	29
4.1.3.1.4. C-kit immunhisztokémia	29
4.2. Postnatalis változások az ileocecalis junctio plexus myentericusában	30
4.2.1. Whole-Mount technika alkalmazása az ileocecalis billentyűn	30
4.2.2. A myentericus ganglionok és neuronok számolása	32

4.3. Megfelelő billentyűpótlás	34
4.3.1. Kísérleti állatok	34
4.3.2. A bélszakaszok izolálása	34
4.3.3. Hidrosztatikai nyomásmérés módszere	35
4.3.4. Invaginált vékonybél-szelepek készítése.....	36
4.3.5. Az invaginált vékonybél-szelepek hidrosztatikai paramétereinek vizsgálata a szelephossz függvényében	38
4.3.6. Statisztikai analízis	39
4.4. Ileocoecalis billentyű felhasználásának vizsgálata biliaris atresia sebészetében	39
4.4.1. Kísérleti állatok	39
4.4.2. Roux-Y bilioentericus anastomosis készítése.....	39
4.4.3. Bilioentericus anastomosis készítése az ileocoecalis junctio felhasználásával	40
4.4.4. Fajidegen „teszt” kórokozók alkalmazása.....	41
4.4.5. Mikrobiológiai mintavétel	41
5. EREDMÉNYEK	42
5.1. Az ileocoecalis junctio mikroszkópos anatómiája.....	42
5.1.1. Az izomrétegek mikroszkópos szerkezete.....	42
5.1.2. Az enterális idegrendszer térbeli szerkezete.....	44
5.1.3. A Cajal-féle interstitialis sejtek eloszlása.....	48
5.1.4. A plexus myentericus térbeli szerkezete	49
5.2. Postnatalis változások az ileocoecalis junctio plexus myentericusában	51
5.2.1. A ganglionok és a neuronok számának változása	51
5.3. Megfelelő billentyűpótlás	54
5.3.1. Az ileocoecalis billentyű anterograd hidrosztatikus ellenállása és az invaginált vékonybél-szelepek anterograd hidrosztatikus ellenállásának változása a szelephossz függvényében	54
5.3.2. Az ileocoecalis billentyű retrograd hidrosztatikus ellenállása és az invaginált vékonybél-szelepek retrograd hidrosztatikus ellenállásának változása a szelephossz függvényében	54
5.3.2. Az optimális szelephossz.....	56
5.4. Az ileocoecalis billentyű felhasználásának vizsgálata biliaris atresia sebészetében	57
5.4.1. A bilioentericus anastomosisok biológiai próbájának eredménye.....	57
5.4.2. A mikrobiológiai tesztek eredményei.....	57
6. MEGBESZÉLÉS	58
6.1. Az ileocoecalis junctio anatómiai sajátosságai.....	58
6.2. Postnatalis változások az ileocoecalis junctio plexus myentericusában.....	59
6.3. Az ileocoecalis billentyű atresia és agenesia sebészeti megoldása	61
6.4. Megfelelő billentyűpótlás.....	62
6.5. Az ileocoecalis billentyű felhasználásának lehetősége a biliaris atresia sebészetében	65
6.6 Elért fontosabb új eredmények és következtetések összegzése	68
7. ÖSSZEFOGLALÁS	70
8. SUMMARY	71
9. IRODALOMJEGYZÉK	72
9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke.....	72
9.2. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke	77
9.3. Egyéb közlemények jegyzéke	77
9.4. Az értekezés témájával kapcsolatos előadások	78
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	79
11. MELLÉKLET	80
az értekezéshez felhasznált, megjelent in extenso közlemények másolatai	80

1. BEVEZETÉS

Az ileocecalis junctio és az ileocecalis billentyű élettani feladata kettős, lassítja a béltartalom áramlását, segíti a tápanyagok felszívódását a vékonybélből, illetve megakadályozza a széklet és a vastagbélben honos baktériumok vékonybélbe jutását. Sokáig úgy gondolták, hogy az ileocecalis billentyű passzív egyenirányító szelepként működik. Újabb értelmezés szerint azonban a terminális ileum, az ileocecalis billentyű (más néven ileocecalis sphincter) és a caecum aktív funkcionális egységet képez (57).

Az ileocecalis junctio hasonlít a gastro-duodenalis junctióhoz, mert mindkettőben az emésztőtraktus két szomszédos, de különböző felépítésű szervei találkoznak, melyek az emésztés folyamatának különböző fázisaiért felelősek. A szomszédos bélszakaszok motilitásának koordinációjában viszont lényeges különbség tapasztalható a két junctio között.

Annak ellenére, hogy az ileális kontrakciók 50-70 %-át nem követi coecalis kontrakció az ileocecalis junctio képes szinkronizálni a vékony- és a vastagbél perisztaltikáját (57). Ezzel szemben a gastro-duodenalis motilitás teljesen koordinálatlan, azaz a gyomor perisztaltikus hullámai nem terjednek át a duodenumra. Ennek anatómia alapja a körkörös izomrostok között lévő kötőszövetes szigetelésben (9), illetve a Cajal- féle interstitialis sejtek hálózatában észlelt folytonossági hiányban rejlik (102).

Az ileocecalis junctio autonóm idegrendszerével kapcsolatos, ezidáig megjelent közleményekből csupán annyi tudható meg, hogy az ileocecalis billentyűben a neuronok és az idegek denzitása nagyobb a környező bélszakaszokéhoz képest (1, 42, 103).

Az idegrendszer ultrastruktúrájáról, azaz a plexus myentericus térbeli szerkezetéről nincs információnk, nem ismert a vékonybél és a vastagbél autonóm idegrendszere közötti átmenet anatómiája és a Cajal-féle interstitialis sejtek hálózata sem. Az ileocecalis billentyű enterális idegrendszerének részletes anatómiai ismerete elengedhetetlen az ileocecalis motilitás megértéséhez.

Az egyik leggyakrabban előforduló csecsemőkori akut sebészeti megoldást igénylő kórkép a primer (vezetőpont nélküli) invaginatio a legújabb elméletek szerint az ileocecalis junctio motilitási zavarával magyarázható (64). Az invaginatio kísérletes modelljében bakteriális lipopoliszacharid injekció hatására a myentericus neuronokból nagy mennyiségben nitrogén-oxid szabadul fel, ami a bél motilitási zavarához vezetve invaginációt okoz (97). Ebből adódik az a kérdés, hogy az ileocecalis junctio nitricus innervációjának tulajdonságai magyarázhatják-e az invaginatio jellegzetességeit.

Az ileocecalis junctio újszülöttkori ileust okozó, veleszületett atresiája rendkívül ritka. Az irodalomban összesen három esetet közöltek eddig (8,21). Mindhárom esetben az ileocecalis billentyűt membrán zárta el. Az ileocecalis billentyű teljes agenesiája csupán egy közleményből ismert, de ebben az esetben ileocolicus fistula kialakulása miatt a diagnózisra csak felnőttkorban derült fény (21). Munkacsoportunk elsőként számolt be újszülöttkori ileust okozó veleszületett ileocecalis billentyű agenesiáról (12). Felhívtuk a figyelmet a membrános elzáródás és az agenesia elkülönítésének jelentőségére és a műtéti stratégia különbségeire, újszülöttkori szempontjaira.

Az ileocecalis billentyű sebészeti resectiójára különböző okok miatt kerülhet sor, például ileocecalis vékonybélatriesia, vagy akut újszülöttkori enterocolitis necrotisans, ileocecalis invaginatio, ritkán coecum volvulus vagy súlyos szövődményekkel járó Crohn betegség miatt kialakult necrosis, továbbá az enterocolitis necrotisans késői szövődményeként az ileocecalis billentyűben kialakult szűkület miatt. Az ileocecalis billentyű elvesztésével megszűnik a coeco-ilealis refluxgátlás, emiatt a vastagbél baktériumok kolonizálhatják a terminális ileumot, gyulladáshoz vezethetnek, növelhetik a Crohn betegség recidívájának esélyét (3). Innen ered az elvesztett ileocecalis billentyű pótlásának alapötlete.

Az ileocecalis billentyű elvesztésével megszűnik az ileocecalis anterograd passzázs kontroll is. A terminális ileum felgyorsult kiürülése miatt csökken a felszívódó zsírok, vitaminok, mineraloidok mennyisége (74). Nagy fokú bélrezekciót követően, a parenteralis táplálás mai színvonalán intakt ileocecalis billentyű mellett minimum 11 cm hosszúságú egészséges vékonybél

szükséges a túléléshez, míg ileocecalis billentyű nélkül ennek kétszeresére, azaz kb. 25 cm vékonybélre van szükség (15). Emiatt logikusnak tűnik, hogy az ileocecalis billentyű megfelelő pótlásával az életkilátásokat növelhetnénk, és a nem éppen szövődménymentes tartós és drága parenteralis táplálás (30) időtartamát is rövidíthetnénk.

Az ileocecalis billentyű pótlására szolgáló sebészi megoldások közül a legismertebb a vékonybél invaginációjával képzett művi szelep. Ezek a szelepek - mai ismereteink szerint - csupán passzívan helyettesítik az ileocecalis billentyűt, de refluxgátló hatékonyságukat több kísérlet is alátámasztja (10, 17, 19, 20, 74).

Az említett tanulmányok főként a refluxgátló tulajdonság pótlására összpontosítanak, pedig az előbb felsoroltak miatt a gyermeksebészi gyakorlatban a béltartalom anterograd áramlás lassításának is komoly jelentősége van. Nem található irodalmi adat arra vonatkozóan, hogy az invaginált szelepek anterograd és retrograd hidrosztatikai paraméterei hogyan viszonyulnak egymáshoz és az ileocecalis billentyű hasonló paramétereire. Arra sincs irodalmi adat, hogy hogyan változnak ezek az értékek az invaginált szelepek hosszának függvényében, pedig az optimális ileocecalis billentyű pótlás megtervezéséhez ezek az adatok igen fontosak.

Az ileocecalis junctio refluxgátló képességének felhasználása más szervek sebészetében nem új ötlet. Eltávolított gyomor (60), vagy gége (81) pótlására is használták már. A gyermeksebészetben az extrahepatikus epeút atresia primer rekonstrukciójára alkalmazták (22). A biliaris atresia ma is első lépcsős kezelésének számító Kasai-féle porto-enterostomia leggyakoribb (közel 80%) szövődménye a postoperatív cholangitis (51, 69, 105). Míg a korábbi irodalmi adatok az invaginált vékonybél-szelepek hatékonyságáról számoltak be a postoperatív cholangitis megelőzésében (62, 75), az újabb közlemények szerint az antireflux technikák nem befolyásolják a cholangitis gyakoriságát (45, 80).

Ezek az adatok azt sugallják, hogy a postoperatív cholangitis kialakulásában az ascendáló fertőzésnek kis szerepe van. Ugyanakkor más tanulmányok azt bizonyítják, hogy a cholestatikus máj különösen fogékony az ascendáló fertőzésekre (11). Ezért egy mikrobiológiailag hatékony bilioentericus anastomosistól elméletileg elvárható, hogy csökkentse a postoperatív kockázatot.

Elképzelhető, hogy a nagy hidrosztatikai antireflux ellenállás ellenére az invaginált szelepek nem bírnak megfelelő mikrobiológiai hatékonysággal, és ezért voltak hatástalanok a klinikumban. Az ileocecalis billentyűt porto-enterostomaként használó egyetlen tanulmány szerint a postoperatív cholangitis gyakorisága 10%-kal csökkent az eredeti Kasai műtétekhez képest (22). Vajon az ileocecalis billentyű lényegesen kisebb hidrosztatikus antireflux hatékonyság mellett jobb mikrobiológiai barrier? Nem található arra utaló adat az irodalomban, hogy hogyan viszonyul egymáshoz a hidrosztatikai ellenállás és a mikrobiológiai hatékonyság a különböző antireflux szelepekben.

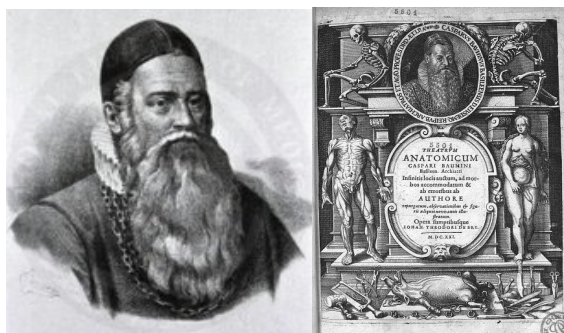
Kutatásaim során tehát gyermeksebészeti szemszögből kívántam vizsgálni az ileocecalis junctio jelentőségét. Így az ileocecalis junctio motilitásának neuroanatómiai hátterét, a csecsemőkorban gyakran előforduló motilitási zavarának, a primer vezetőpont nélküli invaginációknak neuroanatómiai összefüggéseit, fejlődési rendellenességeinek (atresia, agenesia) műtéti megoldásait, az ileocecalis billentyű pótlásának nehézségeit és az extrahepatikus biliaris atresia rekonstrukciójában történő felhasználás előnyeit. Célkitűzéseimet ennek megfelelően állítottam össze.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az ileocecalis junctio anatómiája

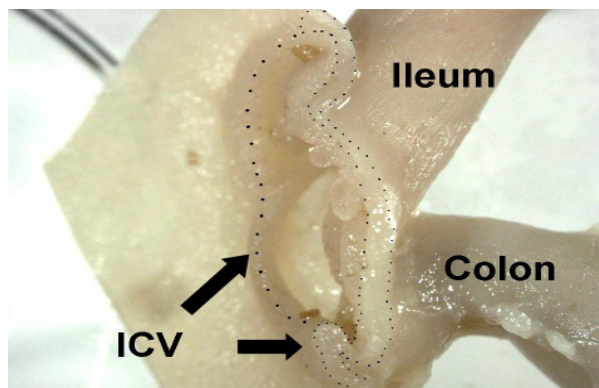
2.1.1. Makroszkópos megjelenés

A vékony és a vastagbél csatlakozásánál található ileocecalis billentyű régóta ismert képlet. Első leírója, Caspar Bauhin (1560-1624), a baseli egyetem első hivatalos anatómia professzora az 1590-ben megjelent *De corporis humani: Libri IIII.* című könyvében (1.ábra) már megemlíti. A német és a magyar nyelvterületen ma is használatos megnevezés, a Bauhin billentyű, az angolszász területen szinte ismeretlen.



1. ábra
Caspar Bauhin és anatómiai tankönyve 1590-ből.

Rágcsálókban, pl. patkányban és egerben, a vékony- és vastagbél egymástól alig különböztethető meg. Mindkettő a tág, kb. a gyomor méretével megegyező, coecumba nyílik. A közös beszájadzást a coecum egy redője választja el a coecum többi részétől. Ez a redő felel meg az ileocecalis valvulának vagy sphincternek (2. ábra) (78).



2. ábra
Patkány coecum hosszanti metszet.
Nyíl jelzi az ileocecalis billentyűként funkcionáló coecalis redőt.
ICV: ileocecalis billentyű

Emlősökben a terminális ileum rövid szakasza a coecum lumenébe papillaszerűen betüremkedik. Hosszában felhasított bélen nyálkahártya redőnek tűnik. Emberben a korai tanulmányok két különböző típust különítettek el. Az egyik ún. „bilabialis” típus, amely klasszikusan kétvitorlájú billentyűre hasonlít, és egy „papillaris” típusút, amely a coecumba betüremkedik (14). Mivel ezek a vizsgálatok általában 24 órával a halál után történtek, ez az osztályozás a postmortem változások miatt nem megbízható. Ugyanakkor az in vivo endoscopos megfigyelések valahogy a kettő között írják le a struktúrát (7).

2.1.2. Mikroszkópos anatómia

2.1.2.1. Nyálkahártya, submucosa

A megvastagodott sphincter jellegű körkörös izomréteget a coecum felől vastagbél-, míg az ileum felől vékonybélre jellemző nyálkahártya fedi. A nyálkahártya-átmenet a billentyű szabad végén látható. A submucosában számos Peyer plaque figyelhető meg (7).

2.1.2.2. Izomrétegek

DiDio és Anderson 1968-ban leírta, hogy az ilealis izomréteget a coecum izomrétege körkörös körülvéve (14). Quigley és Phillips szerint a hosszanti ilealis izomrostok ezzel szemben kettéválnak, a külső rostok folytatódnak a coecum és a colon ascendens hosszanti rostjaiban az ileocoecalis billentyűt elkerülve, míg a belső rostok az ileocoecalis billentyűben összeolvadnak a coecalis hosszanti rostokkal. Az ilealis eredetű körkörös rostok a billentyű szabad végénél folytatódnak a coecum körkörös rostjaiban. Az összeolvadt hosszanti rostok a billentyűben penetrálnak a körkörös rostokba a billentyű szabad végében (72).

2.1.2.3. Intrinsic idegrendszer

2.1.2.3.1. Ismert tények

Az ileocecalis billentyű intrinsic idegrendszerét sok tanulmány vizsgálta. Murakami az 1952-ben megjelent tanulmányában leírja, hogy az ileocecalis billentyű plexus myentericus gazdag idegelemekben. Murakami azt is feljegyezte, hogy a Dogiel I. típusú neuronok hiányoznak, míg a Dogiel II. neuronok nagy számban találhatóak az ileocecalis billentyűben (7).

A kilencvenes évek végén a plexus myentericus idegsejtjeit Ward kutyákban (103), Aldorfer macskákban (1) tanulmányozta nitrogén-oxid-szintetáz (NOS) immunhisztokémia és nicotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát-diaforáz (NADPH-d) enzimhisztokémia segítségével, kiemelve a nonadrenerg és nonkolinerger neuronok nagy számát és legfontosabb szerepét az ileocecalis billentyű reflex-relaxációjában. Számos egyéb kisebb jelentőségűnek tulajdonított neurotranszmitter (vasoaktiv intestinal polypeptid, Substance P, Calcitonin gene-related polypeptid) jelenlétét is kimutatták (7). A legutóbbi, az ileocecalis billentyű intrinsic idegrendszerével foglalkozó tanulmány 2005-ben jelent meg. Szerzői, Kaur és munkatársai, ezüsthfestést alkalmazva tették láthatóvá az ileocecalis billentyű idegelemeit, de számos részlet tisztázatlan maradt (42).

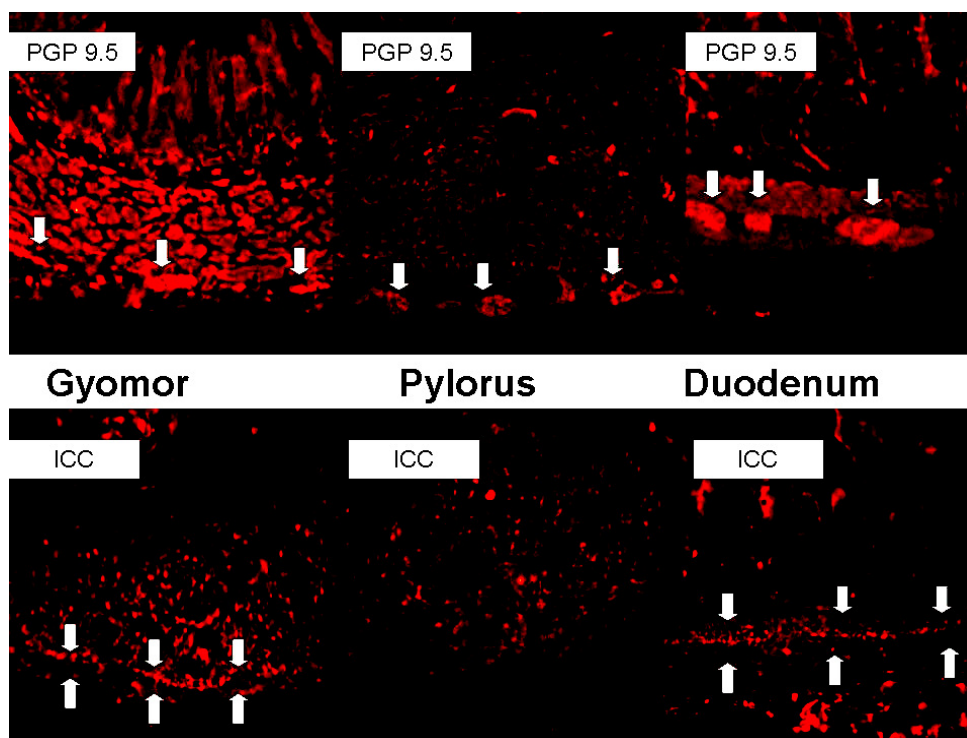
2.1.2.3.2. Ismeretlen adatok

2.1.2.3.2.1. Térbeli szerkezet, kvantitatív adatok

A számos tanulmány ellenére részletes kvantitatív adatok nem állnak rendelkezésre a nitrogén-oxid neurotranszmittert tartalmazó, a bél relaxációjáért felelős, ún. nitricus neuronokról az ileocecalis billentyűben. A plexus myentericus térbeli struktúrájára, a neuronok alkotta hálózatra vonatkozó információ sem található az irodalomban. Az eddigi vizsgálatok általában klasszikus paraffinba ágyazott, vagy fagyasztott metszeteken történtek. Holott az úgynevezett térbeli vizsgálat, már nem újkeletű, mégsem alkalmazta még senki az ileocecalis billentyű intrinsic idegrendszerének vizsgálatára.

2.1.2.3.2.2. A vékonybél és a vastagbél közötti idegi összeköttetés

Ismert, hogy az ileum és a coecum képes a motilitását összerendezni. Ugyanakkor az ilealis myoelektromos aktivitások nagy részét nem követi coecalis aktivitás (57). Vajon magyarázza-e valamilyen anatómiai eredetű myoelektromos izoláció azt, hogy a vékonybél myoelektromos ingerületei közül néhány az ileocoecalis junctióban blokkolódik, és nem terjed a vastagbéltre? Ismert például, hogy egy kötőszövetes réteg izolálja a pylorust a duodenum izomrostjaitól (9), mint ahogyan a myentericus Cajal-féle (a bél saját pacemaker sejtjeiként is ismert) sejtek alkotta hálózatban lévő defektus akadályozza a lassú myoelektromos depolarizációs hullám (a perisztaltika feltétele), a „myoelectric slow wave” terjedését ugyancsak a pylorus és a duodenum között (3. ábra) (102).



3. ábra

Az ábra szemlélteti a gastro-duodenalis myoelektromos izoláció anatómiáját.

A felső sorban: PGP 9.5 panneuronális marker immunhisztokémia segítségével festettem meg a 60 napos sertésembrió plexus myentericusát a gyomorban, a pylorusban, és a duodenumban.

Jól látható a folytonos plexus myentericus (nyilak).

Az alsó sorban: ugyanezen species, C-kit immunhisztokémia segítségével festettem meg a myentericus Cajal-féle sejteket. Jól látható, hogy a pylorusban myentericus Cajal sejt-hálózat hiányzik.

2.1.2.3.2.3. Az ileocecalis billentyű intrinsic beidegzésének infantilis jellemzői

Az enterális idegrendszer ismerete fontos a motilitási problémák megértése szempontjából. A csecsemőkorban leggyakoribb akut beavatkozást igénylő hasi kórkép, az invaginatio, kísérletes állatmodellje a lipopoliszacharid indukálta intussusceptio. Ez a modell rávilágított arra, hogy az invaginatio az ileocecalis junctio motilitási zavarának fogható fel, és összefügg az egyik legfontosabb inhibíciós neurotranszmitter, a nitrogén-oxid felszabadulásával (53).

Nem ismert azonban, vajon az ileocecalis billentyű intrinsic beidegzésének infantilis jellegzetességei magyarázzák-e azt, hogy az invaginatio miért az ileocecalis átmenetben történik, és miért csecsemőkorban fordul elő a leggyakrabban.

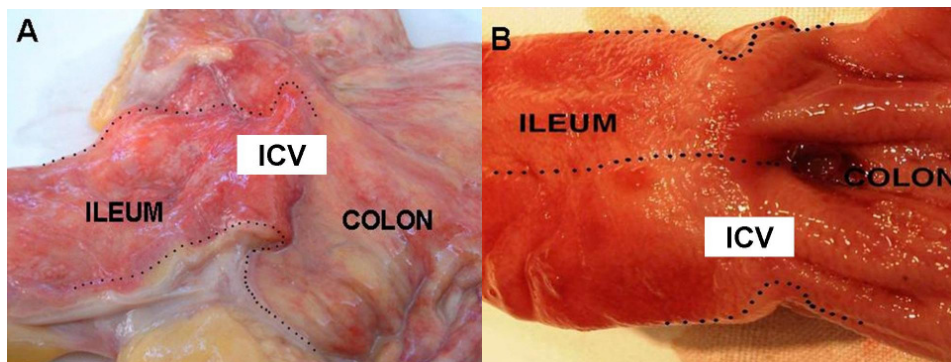
2.1.3. A modellválasztás anatómiai szempontjai

A kutya illetve a sertés ileocecalis billentyű anatómiai struktúrája nagyon hasonlít a humán billentyűhöz (4. és 5. ábra) (70), ezért kísérleti modellnek mindkettő jól alkalmazható. Az irodalomban fellelhető kísérletes és fiziológiai tanulmányok egy része inkább kutya- (71), míg a különböző hiszto- és immunhisztokémia vizsgálatok legtöbbje sertésmodellen történt (61).

Tanulmányomban a szövettani vizsgálatokat két ok miatt végeztem sertés modellen. Az egyik ok az, hogy a kereskedelemben kapható anti-human antitestek a nagyfokú homológia miatt jól használhatóak sertés modellen. A másik pedig az, hogy az állatok életkorának pontos ismerete fontos volt a postnatalis változások nyomonkövetéséhez.

A tanulmány további fejezeteiben tárgyalt, inkább fiziológiai jellegű kísérletek pedig (állattartási okok miatt) keverék kutya modellen történtek.

Elméletileg a modellválasztás során felmerült a human cadaver alkalmazásának gondolata is, mely anatómiai szempontból a legmegfelelőbb lett volna, de ezt az idegi működés hiánya miatt sokkal inkább afiziológias modellnek tekintettük, ezért az ötletet elvetettük.

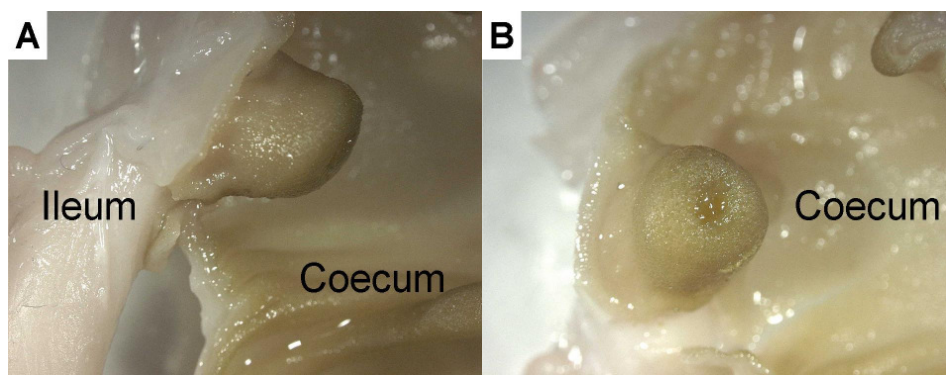


4. ábra

Az emberi és a kutya ileocecalis billentyűje közötti hasonlóság.

A: hossz tengelyében felhasított human ileocecalis junctio (felnőtt cadaver)

B: hossz tengelyében felhasított kutya ileocecalis billentyű



5. ábra

Sertés ileocecalis billentyű (újszülött).

A: oldalról, B:szemből fényképezve mutatja be a hasonlóságot az előző ábrán látható human és kutya billentyűkkel.

2.2. Az ileocecalis junctio élettana

2.2.1. Anterograd passzázs kontroll

A terminális ileum, az ileocecalis billentyű, és a coecum együttesen funkcionális egységet képez (58). Szabályozza a béltartalom anterograd áramlását és megakadályozza a vastagbél tartalom regurgitációját. Egyfajta intestinalis gyomor funkciót lát el. A vékonybél és a terminális ileum különösen értékes felszívó felület a zsírok, B₁₂ vitamin, epesavak, mineraloidok szempontjából (6, 66, 89, 90). Ha a béltartalom az optimális idő előtt kiürül a terminális ileumból, a felszívódás zavart szenved, nagyobb zsír és nedvességtartalmú széklet kerül a vastagbélbe. Az ileocecalis billentyű intrinsic (tetradotoxin rezistens) izom eredetű tónussal rendelkezik, melyet ún. „high pressure zone”-nak neveznek (57). Az ileocecalis billentyű, hasonlóan a cardiához és a

belső analis sphincterhez alapállapotában zárva van. A zárt ileocecalis billentyű elősegíti, hogy a béltartalom a terminális ileumban összegyűljön. Az ileocecalis billentyű szakaszosan nyílik meg, azaz a béltartalom nem állandóan folyik, hanem a terminális ileum ún. „giant” kontrakcióinak hatására, kisebb adagokban, sugárban préselődik a coecumba (34). A coecumból a béltartalom a coecalis perisztaltika hatására passzálódik tovább.

2.2.2. Regurgitáció kontroll

Az ileocecalis junctio másik feladata a vastagbéltartalom regurgitáció megakadályozása. Ebben passzív és aktív sajátosságok együttesen vesznek részt. Passzív tulajdonságok közül szerepe lehet a junctio geometriájának, azaz annak, hogy a coecumnak nagyobb az ileumhoz viszonyított űrmérete, és a terminális ileum a coecum oldalába úgy csatlakozik, mint egy cső egy nagyobb edénybe. Ennek a térbeli szerkezetnek a jelentőségét mutathatja az is, hogy kutyákban a coecumot rögzítő ligamentum átvágása csökkentette a refluxgátló hatékonyságot (50). A másik lényegesebb passzív momentum az ileocecalis billentyű szelepszzerű alakjából származik. Könnyű elképzelni, hogy az emelkedő coecalis nyomás az ileocecalis billentyű szelepszzerű szárnyait összeszorítja.

Aktív tényezők között fontos az ileocecalis billentyű intrinsic tónusa, ami az ileumot alap állapotban zárva tartja. Illetve a colo-ileális excitációs reflex, melyet a 2.2.4.2. pont alatt külön részletezek. A vékonybélbe jutott rövid szénláncú zsírsavak, melyek a coecalis fermentáció termékei, a terminális ileumban pH csökkenést okoznak, azt - egyfajta clearance mechanizmust létrehozva - fokozott perisztaltikára készítetik (57).

2.2.3. Mikrobiológiai funkció

A vékonybél és a vastagbél mikroflórája egymástól nagymértékben különbözik (32). Az ileocecalis junctio hatásos mikrobiológiai barrier, melynek funkciójában a refluxgátlás nagyobb jelentőséggel bír az ileum propulzív motilitásánál (17). A regurgitációt megakadályozó aktív és passzív tényezők mellett, az ileocecalis billentyűben és a terminális ileumban látott számos lymphaticus elemnek (Peyer plaque) aktív szerepe lehet a vékonybél bakteriális kolonizációjának megakadályozásában.

2.2.4. Az ileocecalis junctio reflexei

Az ileocecalis junctio funkcionális egységét mutatja az is, hogy a béltartalom áramlásának egyenirányítását két markáns reflexív segíti. Az egyik az ilealis eredetű inhibíciós, a másik a coecalis eredetű excitációs reflex.

2.2.4.1. Ileo-ileocecalis inhibíciós reflex

A terminális ileum kiürülését segítő reflex. A terminális ileum nagyfokú telődése, az ileum falának feszülése az ileocecalis billentyű és a coecum reflex-relaxációjához vezet (86). Sertésben kísérletesen kiváltott ileális distensio okozta ileocecalis billentyű relaxációt β receptor blokkoló (Bethamecol) és szelektív nitrogén-oxid-szintetáz (NOS) blokker L-nitro-arginin-metilészter (L-NAME) segítségével gátolni lehet (40).

2.2.4.2. A colo-ileocecalis excitációs reflex

A coecalis nyomás emelkedése az ileocecalis billentyű tónus fokozódásához vezet, megakadályozva a colo-ilealis refluxot (86). Sertésben a colo-ileocecalis excitációs reflexválasz L-NAME jelenlétében inhibícióra változott (40). Ebből arra következtethetünk, hogy a colo-ileocecalis excitációs reflex mediátora sertésben a nitrogén-oxid.

2.2.4.3. Egyéb reflexek

A két markáns reflexív mellett az ileocecalis junctio bonyolult működésére utaló egyéb, ileo-ileocecalis excitációs, és colo-ilealis inhibíciós reflexeket is leírták már. Az ileocecalis billentyű közelében kiváltott ileális distensióra adott válasz az ileocecalis billentyű aktuális tónusától függött (40, 44, 73). Kajimoto tanulmánya szerint kisfokú coecalis distensio az esetek egy harmadában az ileocecalis billentyű tónusának csökkenését okozta (40).

2.3. Az ileocecalis junctio patológiája

2.3.1. Fejlődési rendellenességek

2.3.1.1. Az ileocecalis billentyű atresiája

Az ileocecalis billentyű izolált atresiája ritka fejlődési rendellenesség. Az irodalomban összesen három eset található (8, 21). Haspuffadás, meconium ürítés elmaradása, táplálhatatlanság, hányás tünetei újszülöttkorban jelentkeznek. A szokásos natív hasi felvételen distalis vékonybél atresiára jellemző kép látható. A pontos szituáció csak a műtét során derül ki. A közölt esetekben az ileocecalis billentyű teljes egészében kifejlődött, csupán a coecumba vezető nyílását, egy a coecum és az ileum közös fala alkotta membrán zárta el. A terminális ileum distalis szakasza és a coecum között jelentős kaliberkülönbség volt észlelhető, mint ahogyan az a bélatresiák esetén megszokott. Az appendix vermiformis minden esetben a helyén volt megtalálható. A vékonybél, illetve a vastagbél helyzete és hossza normális volt.

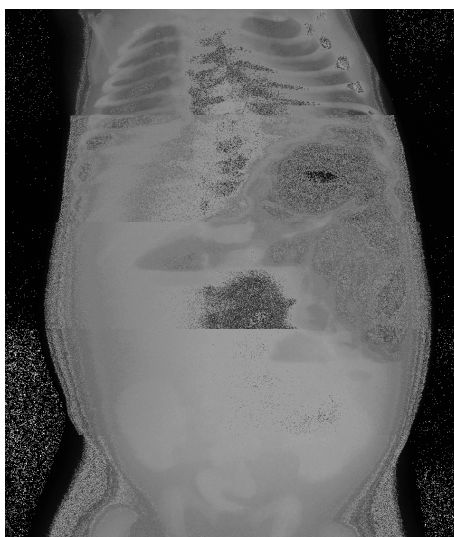
2.3.1.2. Az ileocecalis billentyű agenesiája

Az ileocecalis billentyű agenesiájáról csak két esetismertetés található az irodalomban (12, 28). A korábbi közlésben az ileum nem is kapcsolódott a colonhoz, és az ileocecalis billentyű teljesen hiányzott. Az appendix vermiformis jelenlétéről nem nyilatkozik a közlemény. Az eset furcsasága, hogy a (valószínű még intrauterin) kialakult ileocolicus fistula miatt az ileocecalis disgenesis nem újszülöttkorban okozott tüneteket. A beteg 20 éves korban került műtőasztalra masszív enterolithiasis okozta ileus miatt (28). Az ileocecalis junctiót érintő fejlődési rendellenességek között kissé gyakoribb az appendix vermiformis agenesiája. A PubMed-en 23 esetet találtunk. A jelenség magyarázata nem ismert, viszont a terhesség alatt Thalidomidot szedő anyák gyermekeiben halmozódott (87).

Egy, a mi munkacsoportunk által publikált esetben, az ileocecalis billentyű és az appendix vermiformis teljes agenesiája együttesen fordult elő (12).

Esetismertetés

Egy 4200 g-mal, a 41. gesztációs héten farfekvés miatt sectióval született, egy napos fiú újszülöttet haspuffadás és meconium ürítés elmaradása miatt referáltak a gyermeksebészeti osztálynak. Az anya terhesség alatt gyógyszert nem fogyasztott. A függesztett natív hasi röntgenképen folyadéknívókkal telt tágult vékonybélkacsok ábrázolódtak, az alhasi gázárnyékok hiányoztak (6. ábra). A gastrographinos irrigoscopia microcolont igazolt, a kontrasztanyag a colon transversum közepéig jutott.

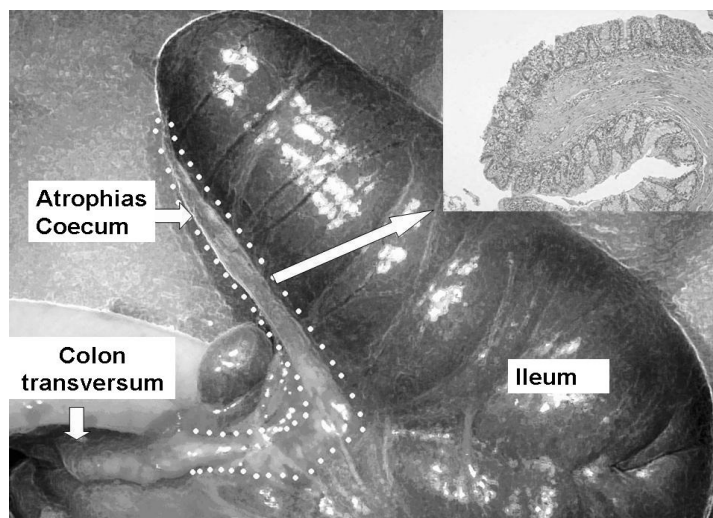


6. ábra
A preoperatív függesztett natív hasi röntgenfelvétel vékonybél atresiára utaló képe.

Ileum atresia gyanújával laparotomiára került sor. A pontos diagnózis csak a műtőasztalon derült ki. A műtét során tágult terminális ileumot találtunk, melyhez egy kb. 6 cm-es elzáródott atrophias coecumnak és colon ascendensnek megfelelő bélszakasz tapadt. Ezen a bélszakaszon appendix vermiformis és tenia coli nem volt felismerhető. A mesenteriumon V-alakú deffectust is észleltünk, egyéb forgási rendellenességet nem tapasztaltunk. Az ileum vége nem csatlakozott a coecumhoz úgy, ahogyan ileocoecalis billentyű atresia esetén leírták. Az atresiás ileum kifejezetten tág volt, a coecum hypoplasiás, a colon pedig „microcolon”. Az atresiás bélszakaszt resecáltuk a terminális ileum 8 cm-es aboralis tágult szakaszával együtt, majd Dennis-Brown anastomosist készítettünk, a bélvesztéséget minimálisnak ítéltük.

A gyermek meconiumot ürített a 2. postoperatív napon. Oralis táplálását az 5. napon elkezdtük. Műtét után 8 hónappal panaszmentes, a súlya a 30-as percentil értéken belüli.

A patológiai és szövettani vizsgálat megállapította az ileocecalis billentyű agenziáját és az appendix vermiformis továbbá a colon ascendens atrophiáját, a tenia coli hiányát (7. ábra).



7. ábra

Az ileocecalis billentyű és az appendix vermiformis agenesia műtéti lelete.

A jobb felső sarokban az atresiás coecum hypopláziás nyálkahártyája szövettani képe. A kép bal oldalán microcolon és az atrophiás ascendens colon a kitágult elzáródott terminális ileumhoz „hozzásülve”.

Az ileocecalis billentyű és az appendix vermiformis hiányzik. A kép jobb oldalán a tágult terminális ileum látható.

2.3.1.3. Az ileocecalis junctio szerepe újszülött- és gyermekkori sebészeti betegségekben

2.3.1.3.1. Invaginatio

Az invaginatio az egyik leggyakoribb csecsemőkori sebészeti ellátást igénylő akut hasi kórkép, melynek során egy proximális bélszakasz a folytatásában lévő distalis bélszakaszba teleszkópszerűen betűrődik. A betűrődött bélszakasz mesenteriuma megtörik, vénás pangás alakul ki, a nyálkahártyavérzés formájában lelöködik. A vérellátás progresszív zavara folytán a betüremkedett bélszakasz necrotizál. Leggyakrabban 6-12 hónapos kor körül fordul elő (109). Az invaginatiót leírták már fiatal állatokban pl. sertésben is (23, 92, 100). Több mint 90%-ban az ileocecalis junctiót érinti (109). Az esetek többségében valamilyen felső légúti illetve gastrointestinalis virális vagy bakteriális infekciót követően alakul ki (5, 54, 59). Vezetőpont

csecsemőkorban az esetek 90%-ában nem található (58, 106). A vezetőpont (polip, tumor, bélduplikatúra stb.) okozta invaginatio későbbi életkorra jellemző (109).

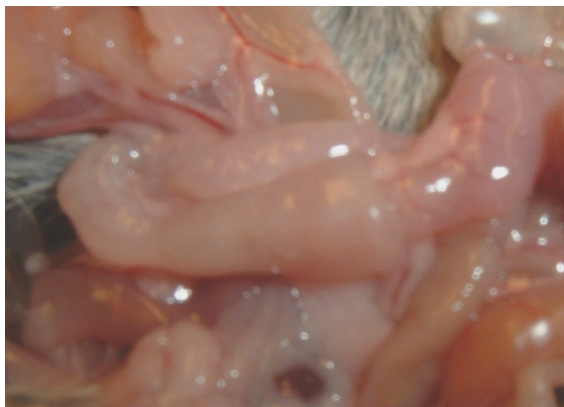
Az invaginatio etiológiája nem teljesen ismert. Több hipotézis is létezik a magyarázatára. Legrégbbi elképzelés szerint a mesenteriumon lévő nyirokcsomók és vagy a terminális ileum nyálkahártyáján lévő Peyer-plaque-ok megduzzadnak, és vezetőpontként viselkedhetnek (5). Ugyanakkor Grant 60 eset revíziója kapcsán semmiféle pathológiás elváltozást nem talált (27).

A fokozott perisztaltika szerepét az invaginációban számos közlemény tárgyalja. Gastrin injekció állatkísérletben fokozott perisztaltikát idéz elő. Jin és munkatársai emelkedett gastrin szintet mértek invaginációs csecsemőkben egészséges kontrollokhoz képest (39). Piridosztigmin (acetil-kolin-észteráz inhibitor) orális adagolása növekvő adagokban, kutyákban fokozott intestinalis perisztaltikához, hasmenéshez és invaginációhoz vezetett (47).

A nitrogén-oxid motilitás fokozó hatása is régóta ismert, a székletlazítóként használt magnézium-szulfát a hatását nitrogén-oxidon keresztül fejt ki (38). Másrészt a csökkent neuronális nitrogén-oxid szekréció aperistalsishoz és sphincter obstructiohoz vezethet (35). Újabbban az intussusceptio experimentális modelljében az invaginációt, az ileocecalis junctio motilitási zavarának tartják, amiért az emelkedett nitrogén-oxid szint a felelős (64, 94, 101).

2.3.1.3.1.1. Az invaginatio experimentális modellje

Bakteriális lipopoliszacharid intraperitoneális injekciója egerekben invaginációt okoz (8. ábra) (53).



8. ábra

A 10mg/kg E. coli lipopoliszacharid intraperitoneális injektálását követően, 6 óra múlva kialakult invaginatio képe egérben.

Az invaginatio lipopoliszacharid indukálta experimentális modelljében a bélben felszabaduló nitrogén-oxid okozta motilitás-változást tartják felelősnek az invaginációért (64, 97, 101).

A nitrogén-oxid a nitrogén-oxid-szintetáz (NOS) enzim izoformjai által szintetizálódik az epitheliumban, az endotheliumban, a macrophagokban és a myentericus neuronokban. A nitrogén-oxid számos élettani funkcióval rendelkezik, például relaxálja az arteriolák falát, a macrophagok lysosomáiban a bekebelezett patogének elpusztításában vesz részt. A nitrogén-oxid a bél egyik legfontosabb neurotranszmittere, felelős a bélfal „nonadrenergic-noncholinergic” (NANC) relaxációjáért (93). A bélfalban és a szérumban mért nitrogén-oxid szintje is emelkedett volt patkányokban lipopoliszacharid injektálása után. Az, hogy a NOS blokkolásával (L-NAME) az invaginatio kivédhető volt a patkány modellben bizonyítja, hogy az intussusceptio az emelkedett nitrogén-oxid szint következménye (97). Habár a macrophagokból felszabaduló nitrogén-oxid elméletileg önmagában okozhat intestinalis motilitás-változást, mégis a myentericus neuronokból felszabaduló nitrogén-oxidot, nem pedig a macrophagokból kiszabaduló nitrogén-oxidot tartják felelősnek a gyulladásos bélbetegségekben tapasztalt motilitási problémákért (96). Szintén a myentericus neuronokból felszabaduló nitrogén-oxid bizonyult felelősnek a szepszisben kialakult paralyticus ileusért (4). Kelles és Schermann beszámolt arról, hogy a mastocytákból kiszabaduló különböző gyulladásos mediátorok, cytokinek (pl. IL 1 β és IL 6), a nitricus myentericus neuronokat izgatják, míg a kolinerg neuronokból az acetil-kolin kiszabadulását gátolják (43, 88). Tjwa és munkatársai publikálták, hogy az Interleukin 1 β tengerimalacok terminális ileumában aktiválta a plexus myentericus nitricus neuronjait, és a NOS expresszióját is fokozta (95). Velentine és munkatársainak közlése szerint a patkányban 5 %-os ecetsav és Interleukin 1 β fokozta a myentericus neuronok NOS expresszióját (99). Vannucchi és munkatársai tanulmánya szerint a myentericus neuronokban a NOS mindhárom izoformja megtalálható (98). Tudjuk, hogy a plexus myentericus több neuront tartalmaz a gerincvelőnél (26), és az is ismert tény, hogy a gastrointestinalis rendszerben regionalis különbségek vannak ezen neuronok eloszlását illetően. Továbbá ez az eloszlás az életkorral is változik. Ezek alapján valószínű, hogy a nitricus myentericus neuronok térbeli és korbeli eloszlásának vizsgálatával választ adhatunk az invaginatio

patogenezisének néhány kérdésére. Például arra, hogy mi az ileocecalis billentyű szerepe az invaginatio kialakulásában, és miért épp a csecsemőkorban a leggyakribb (2).

2.3.1.3.2. „rövidbél” szindróma és az ileocecalis billentyű

A „rövidbél” szindrómáról Rickham 1967-es definíciója szerint akkor beszélünk, ha az újszülött a kalkulált vékonybélhosszának 30%-val vagy ennél kevesebbel rendelkezik (76). Egy 1972-ben Wilmore által készített, 50 újszülöttet magában foglaló tanulmányból tudjuk, hogy a „rövidbél” szindróma túléléséhez, a teljes parenteralis táplálás akkori színvonalán, ileocecalis billentyű nélkül 38 cm hosszúságú jejunum-ileum szakaszra volt szükség, míg az ileocecalis billentyű megtartása mellett 15 cm-es vékonybél szakasszal is életben maradtak az újszülöttek (107).

Jóval később, a parenteralis táplálás fejlődése következtében ezek az adatok módosultak, de az ileocecalis billentyű jelenlétének még mindig szignifikáns szerepe van a túlélésben, illetve a parenteralis táplálás időtartamában. Dorney közlése szerint ileocecalis billentyűvel a teljes bélhossz 5 %-ával (kb. 11 cm) is esély van a túlélésre, míg ileocecalis billentyű nélkül ehhez a teljes bélhossz 10 %-ára (kb. 25 cm) van szükség (15). Tehát a parenteralis táplálás hatékonyságától függetlenül, az ileocecalis billentyű nélkül kb. kétszer olyan hosszú bélszakaszra van szükség az életbenmaradáshoz, mint az ileocecalis billentyűvel. Természetesen ez azt is jelenti, hogy az ileocecalis billentyű jelenléte a szükséges parenteralis táplálás időtartamát is rövidíti, ami a szövődmények veszélye miatt nem mellékes szempont.

Az elvesztett ileocecalis billentyű passzázs lassító hatásának pótlására több sebészi megoldás is létezik. Ilyenek például az antiperisztaltikus vékonybél segmens, a colon interpositum és az betüremített (intussusceptalt) vékonybél-szelepek (37). Habár az invaginált vékonybél-szelepek csupán passzív anterograd ellenállást fejtenek ki, hatékonyságukat „rövidbél” szindrómában több tanulmány is igazolta (29, 74, 77).

2.3.1.3.3. A Crohn betegség és az ileocecalis billentyű

A Crohn betegség, azaz ileitis terminalis nem specifikus gyulladós bélbetegség, kezelése elsősorban konzervatív. A szövődmények pl. strictura, perforáció, vérzés, tályog, fistulaképződés, vagy konzervatív kezelésre nem reagáló kórkép esetén szükség lehet sebészeti beavatkozásra (49). A sebészeti beavatkozások kumulatív incidenciája, gyermekeknél, 40-70% között mozog a diagnózis felállítását követő 10 évben (30). Tekintettel arra, hogy a betegség a terminális ileumot érinti elsősorban, a terminális ileum és az ileocecalis junctio resectiója gyakori műtéti megoldás (94). A sebészeti kezelés ellenére a recidíva aránya magas (67). Ennek egyik feltételezett oka, hogy a resectio során az ileocecalis billentyű elvesztése miatt a vastagbél flóra könnyebben jut az ileumba. A terminális ileum bakteriális kolonizációja növeli a recidíva esélyét (63). Korábbi kísérletes vizsgálatokból ismert, hogy a művileg képzett, hidrosztatikailag hatékony szelepek képesek megakadályozni a colo-ilealis regurgitációt, és képesek csökkenteni a terminális ileum vastagbélbaktériumok okozta kolonizációját (10, 17, 19, 20). Bakkevold és munkatársai invaginált vékonybél-szeleppel ellátott ileo-colicus anastomosist készítve, 25 betegen végzett retrospektív tanulmányban, egyértelműen kevesebb aszimptomatikus és szimptomatikus recidívát észleltek (3).

2.4. Az ileocecalis junctio sebészete

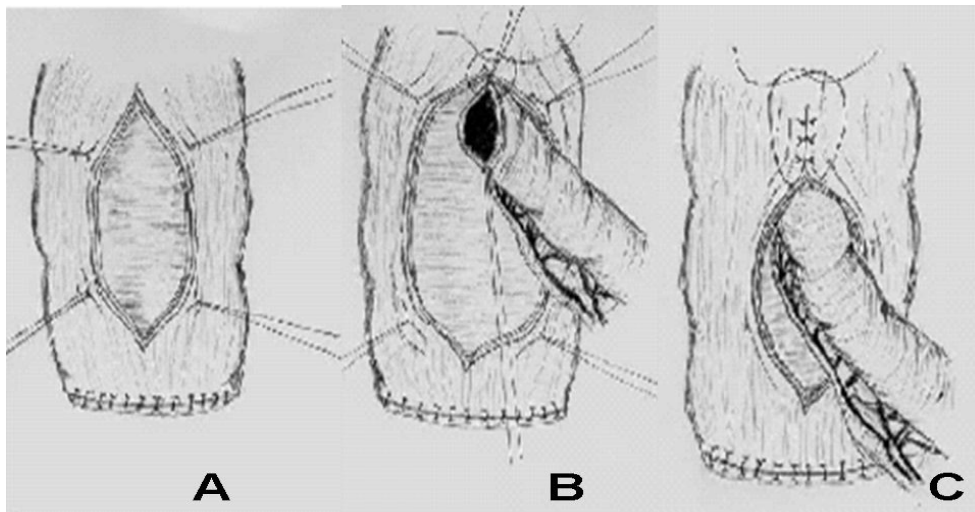
2.4.1. Ileocecalis billentyű-plasztika

Az atresiás ileocecalis billentyű műtéti kezelésére különböző szerzők különböző sebészeti megoldásokat ajánlanak. Ein és munkatársai az atresiás segmens eltávolítása után ileocolicus anastomosist készítettek (21). A resectio nem járt nagy bélveszteséggel és a betegek a nyomonkövetés tanulsága szerint jól tolerálták az ileocecalis billentyű elvesztését. Cacciari és munkacsoportja ezzel szemben sokkal fiziológiásabb megoldást választott és ileocecalis billentyű-plasztikát végzett (8). Resecálta a billentyűt elzáró membránt, és felszívódó öltésekkel rekonstruálta az ellapult billentyű falát. A Cacciari által leírt beteg története annyiban különbözik Ein betegeitől, hogy Cacciari betege enterocolitis necrotisans és vékonybél perforatio miatt került először műtetre. Az ileocecalis billentyű atresiáját az enterocolitis necrotisans gyógyulása

után, a vékonybél stoma zárása során észlelték. Az ileocecalis billentyű atresiát annak ellenére congenitalisnak tartották, hogy enterocolitis necrotisans után gyakran látunk hegesedést, szűkületet a bélben. Ebben az esetben kaliber differencia már nem nehezítette a műtétet. Cacciari annak ellenére választotta a rekonstrukciót, hogy az enterocolitis necrotisans műtétje során nem vesztett jelentős bélszakaszt. A beteg a nyomonkövetés során panaszmentes volt. Az említett körülmények között, mindkét megoldás helyénvalónak tűnik, a kis esetszám miatt egyértelmű következtetés nem vonható le az eredményeket illetően.

2.4.2. Ileocecalis billentyű-rekonstrukció

Az ileocecalis billentyű hiánya miatt elvesztett colo-ilealis refluxgátlás helyreállítására több sebészeti megoldás létezik. Ilyen például az ileocecalis teleszkóp anastomosis, amikor a terminális ileum vége egyszerűen belelóg a coecumba. A belógó vég mesenterialis felszínére nyálkahártya kúszik és a coecumban az emelkedő nyomás ezt a bélvéget szelepszerűen összenyomja (91). A Lich-Gregoire ureter neoinplantációjára hasonlító technika (9. ábra), amikor a coecum izomfalának hosszanti bemetszése után az ileumot submucosusan a coecum falába süllyeszti (56).

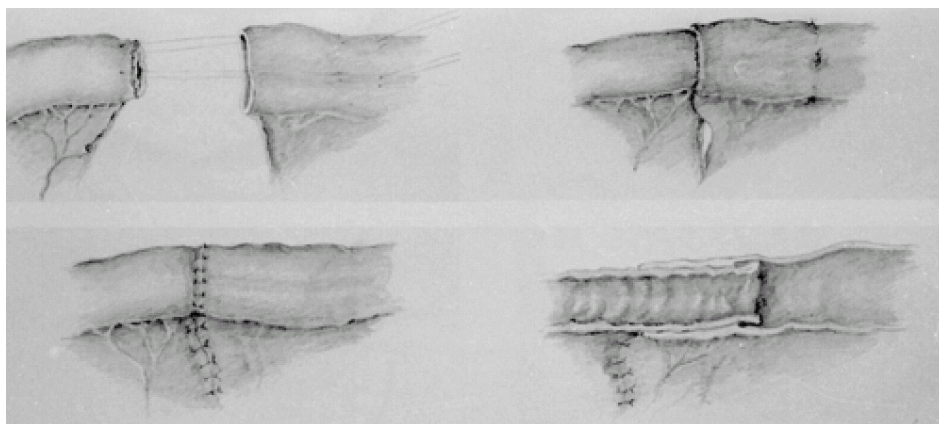


9. ábra

A Lich-Gregoire ureter neoinplantációra hasonlító, Maegawa és munkatársai által 2005-ben közölt ileocecalis anastomosis lépései.

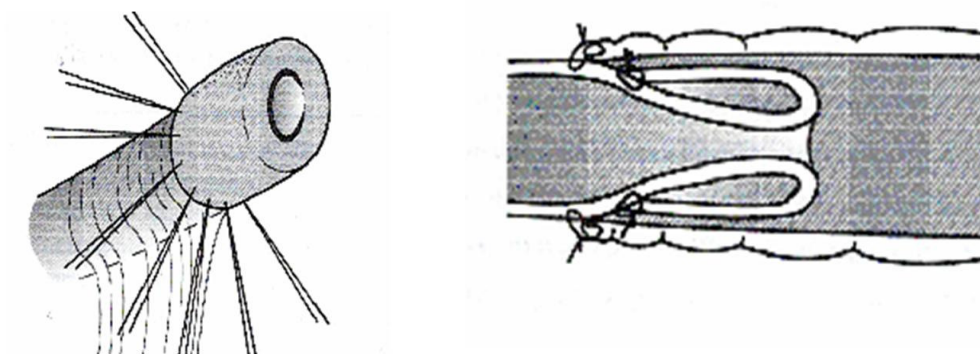
A: a vastagbél serosmuscularis behasítása, B és C: az ileum bevarrása a submucosus alagútba.

Zurita és munkatársai a teleszkóp anastomosisra hasonlító megoldást (10. ábra) eredménnyel alkalmaztak 20 felnőtt betegben az ileocecalis billentyű resectióját követően (110). Az új szelep növelte az ileocolicus tranzitidőt és csökkentette az ileum bakteriális kolonizációját is.



10. ábra
Zurita és mtsai által 2004-be leírt által közölt ileocecalis teleszkóp anastomosis.
Az ileum teleszkópszerűen a vastagbélbe türemkedik

A Ricotta által alkalmazott, invaginált vékonybél-szelephez hasonló ileocecalis anastomosis (11. ábra) hatékonyak bizonyult a kísérleti modellen és emberben is (77).



11. ábra
Ricotta által használt technika.
Az ileum végét kifordítja, azt az ileumhoz öltésekkel rögzíti, majd teleszkópszerű anastomosisot készít.

Talán technikailag legegyszerűbb megoldás, a közvetlenül az ileocecalis anastomosis előtt, az epeút atresiánál a porto-enterostomákban használt, vékonybél invaginációval kialakított szelep az ileumon, ami tulajdonképpen alig különbözik a Ricotta szeleptől. Az invaginált billentyű lehet teljes bélfal vastagságú, illetve a bél serosájától és izomfalától megfosztott nyálkahártyából álló intussusceptum (45, 62, 75, 80). A teljes bélfal vastagságú invaginált vékonybél-szelep készítését a 4.3.4. pont alatt részletesen bemutatom.

Ahhoz, hogy a passzív arteficiális ileocecalis szelepek képesek legyenek bizonyos fokig pótolni az ileocecalis billentyű elvesztett funkcióit, ismernünk kell az ileocecalis billentyű hidrosztatikai paramétereit, a művi szelepek tulajdonságait és azt, hogy azokat hogyan tudjuk változtatni. A tanulmány harmadik fejezete az ileocecalis billentyű és az invaginált szelepek hidrosztatikai tulajdonságainak megismerésén túl azzal foglalkozik, hogyan lehet az invaginált vékonybél-szelepek hosszának változtatásával befolyásolni azok anterograd és retrograd hidrosztatikai jellemzőit.

2.4.3. Biliaris atresia és az ileocecalis billentyű

A bilialis atresia az intra- vagy extrahepatikus epeutak elzáródása következtében kialakult, újszülöttkori icterussal járó kórkép. Az obstructio progresszív folyamat, mely különböző mértékben érinti az epeutakat, és melynek pontos oka máig ismeretlen (41). A bilialis obstructio műtéti megoldása sürgető a fokozódó icterus és májcirrhosis miatt. Ha a gyermek születése után 90 napon belül nem történik műtét, a betegség általában visszafordíthatatlan károsodásokkal jár.

Annak ellenére, hogy a májátültetés technikája egyre jobban finomul, még a mai napig a Kasai féle hepatikus porto-enterostomia készítése számít az első lépésnek az extrahepatikus epeút atresia esetén (46). A májátültetés a következő lépcső lehet. A postoperatív epeútgulladás a leggyakoribb és legveszélyesebb szövődmények közé tartozik (105). Két fő tényező játszik szerepet az epeút gyulladás kialakulásában: az egyik a bilialis atresiával együtt járó epepangás, a másik az intestinalis conduitból származó baktériális kolonizáció (41).

Az eredeti Kasai műtét számos módosításon esett át az ascendáló epeút gyulladás kiküszöbölésének céljából. A Sawaguchi, jejunum conduitot használva, az epét a bélrendszertől teljesen izolálta és a hasfalra vezette ki. Egy másik módszer a Roux-Y kacs közepén készített ideiglenes kétsövű stoma, melyet később lehet bezárni (82). Kimura hosszabbított (80 cm hosszú) jejunum kacsot használ (46). Nakajo által leírt a Roux-Y kacsba integrált invaginált vékonybél-szelep is igen elterjedt megoldás (41, 62). Endo ileocecalis conduitot használt porto-enterostomia céljából 23 betegben és 20 %-kal kevesebb cholangitist regisztrált a 40-60 cm-es Roux-Y kaccsal szemben (22).

Számos közlemény jelent meg az invaginált szelepek hatástalanságáról az irodalomban (45, 65, 80). E közlemények szerzői azt sugallják, hogy az epeútyulladás kialakulásában az epepangás és a haematogén infekció játssza a fontosabb szerepet. Ugyanakkor a bilioentericus conduiton keresztül történő ascendáló fertőzés komoly szerepére is van bizonyíték, különösen a cholestaticus májban (11). Így egy mikrobiológiailag hatékony bilioentericus conduit nem lehet mellékes a postoperatív cholangitis megelőzésében.

A három legismertebb porto-enterostoma (elongált Roux-Y kacs, invaginált billentyűvel integrált Roux-Y kacs és ileocecalis conduit) hidrosztatikai illetve mikrobiológiai hatékonyságát modellen végzett összehasonlító tanulmány nem található az irodalomban.

3. CÉLKITŰZÉSEK

1. Különböző korú sertésekből származó ileocecalis billentyűkön az ileocecalis junctio mikroszkópos anatómiájának feltérképezése, az ileocecalis billentyűn belüli izomrétegek és az enteralis idegrendszer szerkezetének vizsgálatával.
2. A „Whole-Mount” preparálás technikájának adaptálása az ileocecalis billentyűre, a plexus myentericus térbeli szerkezetének tanulmányozása céljából.
3. Az ileocecalis plexus myentericus postnatalis változásainak összehasonlító vizsgálata újszülött-, 4 hetes-, 12 hetes és felnőttkorú sertésből származó ileocecalis billentyűkben.
4. Az ileocecalis billentyű atresia és agenesia műtéti megoldásának tárgyalása egy klinikai esetismertetésünk kapcsán.
5. Az ileocecalis billentyűpótlás műtéti technikájának kidolgozása keverék kutyákon, az invaginált vékonybél-szelepek készítése, az ileocecalis billentyű hidrosztatikai paramétereinek felmérése az optimális invaginált szelephossz megválasztása céljából.
6. Az ileocecalis billentyű felhasználásának vizsgálata a biliaris atresia sebészetében is használt modellen.
7. Az ileocecalis junctioval készített bilioentericus anastomosis mikrobiológiai hatékonyságának összehasonlítása más bilioentericus anastomosisokkal (meghosszabbított Roux-Y jejunum kacs, invaginált vékonybél-szeleppel rendelkező Roux-Y).

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Az ileocecalis junctio mikroszkópos anatómiája

4.1.1. Kísérleti állatok, szövettani mintavétel

A terminális ileum, az ileocecalis billentyű és a caecum kezdeti szakasza 60 napos sertés embrióból, újszülött, 4 hetes, 12 hetes és felnőtt házi sertésekből származik, melyeket a Dán Institute of Experimental Clinical Research, Skejby Sygehus, University of Aarhus-tól kaptunk az enterális idegrendszer vizsgálata céljából, a Dán Állatvédelmi Hatóság engedélyével. (Engedély szám: 200601-068S) A bélszakaszok fixálása 48 órán keresztül, 4%-os paraformaldehid oldatban, a további tárolása feldolgozásig foszfát pufferben (PBS), 4 °C hőmérsékleten történt.

4.1.2. Az izomrétegek vizsgálata

Paraffinba ágyazott, illetve folyékony nitrogénben fagyasztott mintákból 8-10 µm vastagságú metszeteket készítettünk a bél tengelyével párhuzamosan (longitudinalis), illetve haránt irányban. A paraffinos metszeteket 55 °C-on 90 percig, majd xylenben 2x5 percig deparaffinizáltuk, 100%-os, 80%-os és 70%-os alkohol oldatban rehidráltuk egyenként 1 percig, majd 20%-os haematoxylin oldatbanban festettük 10 percig. Ezt követően 5 perc folyóvízes mosás után 1%-os eosin oldatban 1 percig festettük, 70%, 80%-os és 100%-os alkohol oldatokban 1-1 percig, xylenben 2x5 percig dehidráltuk, majd „Glycerogel mounting medium” segítségével tartósítottuk, és fedőlemezzel fedtük.

4.1.3. Az enterális idegrendszer szerkezetének vizsgálata hosszanti és haránt metszeteken

4.1.3.1. Enzimhisztokémiai vizsgálatok

4.1.3.1.1. Acetil-kolin-észteráz (AChE) festés

A szövetmintákat 10 ml 65 mM-os (pH 6.0) natrium acetát pufferben oldott, 1.7 mM acetiltiokolinjodidot, 5 mM natrium citrátot, 3 mM rézszulfátot, 0.5 mM káliumferricianátot tartalmazó oldatba helyeztük, és 37 °C fokon a kellő intenzitás eléréséig inkubáltuk. Majd „Glycerogel mounting medium” (Dakocytomation) segítségével konzerváltuk, fedőlemezzel fedtük.

4.1.3.1.2. Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát-diaforáz (NADPH-d) festés

A fagyasztott metszeteket, illetve a Whole-Mount preparátumokat 1 mg/ml β -NADPH-t (Sigma), 0,25 mg/ml nitro-blue-tetrazoliumot, 0,3% Triton-X-et tartalmazó 0,05 mol/l Tris-HCL puffer oldatban (pH 7,6) 37 °C-on 2 órán keresztül, ezután szobahőmérsékleten másnapig inkubáltuk, majd „Glycergel mounting medium” (Dakocytomation) segítségével konzerváltuk, fedőlemezzel fedtük.

4.1.3.1.3. Protein Gene Product 9.5 (PGP 9.5) immunhisztokémia

A paraffinba ágyazott metszeteket gondos deparaffinálásnak vetettük alá 90 perc 55 °C-on szárazon, majd 2x5 perc xylenben. Az antigén feltárást citrat pufferben (pH: 6) mikrohullámú sütőben 650 W teljesítmény mellett 7 percig végeztük. A metszeteket jégen 45 percig hűtöttük, majd foszfát pufferben 2x5 percig mostuk. A mintákat a tárgylemezeken jelölő tollal körberajzoltuk, majd a metszeteket nedves kamrába raktuk és 10 %-os kecske szérummal (Dakocytomation) maszkoltuk 30 percen keresztül. A kecskeszérumot a tárgylemezről leráztuk, majd a mintákra nyúlban készült PGP 9.5 anti-human antitestet (Dakocytomation) csepegtettünk, melyet 1:500 arányban hígítottunk antitesthígító folyadékban (Antibody dilutant, Dakocytomation). Az első antitestet 4°C-on másnapig inkubáltuk. A következőkben a metszeteket foszfát pufferben 2x5 percig mostuk, majd a metszetekre csepegtettük a „Texas Red” fluoreszcein festékkel jelölt második kecske anti-nyúl antitestet (Eugene, Oregon USA), melyet korábban 10%-os kecske szérumban 1:100 arányban hígítottunk. A mintákra „Fluorescein mounting mediumot” (Dakocytomation) csepegtettünk és a metszeteket fedőlemezzel fedtük.

4.1.3.1.4. C-kit immunhisztokémia

Hasonlóan az előző pontban részletezett módon deparaffinizálás, rehidrálás, antigénfeltárás, maszkolás után a metszeteket nyúlban készült anti-human C-kit antitesttel (Dakocytomation) inkubáltuk, melyeket korábban 1:50 arányban hígítottunk antitesthígító folyadékban. A második

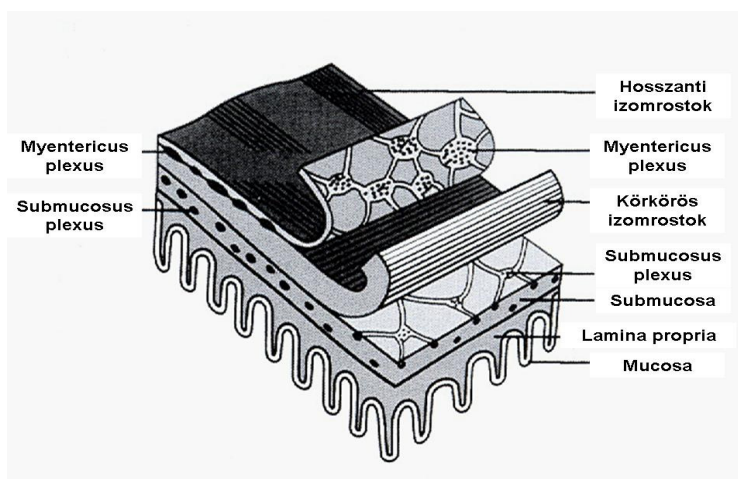
antitestként szintén kecskében készült, „Texas Red” fluoreszcein festékekkel jelölt anti-nyúl antitestet (Eugene, Oregon USA) használtunk.

4.2. Postnatalis változások az ileocecalis junctio plexus myentericusában

A vizsgálatba újszülött, 4 hetes, 12 hetes és felnőtt (kb.12 hónapos hízó) sertésből származó ileocecalis billentyűt vontunk be, minden korcsoportból 3 darabot. A Whole-Mount preparálás, a NADPH-d enzimhisztokémia, és a ganglionok illetve neuronok számolását a korábbi pontokban részletezett módon végeztük.

4.2.1. Whole-Mount technika alkalmazása az ileocecalis billentyűn

Az úgynevezett Whole-Mount technika a hagyományos fagyasztott, vagy paraffinba ágyazott metszetekkel szemben lehetőséget ad a plexus myentericus térbeli szerkezetének tanulmányozására (12. ábra).



12. ábra

A Whole-Mount preparálás sematikus képe.

A technika a szövetrétegek szétválasztása révén lehetővé teszi myentericus és a submucosus idegi plexus térbeli vizsgálatát.

Az ileumon és a coecumon a Whole-Mount preparálás, azaz a plexus myentericus feltárása a bél körkörös és hosszanti izomrostjai között nem jelent különösebb nehézséget. Dissectiós mikroszkóp (Leica, Germany) segítségével a bélmintáról gondosan eltávolíthatók a mesenterium maradványai és a serosa. A bélszakaszok hosszirányú, a mesenterium mentén való felhasítása után

a nyálkahártya finom csipesz nyelével óvatosan lekapható. A submucosa a minta szélén finom csipesszel megragadva az izomrétegről finoman lefejtető (13. ábra).



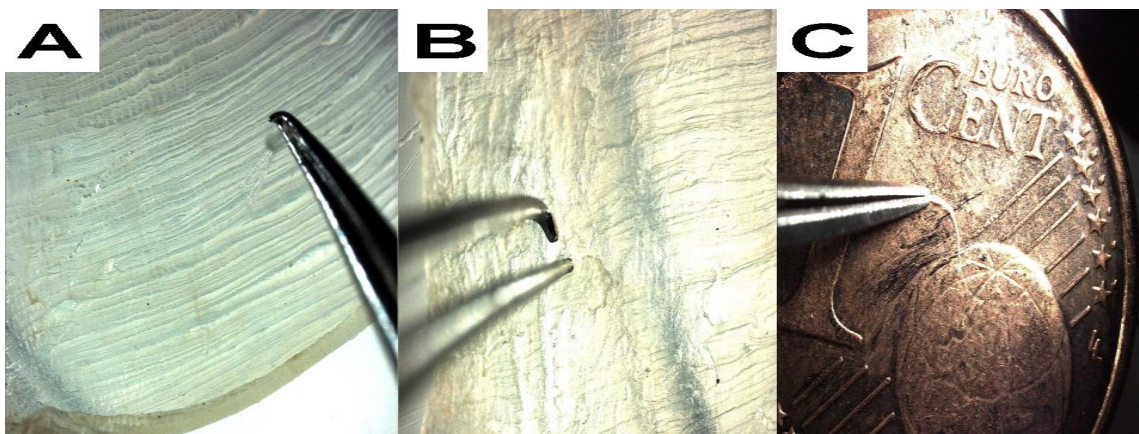
13. ábra

A Whole-Mount preparálás menetének bemutatása (a submucosa lefejtése) a dissectiós mikroszkóp alatt.

A csipesz a mikroszkóp fókuszából kiemelt (ezért nem élesen látható) submucosát fogja.

Az alsó „csíkos” réteg már a körkörös izomrostok rétege.

Ezek után a belső körkörös izomrostok egyenként eltávolíthatók úgy, hogy szinte csak a külső hosszanti rostok maradnak (14. ábra).



14. ábra

Whole-Mount preparálás menetének bemutatása (izomrostok lefejtése) a dissectiós mikroszkóp alatt.

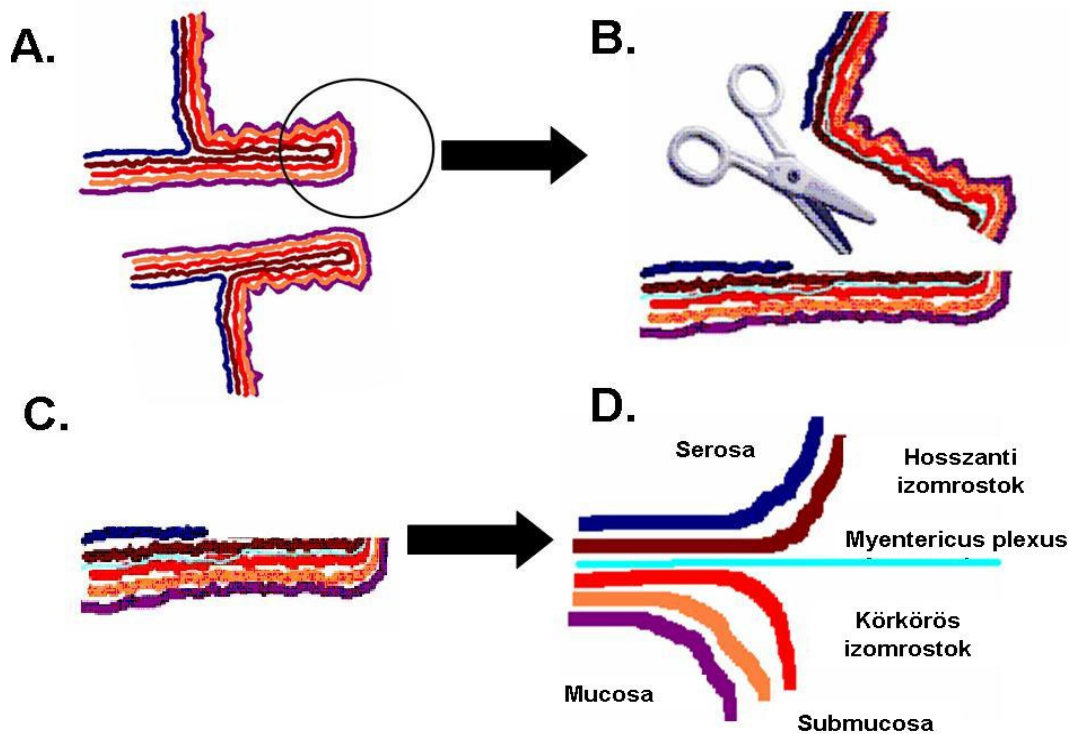
A: a belső körkörös izomrostok lefejtése: a csipesz két rostot emel fel. B: a körkörös izomrostok lefejtése után a hosszanti izomrostok láthatóvá válnak (a csipesz alatt függőleges csíkok). A csipesztől jobbra még a körkörös rostok rajzolatát látható (vízszintes csíkok). A plexus myentericus a két izomréteg között húzódik, festés nélkül nem látható.

C: Egy lefejtett körkörös izomrost mérete (izomrost a csipeszben).

Vastagabb mintánál (12 hetes és felnőtt sertés esetében) a longitudinális rostokat is érdemes ritkítani, mert később tisztább kép látható a mikroszkópban. A preparálás során törekedni kell a minél vékonyabb preparátum készítésére, de kerülni kell a plexus myentericus roncsolását.

A plexus myentericus natív állapotban a dissectiós mikroszkóp alatt nem látható. A jobb eredmény érdekében érdemes a preparálást a két izomréteg határán megszakítani, és NADPH-d festés után folytatni.

Az ileocecalis billentyűn (azaz a terminális ileum intracoecalis része) a Whole-Mount preparálás korántsem egyszerű. Az irodalomban erre vonatkozó közlemény nem található. Magát a billentyűt először ilealis és coecalis részre kell választani. A dissectiós mikroszkóp segítségével ez könnyen kivitelezhető. A mucosa eltávolítása után a submucosa lefejtése nem okoz nagyobb gondot. A cirkuláris izomrostok eltávolítása viszont sokkal nehezebb, mint a bél más részén, mert egy vékony hártya sokkal erősebben akadályozza a műveletet.



15. ábra

Összefoglaló ábra a Whole-Mount preparálás technikájáról az ileocecalis billentyűben.

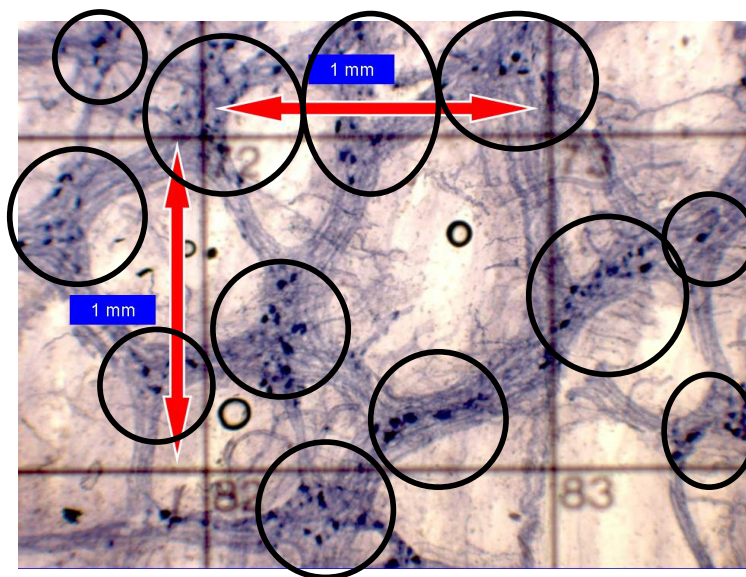
A és B: a coecum lepreparálása az ileocecalis billentyű ilealis részéről.

C és D: az ilealis eredetű ileocecalis billentyű plexus myentericusának preparálása.

4.2.2. A myentericus ganglionok és neuronok számolása

Egy gangliont az egymástól két neuron átmérőjénél nem távolabb lévő neuronok csoportja alkot (104). Hagyományos fénymikroszkópia segítségével megszámloltam a ganglionok, a

neuronok számát négyzetcentiméterenként, illetve a neuronok számát gangliononként. A számolást miliméteres beosztású, 1 cm² nagyságú graticula (a metszetre helyezhető, a miliméterpapírhoz hasonló, átlátszó rács) segítségével végeztem (16. ábra). Az újszülött mintákon 0.25 cm² -es területen történt a számolás, mivel itt a minta nem volt elég nagy, így nem tett ki 1 cm²-t. Az így kapott számokat 4-gyel megszoroztam. A ganglionokban lévő neuronokat 25 egymás mellett lévő ganglionban számoltam meg, függetlenül annak alakjától, méretétől, kerülve az ún. ”könnyen számolható” ganglionok vizsgálatát.



16. ábra

A metszetre helyezett graticula beosztása 40-szeres nagyításnál.

A graticula egy üveglapba vésett miliméteres beosztású számozott rács, beosztása: 1 mm²

A körök a képen látható ganglionokat jelzik.

Az 1 cm²-re eső neuronok számát a ganglionok számának és az átlagos ganglion / neuron szám szorzataként kalkuláltam. Az eredmények statisztikai analízise Microsoft Excel-ben, one-way Anova teszt segítségével történt.

4.3. Megfelelő billentyűpótlás

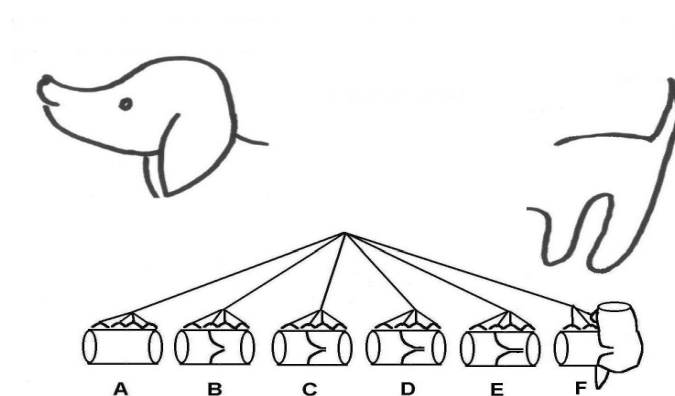
4.3.1. Kísérleti állatok

A kísérletsorozat e szakaszát, a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának engedélyével (DEMÁB 16/2000), az 1998. évi XXVIII, „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény messzemenő betartásával végeztük.

Kísérletünkben 5 db 18-22-kg testsúlyú, egészséges keverék kutyán végeztünk műtéteket. Ennek során az állatokat, 2-4 hét megfigyelés után (amely magába foglalja a szükséges állatorvosi kezelést, illetve oltásokat is) vontuk be a kísérletekbe. Az állatokat egyedi ketrecekben tartottuk, normál vegyes étrendet, vízhez való szabad hozzáférést, és az állat igényei szerinti szabad mozgás lehetőségét biztosítva. A 18-22 °C hőmérsékletű helyiségekben a fényciklus a napszagnak megfelelő volt. A műtéti érzéstelenítést ketamine (10 mg/kg), xilazine (1 mg/kg) frakcionált intramuscularis adagolásával végeztük, a vérnyomás, a pulzus, a testhőmérséklet folyamatos monitorozása mellett. A kísérletek végén az állatokat narkózisban, intracardialisan adott KCl oldattal extermináltuk.

4.3.2. A bélszakaszok izolálása

Median laparotomia után 150 cm hosszúságú vékonybél, jejunum és ileum szakaszt öt egyenlő, 30 cm hosszúságú (A, B, C, D és E) segmensre daraboltunk, úgy, hogy a belet átvágtuk, de a bélszakaszok keringését megtartottuk (17. ábra). Egy, az ileocoecalis szelepet magába foglaló 15 cm hosszúságú terminális ileumot és 15 cm, a caecumot és ascendens colont tartalmazó bélkacsot is elkülönítettünk (F-kacs).



17. ábra
Sémás rajz a vizsgált bélkacsokról.

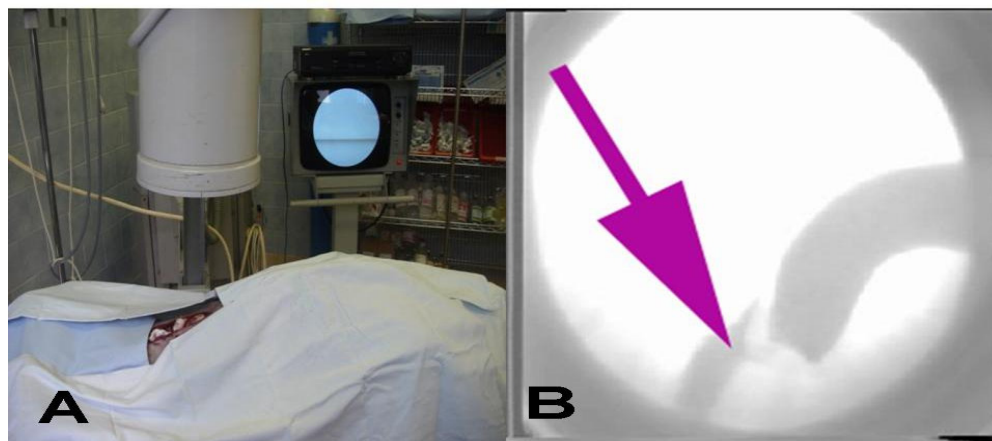
Az A-kacsban nem készítettünk szelepet, így csupán a megőrzött keringésével és motilitásával kontroll csoportnak tekintettük. A B, C, D és E-kacsokban 4, 5, 6 és 7 cm hosszúságú invaginált szelepet készítettünk. A bél kalibere, falvastagsága nem tért el lényegesen egyik

csoportban sem. A bélkacsok keringését és motilitását a mesenterium megóvásával és a bélfal óvatos kezelésével próbáltuk megőrizni, a kihűléstől 37°C-os fiziológiás sóoldattal védjük.

4.3.3. Hidrosztatikai nyomásmérés módszere

Az izolált bélszakaszok mindkét végébe 12 Ch-es Foley ballon katétert helyeztünk. A ballont felfújtuk, és 1/0-ás len fonállal a belet a katéterre kötöttük. A humán gyógyászatban használt infúziós szerelékkel és infúziós palackot csatlakoztattunk a katéterek végére. Az infúziós állványra egy kihúzott állapotban lévő mérőszalagot rögzítettünk úgy, hogy annak nulla pontja a műtőasztalon lévő állat magasságában legyen. A kísérletben a közlekedő edények elvét használtuk. Az infúziós palack lassú (kb. 5 cm/min) emelésével növeltük a bélszakaszban kialakított hidrosztatikai nyomást. A nyomás értékét vízcentiméterben fejeztük ki, melyet az infúziós állványon lévő mérőszalagról olvastunk le.

Töltőfolyadéknak Gastrographin és 0.9%-os sóoldat 1:2 arányú keverékét használtuk, melynek sűrűségét megmértük és gyakorlatilag a víz sűrűségével egyenlőnek találtuk. A bélszakaszok telődését, folyamatos átvilágítás mellett, képerősítőn követtük (18. ábra).

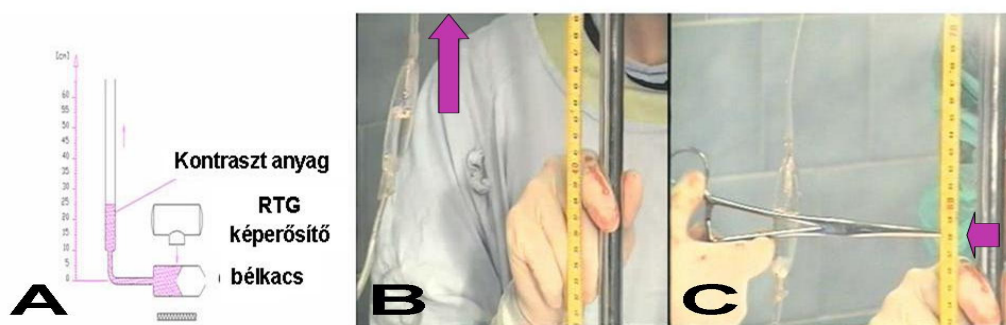


18. ábra

A bélszakaszok telődésének vizsgálata képerősítő alatt.

A: A képerősítő berendezés és a kísérleti állatot a műtőasztalon. B: A képerősítő monitorján a kontrasztanyag a colonból a vékonybélbe jut, az invaginált billentyűn áttörve.

A pillanatnyi nyomásértéket, amely mellett a kontrasztanyag éppen átjutott a bélkacson vagy a szelepen, a mérőszalagról leolvastuk (19. ábra).



19. ábra

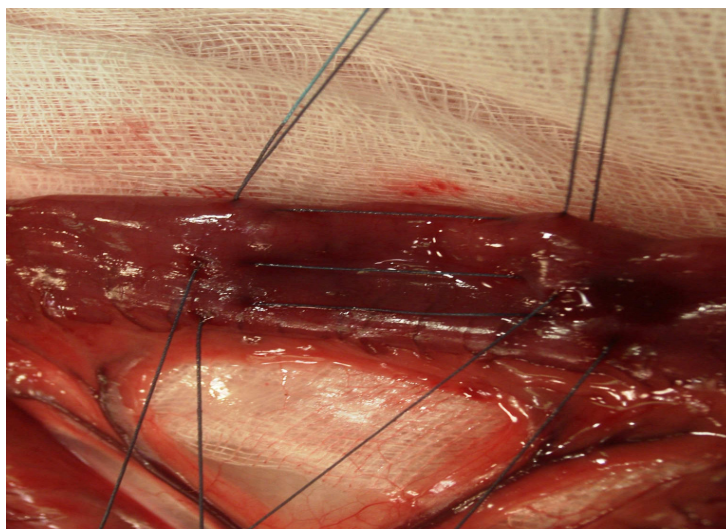
A töltőnyomás mérése.

A: A berendezés vázlatja. B: a folyadékoszlop magasságának növelése az infúziós állvány emelésével.
C: a folyadékoszlop magasságának leolvasása a cm skáláról.

Elsőként anterograd-, majd a kontrasztanyag alapos kiöblítése után retrograd irányú töltéseket végeztünk a bélkacs másik végébe illesztett katéteren keresztül.

4.3.4. Invaginált vékonybél-szelepek készítése

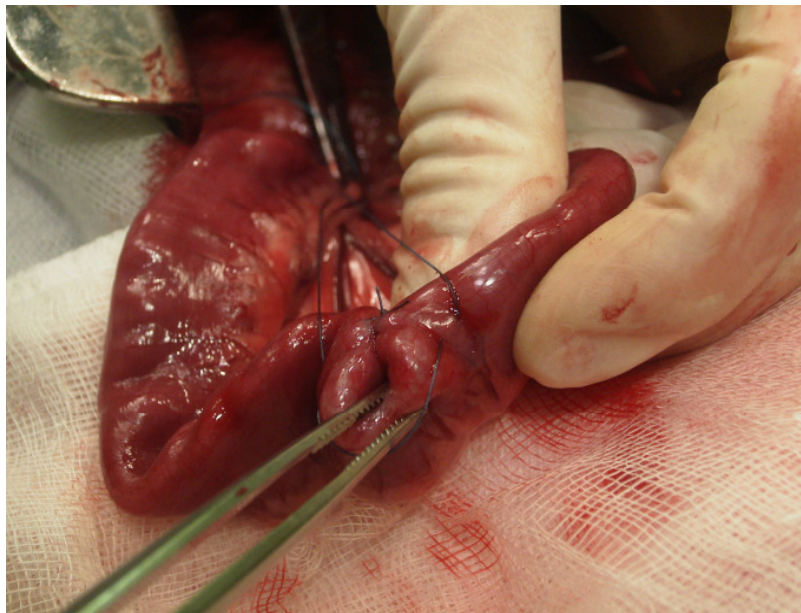
A bélfalat az izolált bélszakaszok közepén, körkörösén a bél kerülete mentén, egymástól egyenlő távolságra, 4/0-ás seromuscularis öltésekkel (Ethibond) felöltöttük. Az öltéseket a bél kerülete mentén egymástól 10 mm-re helyeztük el (20. ábra).



20. ábra

Az invaginált billentyű készítése seromuscularis öltések behelyezésével.

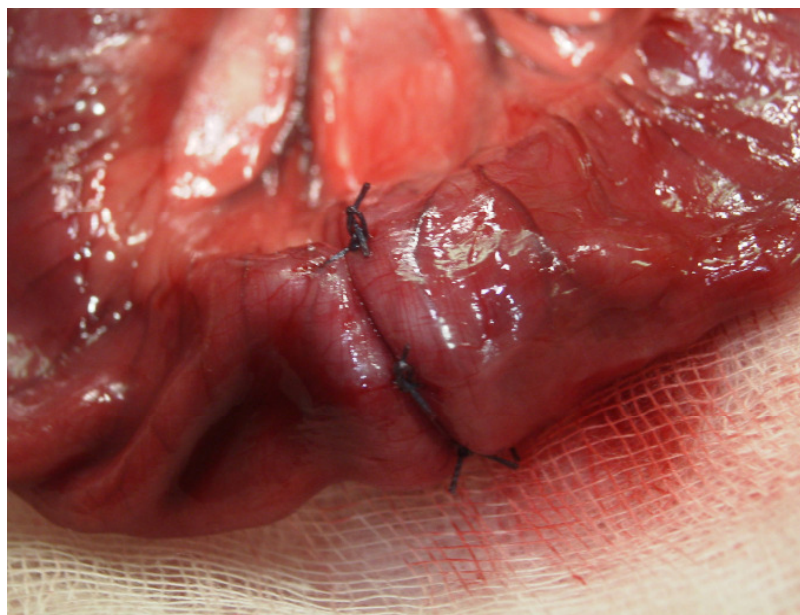
Az öltéseket megcsomózva a bélfalat aborális irányba invagináltuk (21. és 22. ábra).



21. ábra

Az invaginált billentyű készítése.

Az oralis bélszakasz „invaginálása” az aboralis bélszakaszba



22. ábra

Az elkészült billentyű.

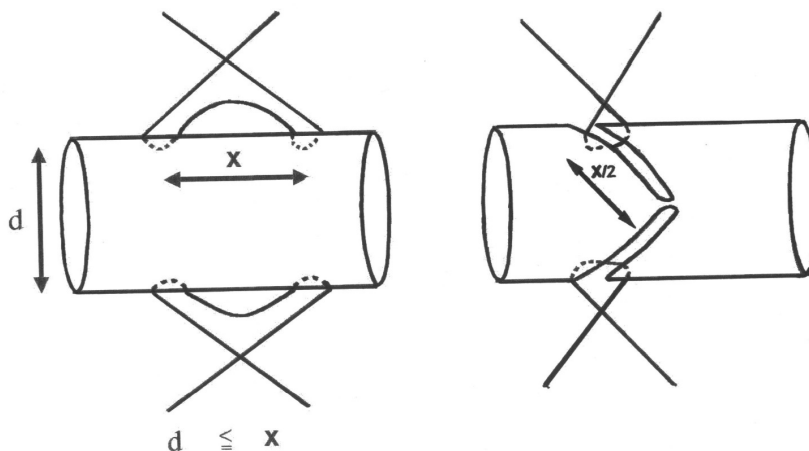
A megcsomózott seromuscularis öltések jól láthatók.

4.3.5. Az invaginált vékonybél-szelepek hidrosztatikai paramétereinek vizsgálata

a szelephossz függvényében

A vizsgálni kívánt invaginált szelepek minimum és maximum hosszának meghatározásánál a következő szempontokat vettük figyelembe:

1. Ha a bélalba helyezett öltések a bél hossz tengelye mentén egymástól X cm távolságban vannak, akkor az invaginált szelep szárnyainak hossza $X/2$ cm lesz (23. ábra). Ahhoz, hogy olyan szelepet alakítsunk ki, melynek a szárnyai a bél lumenében összeérnek, az X távolságnak el kell érnie a béllumen átmérőjének hosszát. A kísérletben használt állatok átlagos béllátmérője kb. 4 cm volt. Ezért az invaginálendő bélszakasz minimális hosszát a kísérletben 4 cm-ben határoztuk meg.



23. ábra

Az invaginált billentyű minimális hosszának meghatározása

2. Előkísérletben 4, 5, 6, 7, 8, 9 és 10 cm-es hosszúságú szelepeket készítettünk, hogy megvizsgáljuk az invaginációk a bél fal keringésére kifejtett hatását. Három óra elteltével az öltéseket kivéve megfigyeltük az invaginált bél fal állapotát. A 7 cm-nél hosszabb invaginatumokon már enyhe pangás jeleit véltük felfedezni, ezért a kísérletben használt invaginatumok maximális hosszát 7 cm-ben határoztuk meg.

A különböző hosszúságú szelepek hidrodinamikai tulajdonságait az előzőekben leírtak szerint mértük meg minden csoportban.

4.3.6. Statisztikai analízis

A statisztikai analízist SigmaStat 1.0 software (Jandel Scientific Co., Erkrath, Germany) és nonparametrikus teszt segítségével végeztük. One-way RM ANOVA és Student-Newman-Keuls tesztet, illetve „Mann-Whitney rank sum” tesztet használtunk az anterograd és retrograd ellenállás adatainak összehasonlítására. Az adatokat átlag \pm standard deviáció (\pm S.D.) formában adtuk meg. A statisztikai szignifikancia értékét $p < 0.05$ –re állítottuk.

4.4. Ileocecalis billentyű felhasználásának vizsgálata biliaris atresia sebészetében

4.4.1. Kísérleti állatok

A továbbiakban csupán előkísérletről lévén szó, az előző fejezet 4.3.1 pontjában részletezett körülmények között 3 kutyán végeztünk vizsgálatot (I.-III.).

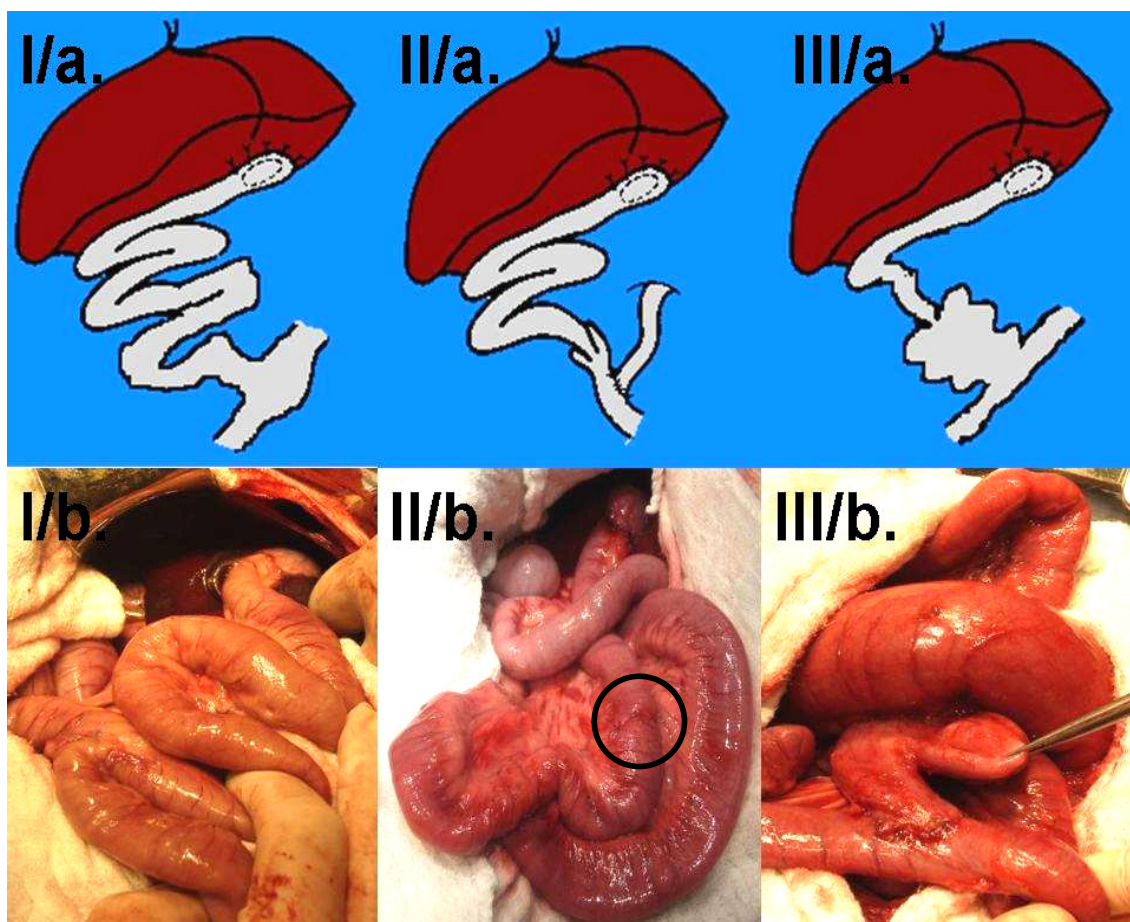
4.4.2. Roux-Y bilioentericus anastomosis készítése

Medián laparotomia után kipreparáltuk a choledochust, melyet a ductus cysticus beszájadzása alatt 1/0-ás fel nem szívódó (Ethibond) fonállal kettősen lekötöttünk és a lekötések között átvágtunk. Az első jejunumkacsot átvágtuk és az aboralis véget a mesocolonon készített lyukon áthúzva, az epehólyag fundusához anastomizáltuk két rétegű csomós varratsorral, nem felszívódó 4/0-as (Ethibond) fonállal. A vékonybél folytonosságát end-to-side jejunojejunostomiával állítottuk helyre. Az I. állatnál a felhúzott jejunum kacs hosszúsága 60 cm volt (24. ábra, I/a-b.).

A II. állatnál a 40 cm hosszú jejunum kacsban egy 4 cm hosszúságú invaginált szelepet készítettünk a korábbiakban részletezett módon (24. ábra, II/a-b.).

4.4.3. Bilioentericus anastomosis készítése az ileocoecalis junctio felhasználásával

A III. állatnál a biliodigestív anastomosiszt az ileocoecalis billentyűt magába foglaló terminális ileum-coecum kaccsal végeztük a choledochus lekötése után. Elsőként a coecumot kellett mobilizálnunk, majd a bélkacsot a mesenterium feszülése nélkül, a mesocolonon áthúzva, az ileum felőli végénél az epehólyaggal anastomizáltuk. A coecalis véget end-to-side anastomosiszal a jejunumba varrtuk. A bél folytonosságát end-to-end ileocolostomiával állítottuk helyre (24. ábra, III/a-b.).



24. ábra

A három bilioentericus anastomosis.

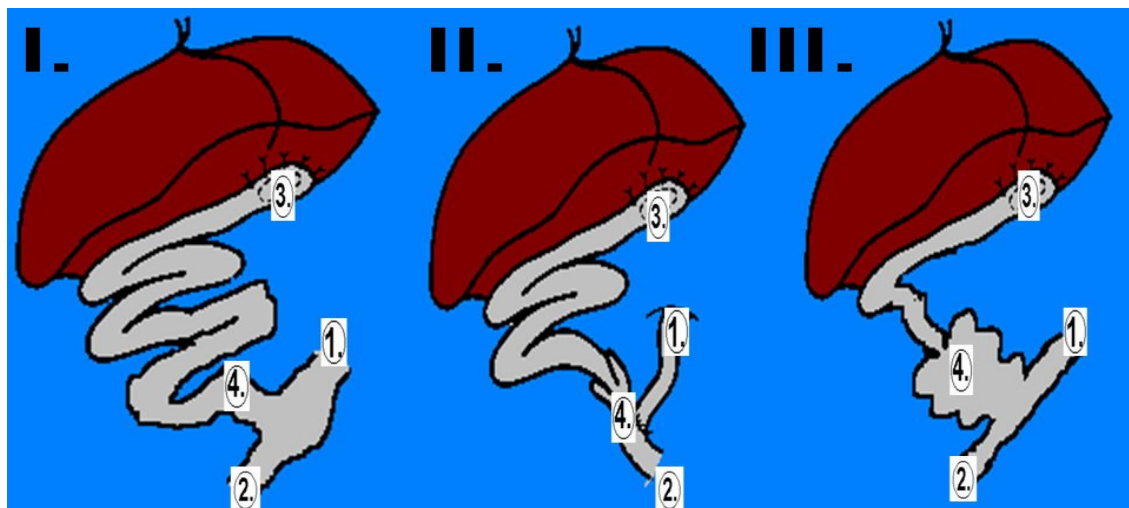
I/a-b: elongált Roux-Y porto-enterostoma. *II /a-b:* invaginált szeleppel felszerelt Roux-Y kacs a colon transversum mesenteriumán áthúzva. A szelepet tartó öltések a colon transversum alatt láthatóak (kör).
III/a-b: az ileocoecalis junctio áthúzva a colon transversum mesenteriumán. A csipesz a coecumot tartja.

4.4.4. Fajidegen „teszt” kórokozók alkalmazása

Egy héttel később az állatok táplálékába 10^5 human eredetű, *Enterococcus faecalis* baktériumot (ATCC törzs 80171, McFarland > 7.5) kevertünk. Kutya emésztőtraktusában ez a törzs nem fordul elő, erről a kísérlet előtt széklettenyésztéssel meg is győződünk.

4.4.5. Mikrobiológiai mintavétel

Huszonnégy óra elteltével az állatokat újból elaltattuk, laparotomiát hajtottunk végre és megfigyeltük az elkészült biliodigestív anastomosisokat. Steril tűvel és fecskendővel mikrobiológiai mintát vettünk a jejunumból az epe beömléstől proximalisan, majd distalisan. Továbbá mintát vettünk az epehólyagból, és az epét elvezető bélszakasz aborális a jejunum felé eső végéből (25. ábra)



25. ábra

A mikrobiológiai mintavétel helyei.

1 = proximalis jejunum, 2 = distalis jejunum, 3 = epehólyag, 4 = közvetlenül a billentyű alatt

A mintákat szelektív táptalajra oltottuk, amelyen csak a beadott törzs képes szaporodni. A tesztek eredményét 72 óra múlva leolvastuk, és minden csoportban összehasonlítottuk.

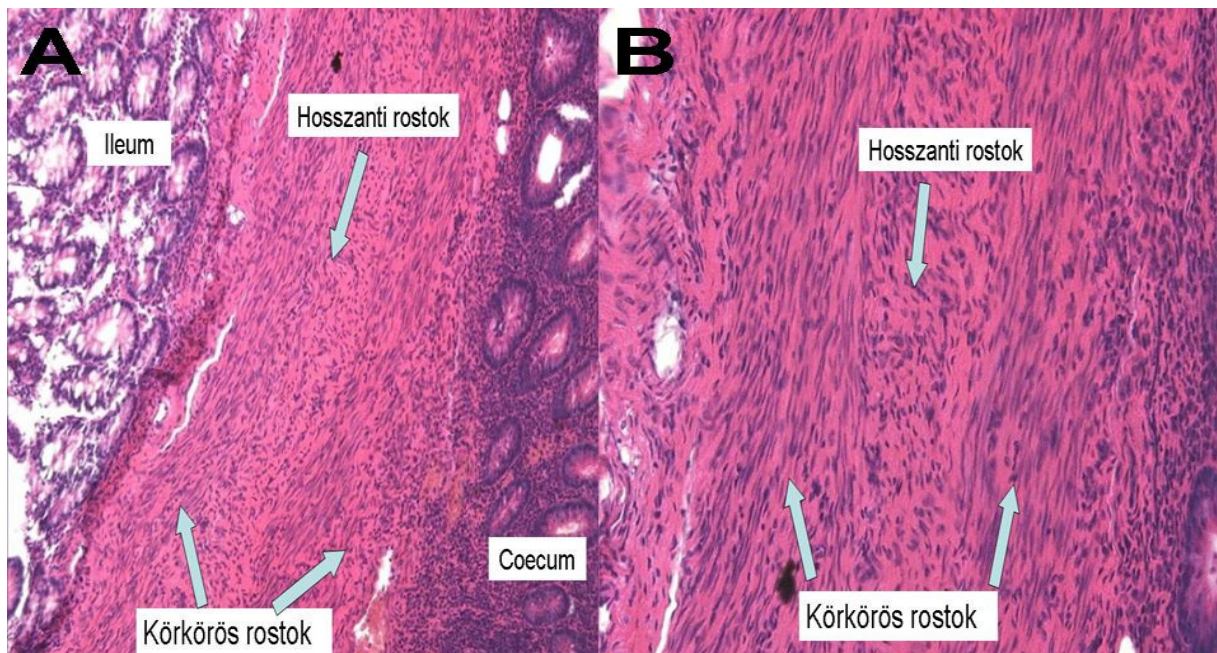
5. EREDMÉNYEK

5.1. Az ileocecalis junctio mikroszkópos anatómiája

5.1.1. Az izomrétegek mikroszkópos szerkezete

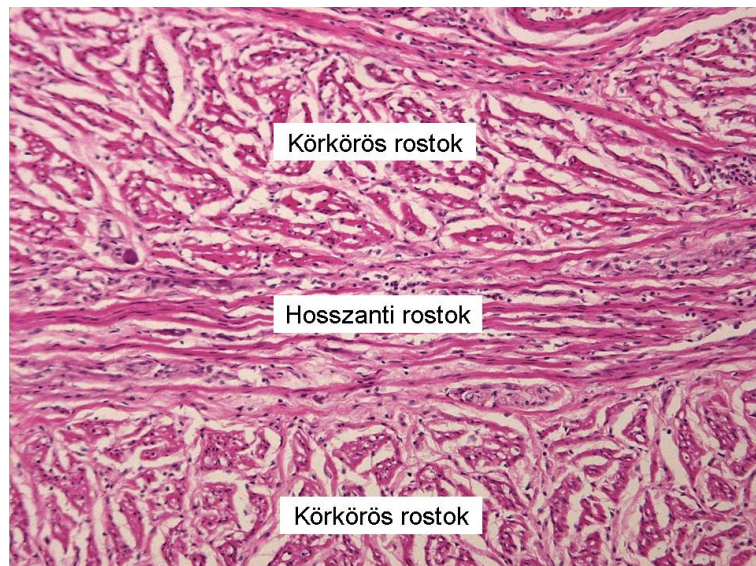
Haematoxylin-eosin festés eredménye:

Az ileocecalis billentyű keresztmetszeti képén, a lumen belseje felől kifelé haladva, jól láthatóak a következő rétegek: ileum nyálkahártya, ileum submucosa, ileum belső körkörös izomrostjai, egy egységes hosszanti izomréteg, majd egy újabb körkörös izomréteg a coecumból, a coecum submucosája és a coecum nyálkahártyája. Az egységes hosszanti izomréteg az ileum és a coecum hosszanti izomrétegeinek összeolvadásával jött létre, közöttük kötőszövetes réteg, ami az ilealis illetve a coecalis serosa folytatása lenne, nem látható (26-27. ábra).



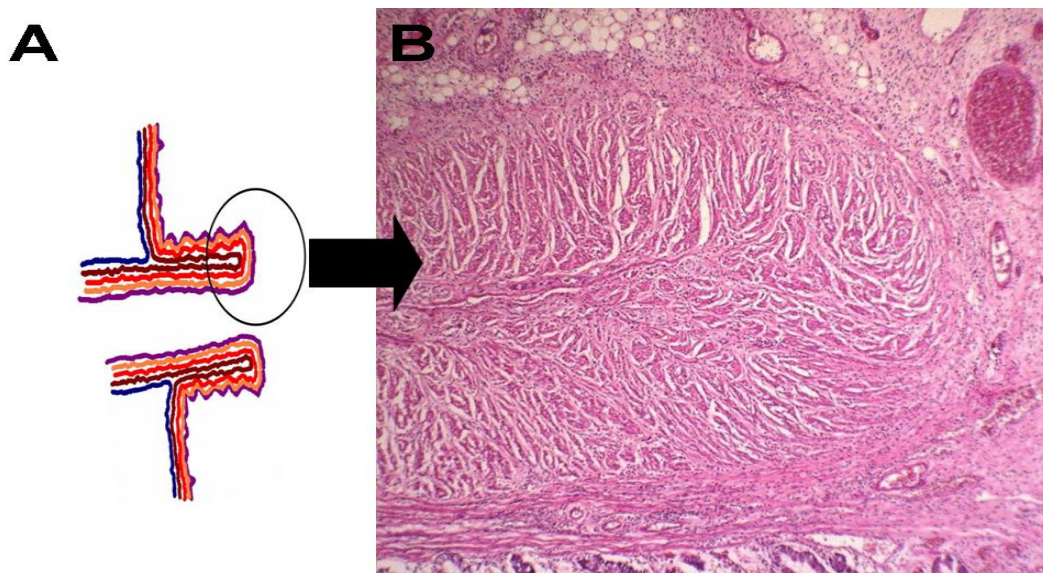
26. ábra

Ileocecalis billentyű keresztmetszeti képe 12 hetes sertésből.
(paraffinba ágyazott metszet, HE festés, A: 40 x-es nagyítás, B: 100 x-os nagyítás)
Jól látható a két különálló körkörös izomréteg és az egységes hosszanti réteg.



27. ábra
Ileocecalis billentyű hosszmetseti képe 12 hetes sertésből.
 (fagyasztott metszet, HE festés, 100 x-os nagyítás)

A billentyű csúcs hosszmetsetének vizsgálata során feltűnt, hogy a fuzionált hosszanti rostok belesugároznak a körkörös rostokba. Az ileum körkörös rostjai közvetlenül érintkeznek a caecum körkörös rostjaival a billentyű szabad végén (28. ábra).

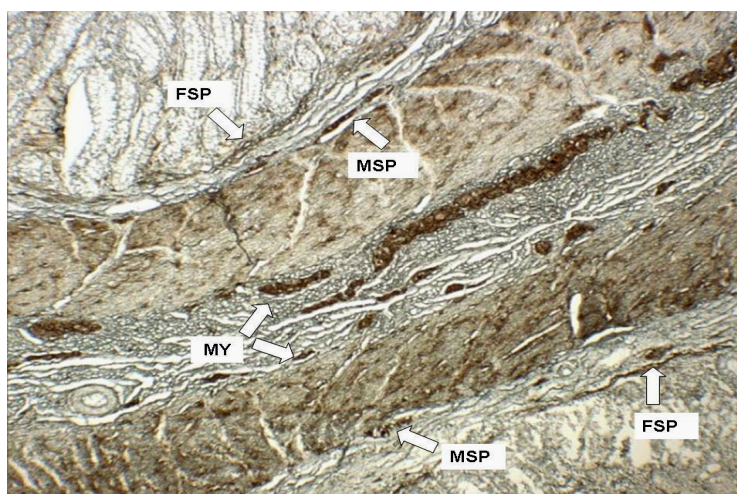


28. ábra
Ileocecalis billentyű sematikus ábrája és csúcsának szöveti képe (hosszmetset) 12 hetes sertésből.
 A: sematikus rajz, B: szöveti kép (fagyasztott metszet, HE festés, 40 x-es nagyítás).

5.1.2. Az enterális idegrendszer térbeli szerkezete

Acetil-kolin-észteráz (AChE) festés

Az AChE festéssel mind a keresztmetszeti, mind a hosszmetzeti képen jól láthatóvá váltak az AChE pozitív idegrostok és ganglionok. A festés ábrázolja az enterális idegrendszer speciális struktúráját az ileocecalis billentyűben: az ilealis felületes és mély submucosus plexust, az ilealis plexus myentericust, az ezekkel párhuzamosan, azaz a térben coaxialisan futó coecalis plexus myentericust, a felületes és mély submucosus plexusokat (29-30. ábra).

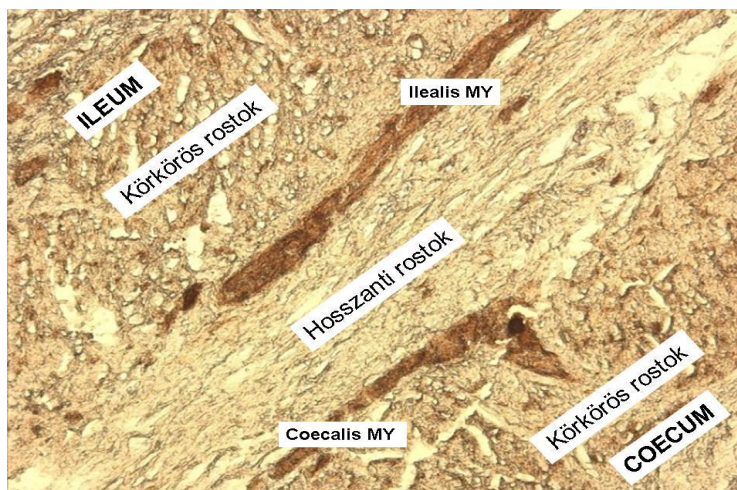


29. ábra

Ileocecalis billentyű keresztmetszeti képe 12 hetes sertésből.

(fagyasztott metszet, AChE festés, 40 x-es nagyítás)

FSP: felületes submucosus plexus, MSP: mély submucosus plexus, MY: myenteric plexus



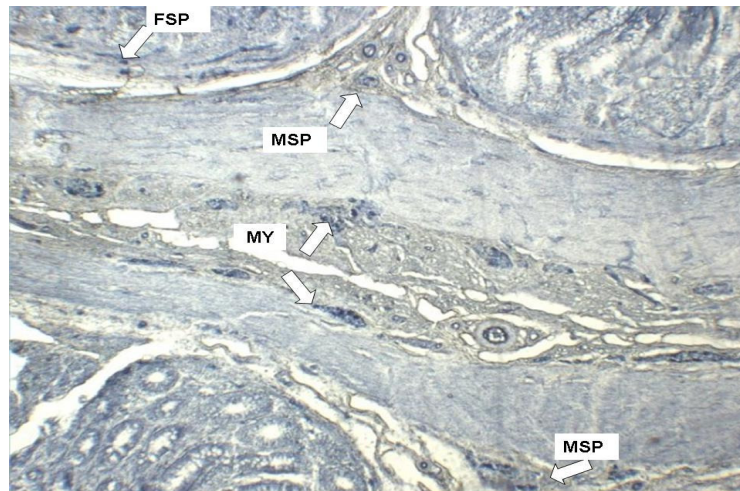
30. ábra

Ileocecalis billentyű hosszmetzeti képe 12 hetes sertésből.

(fagyasztott metszet, AChE festés, 100 x-os nagyítás) MY: myenteric plexus

NADPH-d festés

Az NADPH-d festéssel festődő neuronok nagy számban találhatóak az ileocecalis billentyű idegrendszerében és hasonlóképpen kirajzolják az plexusokat. (31. és 32. ábra)

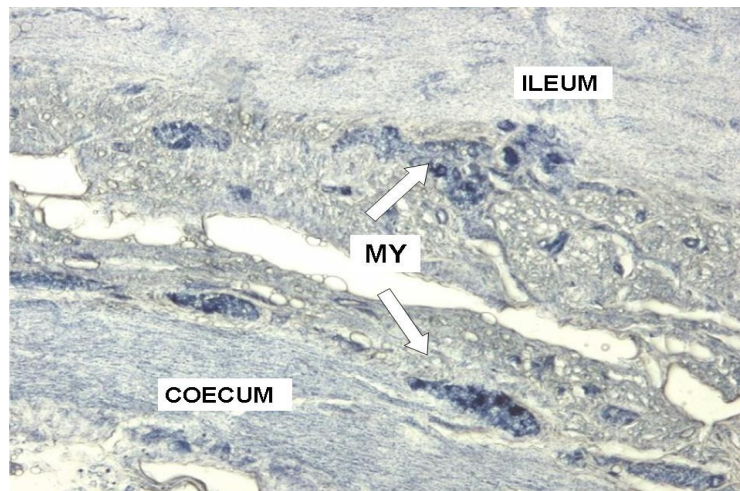


31. ábra

Ileocecalis billentyű keresztmetszeti képe 12 hetes sertésből.

(fagyasztott metszet, NADPH-d festés, 40 x-es nagyítás)

FSP: felületes submucosus plexus, MSP: mély submucosus plexus, MY: myenteric plexus



32. ábra

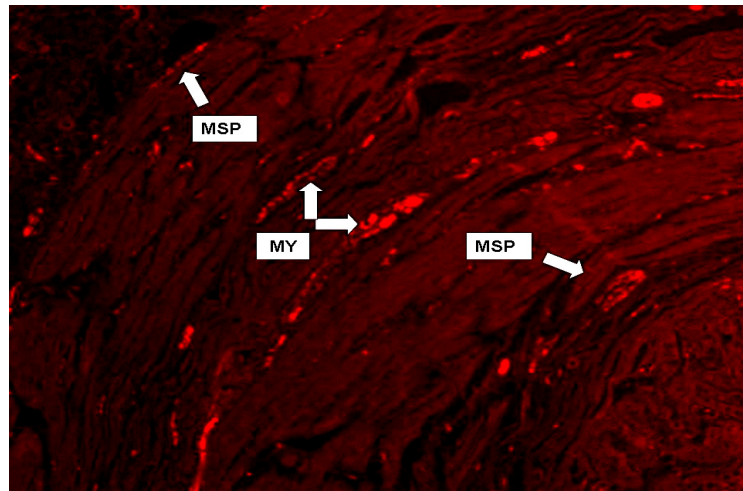
Ileocecalis billentyű keresztmetszeti képe 12 hetes sertésből.

(fagyasztott metszet, NADPH-d festés, 100 x-os nagyítás)

MY: myenteric plexus

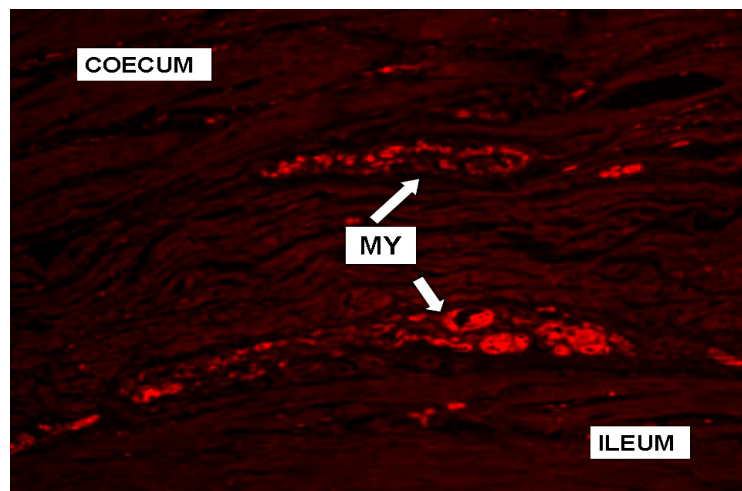
PGP 9.5 immunhisztokémia

A PGP 9.5 panneuronális citoplazmatikus marker immunhisztokémia segítségével a plexus myentericus ganglionjainak teljes nagysága, illetve a ganglionok közötti kapcsolat jobban megítélhető. A harántmetszeteken a plexusok coaxiális elhelyezkedése látható (33-34. ábra).



33. ábra

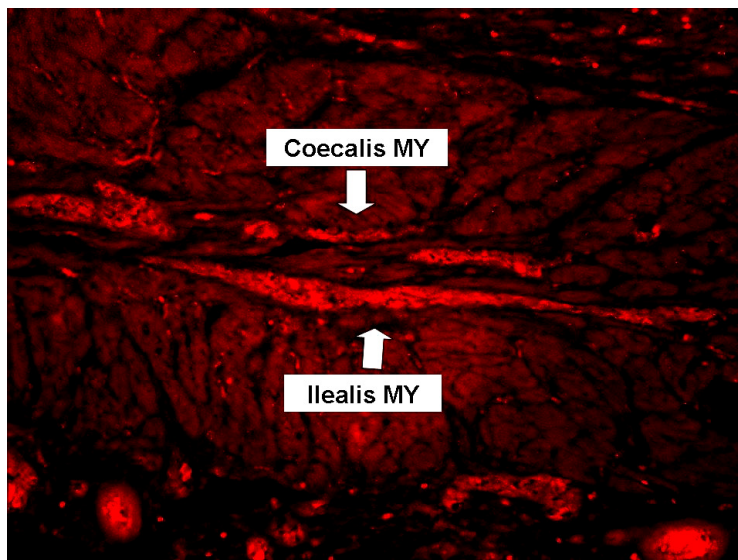
Ileocecalis billentyű keresztmetszeti képe 12 hetes sertésből.
(paraffinba ágyazott metszet, PGP 9.5 immunhisztokémia, 40 x-es nagyítás)
MSP: mély submucosus plexus, *MY*: myenteric plexus



34. ábra

Ileocecalis billentyű keresztmetszeti képe 12 hetes sertésből.
(paraffinba ágyazott metszet, PGP 9.5 immunhisztokémia, 100 x-es nagyítás)
MY: myenteric plexus

A hosszmetseteken a plexus folytonossága jól követhető, azaz a vékonybél enteralis plexusai és a vastagbél plexusai között nincs szembetűnő folytonossági hiány. Különösen jól megfigyelhető ez a billentyű csúcsáról készült felvételeken (35-36. ábra).

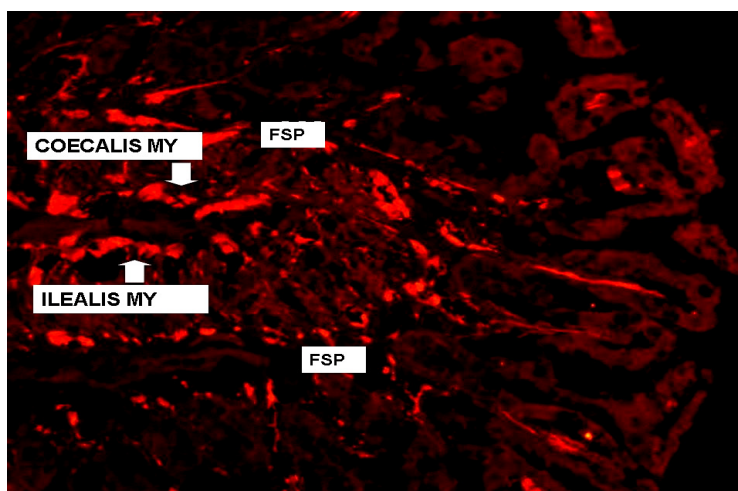


35. ábra

Ileocecalis billentyű hosszmetseteti képe 12 hetes sertésből.

(paraffinba ágyazott metset, PGP 9.5 immunhistokémia, 40 x-es nagyítás)

Coecalis MY: a coecalis eredetű plexus myentericus, *Ilealis MY*: ilealis eredetű plexus myentericus



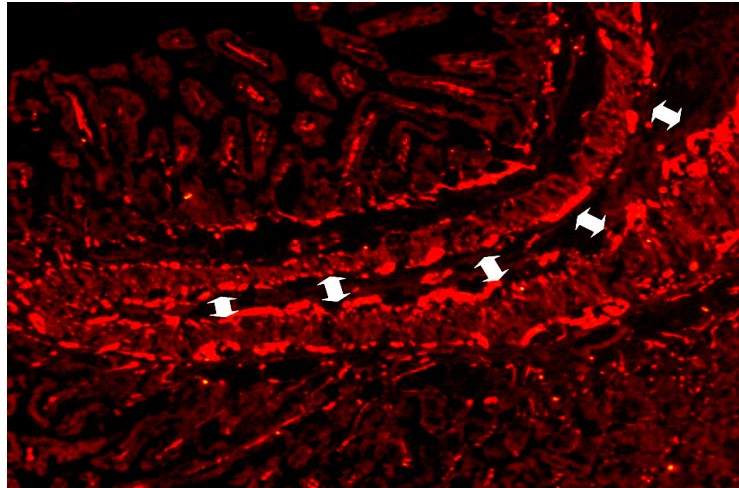
36. ábra

Ileocecalis billentyű csúcsának hosszmetseteti képe 12 hetes sertésből.

(paraffinba ágyazott metset, PGP 9.5 immunhistokémia, 100 x-es nagyítás)

Coecalis MY: a coecalis eredetű plexus myentericus, *Ilealis MY*: ilealis eredetű plexus myentericus
FSP: submucosus plexus

Az idegrendszer folytonossága a 60. gesztációs napon is jól megfigyelhető (37. ábra).

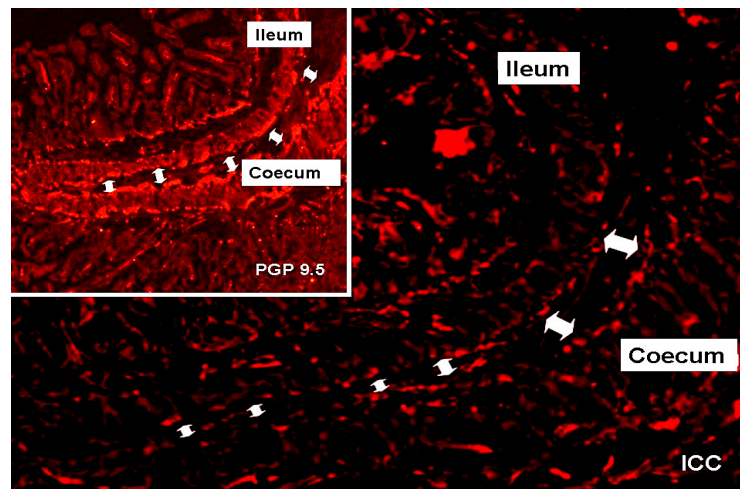


37. ábra

Ileocecalis billentyű hosszmetzeti képe 60 napos sertésembrióból.
(paraffinba ágyazott metszet, PGP 9.5 immunhisztokémia, 40 x-es nagyítás)
Kettős nyilak mutatják az ilealis és coecalis eredetű plexus myentericus folytonosságát a billentyű teljes hosszmetzetében.

5.1.3. A Cajal-féle interstitialis sejtek eloszlása

A C-kit immunhisztokémia már az embrionális korban megmutatta a myentericus Cajal sejt-hálózat jelenlétét. A hálózat folytonosságában hiány nem észlelhető (38. ábra).



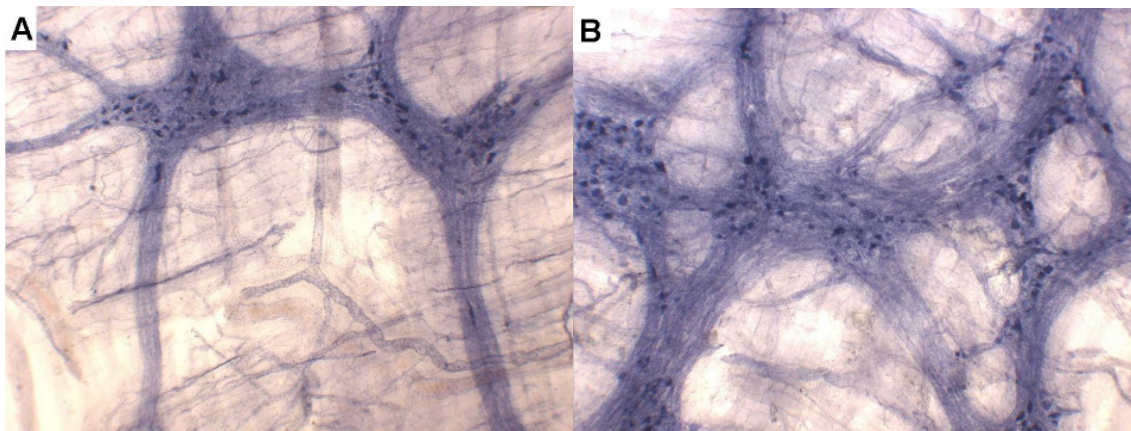
38. ábra

Ileocecalis billentyű hosszmetzeti képe 60 napos sertésembrióból.
(paraffinba ágyazott metszet, 40 x-es nagyítás)

Bal felső sarok: PGP 9.5 immunhisztokémia, kettős nyilak mutatják az ilealis és coecalis eredetű plexus myentericust.
Alul: C-kit immunhisztokémia, a kettős nyilak mutatják az ilealis és coecalis eredetű myentericus Cajal sejt-hálózat folytonosságát a billentyű teljes hosszmetzetében.

5.1.4. A plexus myentericus térbeli szerkezete

A Whole-Mount preparálás és az NADPH-d festés segítségével láthatóvá vált a plexus myentericus térbeli hálózatos szerkezete. A plexus háló denzitása eltér a terminális ileumban, az ileocecalis billentyű ilealis plexusában és a coecumban is (39. ábra).



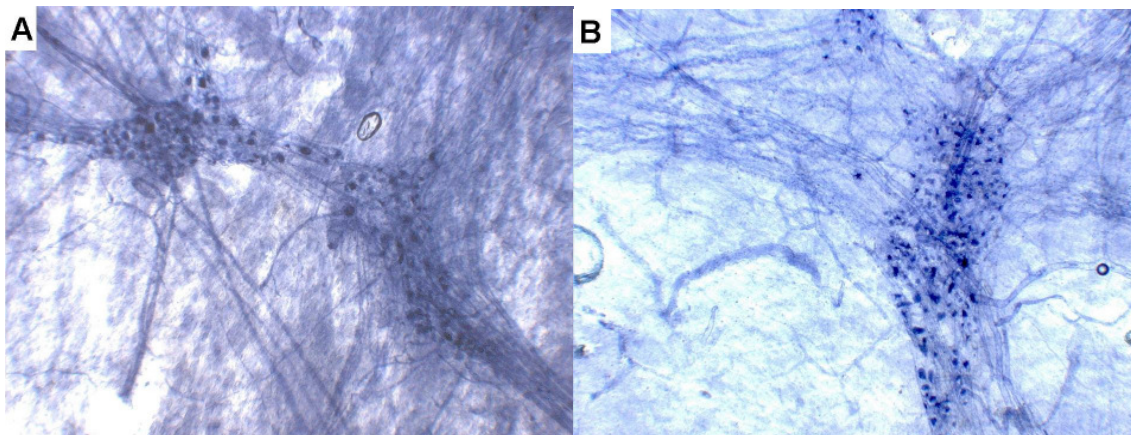
39. ábra

Felnőtt sertés plexus myentericus.

(Whole-Mount preparátum, NADPH-d festés, 40x-es nagyítás)

A: terminális ileum plexus myentericus. B: szembetűnően sűrűbb ilealis eredetű plexus myentericus az ileocecalis billentyűben.

Az ileocecalis billentyű coecalis plexusának szerkezete a coecum plexusától látszólag nem különbözik (40. ábra).



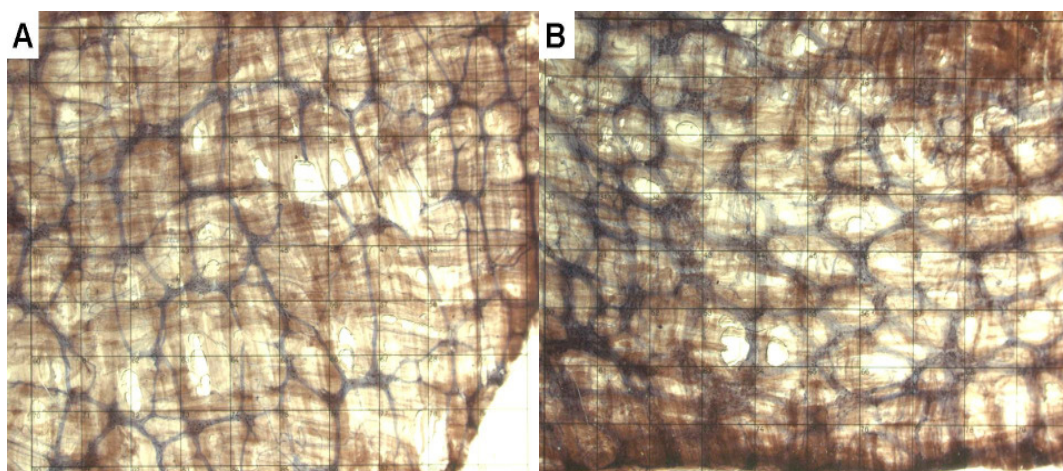
40. ábra

Felnőtt sertés plexus myentericus.

(Whole-Mount preparátum, NADPH-d festés, 40x-es nagyítás)

A: coecalis eredetű plexus myentericus az ileocecalis billentyűben, B: a coecalis eredetű plexus

A fénymikroszkóp legkisebb objektívjével készített felvételei ugyan részletgazdag képet adnak a ganglionokról, a bennük lévő neuronokról, de a dissectiós mikroszkóppal kisebb nagyítással készült felvételeken nagyobb területről kaptunk átfogó képet. Itt még jobban szembetűnik az ileális eredetű ileocoecalis billentyű plexus sűrűbb fonata és megfigyelhető a coecalis eredetű ileocoecalis billentyű plexus és a coecum fonatának hasonló mintája. A graticula hálójával készített képek garantálják a nagyítások azonos mértékét (41. és 42. ábra).

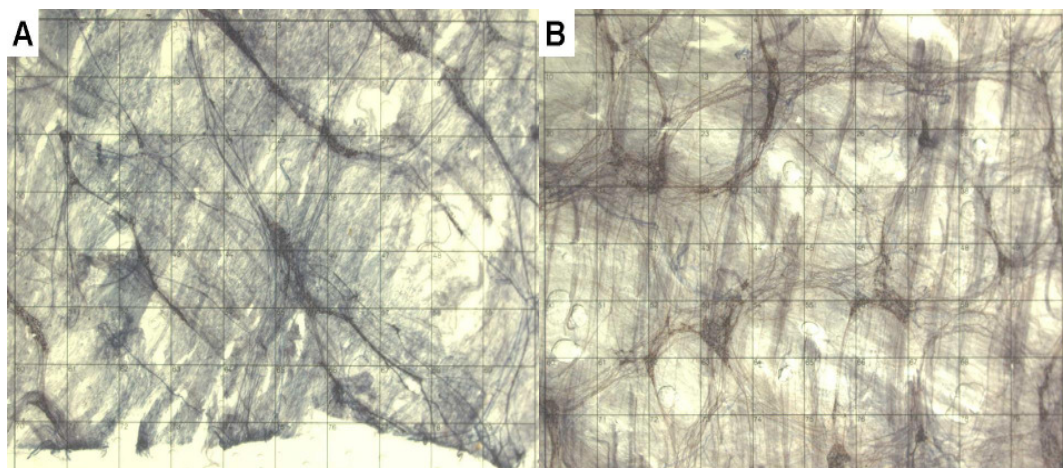


41. ábra

Felnőtt sertés plexus myentericus a preparáló mikroszkóp alatt.

(Whole-Mount preparátum, NADPH-d festés, a graticula beosztása 1 mm²-es)

A: a terminális ileum plexus myentericus, *B:* a szembetűnően sűrűbb ilealis eredetű plexus myentericus az ileocoecalis billentyűben.



42. ábra

Felnőtt sertés plexus myentericus a preparáló mikroszkóp alatt.

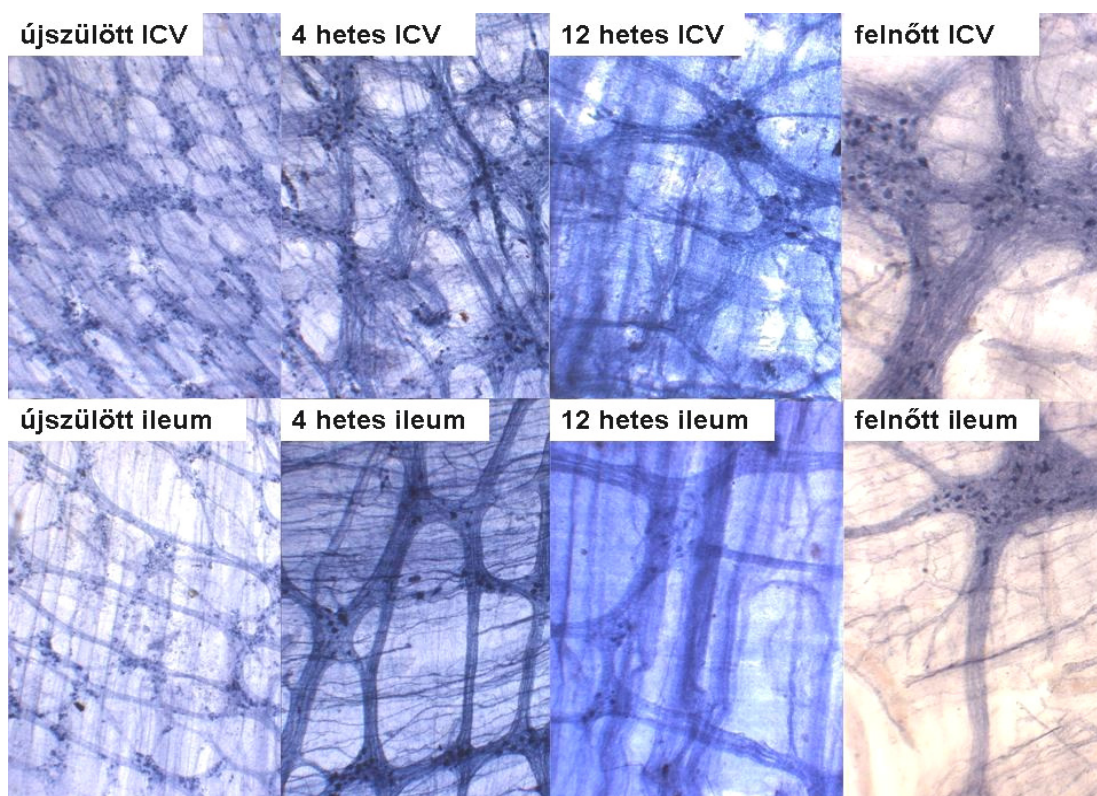
(Whole-Mount preparátum, NADPH-d festés, a graticula beosztása 1 mm²-es)

A: coecalis eredetű plexus myentericus az ileocoecalis billentyűben, *B:* a coecalis eredetű plexus.

5.2. Postnatalis változások az ileocecalis junctio plexus myentericusában

5.2.1. A ganglionok és a neuronok számának változása:

NADPH-d festéssel festett Whole-Mount preparátumok összehasonlítása során megfigyelhetjük, hogy a plexus sűrűbb fonatú az ileocecalis billentyűben lévő ilealis eredetű plexus myentericusban (43. ábra). Ez szembetűnő különbség, minden korcsoportban megfigyelhető. Különösen a 4 hetes korban készült preparátumon látszik jól, hogy az ileocecalis billentyűben lévő plexus gazdagabb secunder és terciar, vékony, a ganglionokat összekötő rostokban, mint a terminális ileum hálózata. Továbbá jól látszik, hogy a háló szerkezete a növekedés során megváltozik. A fonat ritkább lesz, a secunder és terciar rostok egyre inkább vastagabb primer kötegekbe rendeződnek. Ezek a változások nem csak az ileocecalis billentyű hálózatában figyelhetőek meg.



43. ábra

A plexus myentericus postnatalis változásai.

Felső sor: az ileocecalis billentyű plexus myentericusának képe újszülöttkortól felnőttkorig.

Alsó sor: a terminális ileum plexus myentericusának képe újszülöttkortól felnőttkorig.

A plexus változásainak kvantifikálása érdekében a meghatározott paramétereket a következő táblázatban foglaltuk össze (I. táblázat).

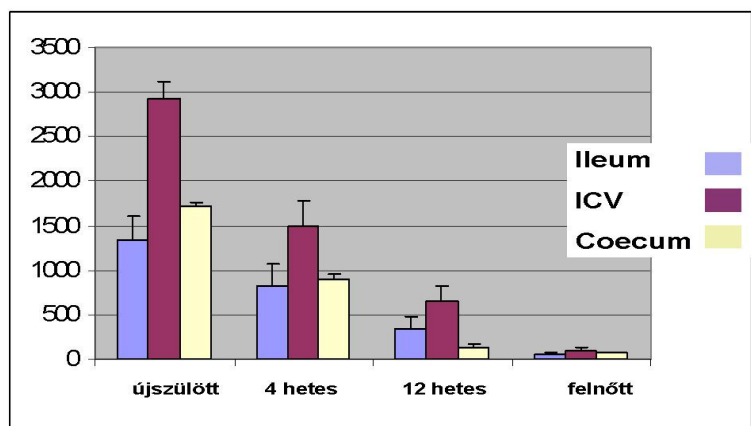
I. táblázat: A plexus myentericus postnatalis változásai.

Az NADPH-d pozitív neuronok és ganglionok számának alakulása az ileocecalis junctio belül.

A *-gal jelölt értékek szignifikánsan különböznek az ileum és a coecum értékeitől egy korcsoporton belül. (P<0.001)

	életkor	ileum	ileocecalis billentyű ilealis eredetű plexus myentericus	coecum
ganglionok/cm ²	újszülött	1332 ± 269	2925 ± 196*	1712 ± 51
	4 hét	813 ± 257	1491 ± 294*	896 ± 51
	12 hét	337 ± 149	654 ± 159*	143 ± 20
	felelőtt	54 ± 28	103 ± 24*	75 ± 8
neuronok /ganglion	újszülött	18,3 ± 11,25	15,14 ± 7,6	21 ± 7
	4 hét	23,46 ± 11,78	25,46 ± 12,15	36 ± 10
	12 hét	24,74 ± 11,41	21,22 ± 12,99	34 ± 15
	felelőtt	37 ± 14,9	62,32 ± 22,88	34 ± 15
neuronok /cm ²	újszülött	24379 ± 3026	44290 ± 1489*	35952 ± 357
	4 hét	19084 ± 3027	37973 ± 3583*	32256 ± 510
	12 hét	8342 ± 1701	13882 ± 2065*	4862 ± 300
	felelőtt	1998 ± 418	6443 ± 549*	2250 ± 120

Az értékeket grafikusán is ábrázoltuk. Jól látható, hogy minden korcsoportban az ileocecalis billentyű plexusában a legnagyobb a ganglionok száma. Az is leolvasható, hogy a ganglionok számát illetően a legnagyobb különbség az ileocecalis junctio belül az újszülött korcsoportban volt, és ez a különbség az életkor előrehaladtával csökkent (44. ábra).

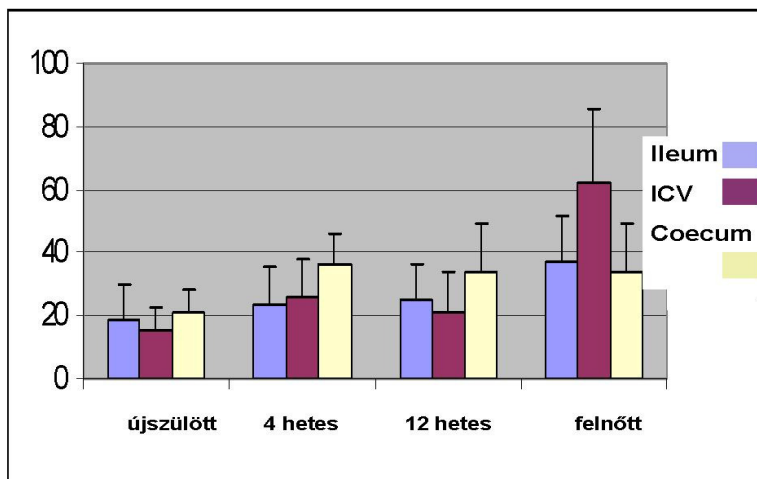


44. ábra

A plexus myentericus postnatalis változásai.

Ganglion szám /cm² alakulása az ileocecalis junctio belül. (ICV: ileocecalis billentyű)

A ganglionokban lévő neuronok száma az életkorral nő ugyan, de e tekintetben, egy korcsoportban nem volt szignifikáns különbség az ileocecalis junction belül (45. ábra).

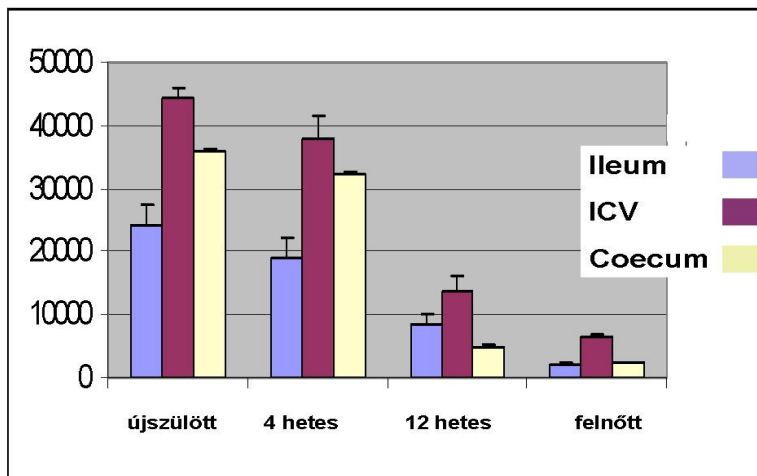


45. ábra

A plexus myentericus postnatalis változásai.

Az egy ganglionra eső neuronok számának alakulása az ileocecalis junction belül. A „neuronok száma / ganglion” értékek nem mutatnak szignifikáns különbséget egy korcsoportban sem. (ICV: ileocecalis billentyű)

Ezen adatokból nem meglepő, hogy a „neuronok száma / cm²” grafikon, melyet a „ganglionszám / cm²” és a „neuronszám / ganglion” értékek szorzatából kaptunk a „ganglionszám / cm²” grafikon jellegzetességeit mutatják (46. ábra).



46. ábra

A plexus myentericus postnatalis változásai.

Neuronok száma / cm² alakulása az ileocecalis junction belül. (ICV: ileocecalis billentyű)

5.3. Megfelelő billentyűpótlás

5.3.1. Az ileocoecalis billentyű anterograd hidrosztatikus ellenállása és az invaginált vékonybél-szelepek anterograd hidrosztatikus ellenállásának változása a szelephossz függvényében

Azt a nyomásértéket (H₂O cm) amelynél a kontrasztanyag aboralis irányban átjutott az izolált bélszakaszokon (A,B,C,D,E) (17. ábra) illetve a bélszakaszba épített billentyűn, leolvastuk és bélszakasz illetve billentyű anterograd ellenállásaként adtuk meg. Az adatokat a következő táblázatban összefoglaltuk (II. táblázat).

II. táblázat: A különböző hosszúságú invaginált szelepek és az ileocoecalis billentyű anterograd ellenállása. (p < 0,05 * vs. A (kontroll),# vs. F (ileocoecalis billentyű))

A vizsgált bélszakaszok	Anterograd ellenállás (H ₂ O cm)
A (kontroll)	9.66 ± 1.20
B (4 cm)	10.70 ± 1.15 #
C (5 cm)	13 ± 0.95 #
D (6 cm)	15.04 ± 0.80 *#
E (7 cm)	29.24 ± 4.76 *#
F (ileocoecalis billentyű)	21.60 ± 3.96 *

5.3.2. Az ileocoecalis billentyű retrograd hidrosztatikus ellenállása és az invaginált vékonybél-szelepek retrograd hidrosztatikus ellenállásának változása a szelephossz függvényében

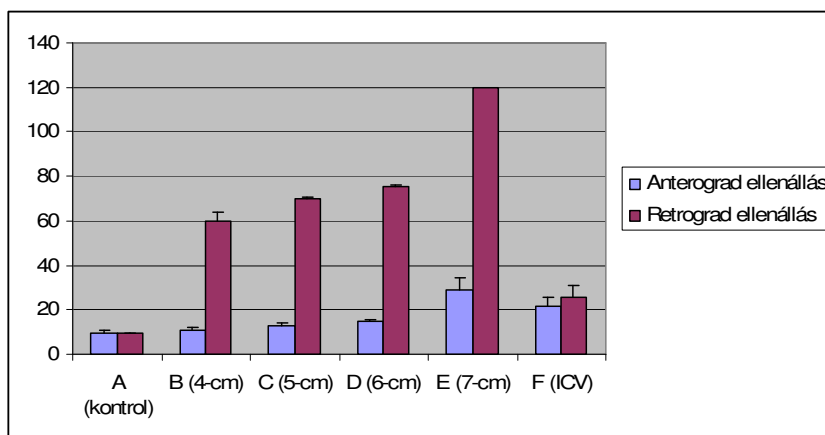
A nyomásértéket (H₂O cm), amelynél a kontrasztanyag retrograd irányban átjutott a bélszakaszon illetve a bélszakaszba épített billentyűn, leolvastuk és bélszakasz, illetve billentyű retrograd ellenállásaként adtuk meg (III. táblázat).

III. táblázat: A különböző hosszúságú invaginált szelepek és az ileocecalis billentyű retrograd ellenállása. ($p < 0,05$ * vs. A (kontroll), # vs. F (ileocecalis billentyű))

Bélszakaszok hossza	Retrograd ellenállás (H ₂ O cm)
A (kontroll)	9.40 ± 1.59
B (4 cm)	59.60 ± 4.26 #
C (5 cm)	69.8 ± 0.97 #
D (6 cm)	75.5 ± 0.72 * #
E (7 cm)	120 < *#
F (ileocecalis billentyű)	25.80 ± 4.92 *

Az E kacsban 120 H₂O cm nyomás mellett sem jutott át a kontrasztanyag a 7 cm hosszú invaginált billentyűn.

Az összes adatot grafikusán is ábrázoltuk a 47. ábrán, melyről leolvasható, hogy az intussusceptált szelepeknek meglepően nagy retrograd ellenállása van az anterograd kifejtett ellenálláshoz képest. Továbbá az is szembetűnik, hogy az ileocecalis billentyűhöz viszonyítva már a 4 cm hosszúságú művi billentyű is nagyságrendileg nagyobb reflux kontrollal bír. A kontroll csoportban az anterograd és retrograd ellenállás között nincs különbség. A művi billentyűk hosszának növelése az anterograd ellenállás növekedésével jár, de ezek az értékek messze elmaradnak a retrograd ellenállás értékeitől.



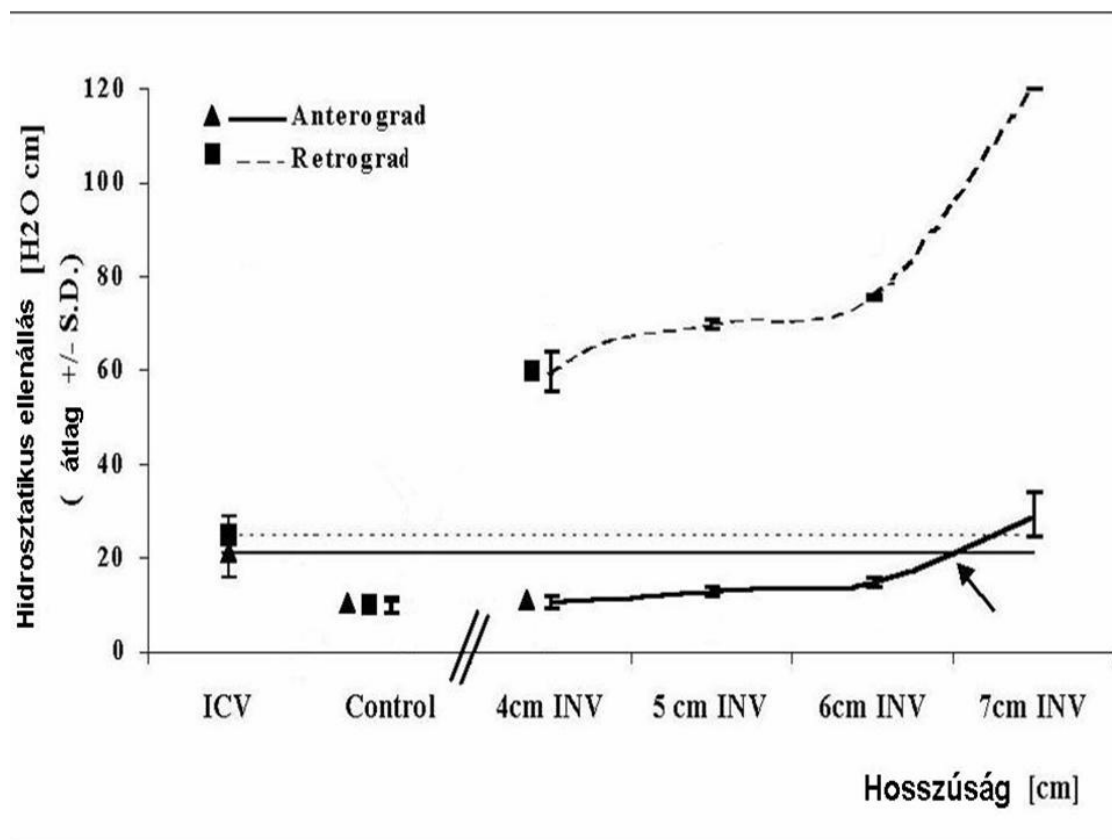
47. ábra

A különböző hosszúságú invaginált szelepek és az ileocecalis billentyű anterograd és retrograd ellenállása vízcentiméterben.

A-E: intussusceptált billentyűk, F (ICV): ileocecalis billentyű.

5.3.2. Az optimális szelephossz

Az optimális szelephossz meghatározása érdekében koordináta rendszerben ábrázoltuk az anterograd és retrograd ellenállásokat a szelephossz függvényében (48. ábra). Az ileocoecalis billentyű anterograd ellenállásának értékén felvett, az abszcisszával párhuzamos egyenes 6 és 7 cm közötti értéknél metszi a művi szelepek anterograd ellenállás karakterisztika görbáját. A retrograd ellenállásértéknél húzott szaggatott vonal nem metszi a retrograd ellenállás görbét, mert a művi billentyűk reflux kontrollja nagyságrendekkel nagyobb abszolút értékű az ileocoecalis billentyűben mért értéknél.



48. ábra

Az optimális szelephossz meghatározása.

A koordináta rendszer mutatja az ileocoecalis billentyű (ICV) és a különböző hosszúságú intussusceptalt billentyűk (INV) anterograd és retrograd hidrosztatikus ellenállását H₂O cm-ben. Az ileocoecalis billentyű anterograd ellenállásának értékén felvett egyenes 6 és 7 cm közötti értéknél metszi (nyíl) az anterograd ellenállás görbáját

5.4. Az ileocecalis billentyű felhasználásának vizsgálata biliaris atresia sebészetében

5.4.1. A bilioentericus anastomosisok biológiai próbájának eredménye

A műtétet követően az állatok másnap már folyadékot és 48 óra múlva szilárd táplálékot kaptak. A mikrobiológiai mintavétel időpontjáig, egy hétig, tünetmentesek voltak. Icterusra utaló tünetük sem volt. A második műtét során gyógyult anastomosisokat találtunk. A conduitokban az epe látható volt, de elfolyási zavarnak, pangásnak nyomai nem voltak felfedezhetők.

5.4.2. A mikrobiológiai tesztek eredményei

A következő IV. táblázatban összefoglaltuk a mikrobiológiai minták eredményeit.

IV. táblázat: A mikrobiológiai mintavétel eredményei.

+: a „teszt” kórokozó kitenyésztett a szelektív táptalajon, -: negatív tenyésztési eredmény,
piros nyíl: az ascendáló fertőzést csak az ileocecalis billentyű akadályozta meg.

	a mikrobiológiai mintavétel helye			
porto-enterostomák	1. (prox. jejunum)	2. (dist. jejunum)	3. (epehólyag)	4. (dist.conduit)
I. (elongált Roux-Y)	+	+	+	+
II. (4 cm invaginált billentyű)	+	+	+	+
III. (ileocecalis billentyű)	+	+	-	+



Csak az ileocecalis billentyűt tartalmazó bilioentericus anastomosis védte ki az ascendáló fertőzést. Sem a meghosszabbított, sem az invaginált vékonybél-szeleppel felszerelt Roux-Y kacs nem jelentett akadályt a csírák ascenziójában.

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. Az ileocecalis junctio anatómiai sajátosságai

Az ileocecalis billentyű sajátos anatómiája nem hasonlít a többi gastrointestinalis sphincterre. Az izomzata nem csak a belső körkörös réteg homogén megvastagodása ahogy az a pylorus és a belső anális sphincter szerkezetére jellemző. Mikroszkópos vizsgálataink azt sugallják, hogy az ileocecalis billentyű az ileum és a caecum falának egyszerű fúziója. Megfigyeléseink szerint, Didio & Anderson közleményének megfelelően, a hosszanti izomrétegek izolálják a két körkörös koncentrikus izomréteget a billentyű hossza mentén, majd a szelep szabad végénél, a körkörös rostok közé sugározva véget érnek (14). Az ileum körkörös rostjai az ileocecalis billentyű szabad végénél folytatódnak a caecum körkörös rostjaiban. Tehát az ileum és a caecum körkörös izomrostjai nincsenek egymástól anatómiailag elválasztva ellentétben a pylorus és a duodenum hasonló rostjaival.

A ileocecalis billentyű autonóm idegrendszerével kapcsolatos, ezidáig megjelent közleményekből csupán annyi tudható meg, hogy az ileocecalis billentyűben a neuronok és az idegek sűrűsége nagyobb a környező bélszakaszokénál (lásd 2.1.2.3.1. pont). Az idegrendszer ultrastruktúrájáról, azaz a plexus myentericus térbeli szerkezetéről nincs információnk.

Tanulmányom elsőként számol be arról, hogy két egymástól jól elkülöníthető, ilealis és coecalis eredetű myentericus, mély és felületes submucosus plexus található az ileocecalis billentyűben. Elsőként sikerült Whole-Mount preparátumot készítenem az ileocecalis billentyűn, és így elsőként adódott lehetőségem az ileocecalis billentyűben található ilealis és coecalis eredetű enterális plexusok térbeli szerkezetének és összeköttetéseinek tanulmányozására.

A két határozottan különböző eredetű, coaxiális térbeli helyzetű plexus az ileocecalis billentyű szabad végénél folytonos összeköttetésben van. A plexus myentericust övező Cajal-féle (a bél saját pacemaker sejtjeként is ismert) interstitialis sejtek láncolatát is folytonosnak találtam. Nem látható a pyloro-duodenealis átmenetre jellemző megszakítottság, még az ileocecalis billentyű szabad végében sem.

Az enteralis idegrendszer és azt körülvevő interstitialis Cajal-sejt hálózat folytonossága az ileocecalis billentyűben arra utal, hogy az ún. „lassú myoelektromos potenciál hullám” (myoelectric slow wave), ami a bél saját perisztaltikáját teszi lehetővé, szabadon terjedhet az ileumról a vastagbéltre az ileocecalis átmenetben. Mindez azt jelenti, hogy a Shafik és munkatársai által lokalizált anatómiai pacemaker szigetek mellett (85), az ileumban generálódott, a vastagbéltre akadálytalanul propagáló myoelektromos aktivitás funkcionális pacemaker szerepet tölt be a vastagbél motilitásának szabályzásában.

Ez az elképzelés egybevághat Malbert hipotézisével is, miszerint nem csak a coecum telődése indítja el a coecalis perisztaltikus aktivitást, hanem az ilealis eredetű a vastagbéltre propagáló myoelektromos aktivitás is fontos szerepet játszik az ileum és a coecum motilitásának koordinálásában (57). Következtetésként az is levonható, hogy az ileum és a coecum gyakori koordinálatlan myoelektromos működését nem magyarázza a pylorus és a duodenum esetén ismert körkörös izomrostok, enteralis idegrendszer és Cajal-sejtek hálózatában kimutatható folytonossági hiány. Valószínű, hogy az ilealis myoelektromos tevékenység ileocecalis billentyűben történő „elakadásáért” egyéb funkcionális tényezők, pl. neuronális kontroll tehetők felelőssé.

6.2. Postnatalis változások az ileocecalis junctio plexus myentericusában

Az invaginatio lipopoliszacharid indukálta kísérletes modellje rámutatott, hogy a primer vezetőpont nélküli invaginatio a bél motilási zavarának következtében alakul ki, mely összefügg a fokozott neuronális nitrogén-oxid felszabadulással. Az invaginációk többsége ileocecalisan történik (109). Ez azt jelenti, hogy az ileocecalis billentyű pathológiás relaxációja komoly szerepet játszhat a folyamat kialakulásában.

Vizsgálataim során, adott területre vonatkoztatva, a legtöbb nitricus neuront az ileocecalis billentyűben találtam. Ez véleményem szerint azt is jelenti, hogy megfelelő stimulus hatására, a nitrogén-oxid itt szabadul fel a legnagyobb koncentrációban, azaz pathológiás motilitási zavar, kóros relaxáció itt alakul ki legkönnyebben. Ez a feltételezés magyarázza, hogy a primer invaginatio folyamata miért éppen az ileocecalis billentyűben kezdődik. Feltételezésem szerint az

ileocecalis billentyűben kimutatott nagy számú nitricus neuronból felszabaduló nagy mennyiségű nitrogén-oxid a sphincter kóros relaxációjához vezet, amely a terminális ileum ileocecalis invaginációját eredményezi vezetőpont hiányában is.

Az enterikus neuronok száma, sűrűsége változik a fejlődés, növekedés során. A legtöbb kvantitatív vizsgálat, amely a myentericus neuronok számának életkorral járó változásait vizsgálta, a neuron-sűrűség szignifikáns csökkenését észlelte az életkor előrehaladtával (24, 25, 68, 104). Ez a megfigyelés jellemző a legtöbb emlősre, és specifikus a bélrendszer adott szakaszára. Gabella nitro-blue-tetrazolium (NBT) festés segítségével a β -NADH reduktáz enzimet tartalmazó neuronokat festve, különböző állatok vékonybelének plexus myentericusát tanulmányozva megállapította, hogy a neuronok populációja felére csökkent 3 hónapos és 30 hónapos kor között (25). Tengerimalacok vékonybelében nemcsak az adott területre vonatkozó sejtek száma (sejtsűrűség), hanem az össz-neuron szám is csökkent, ami azt jelenti, hogy ez a csökkenő tendencia nem csak a bélkeresztmetszetének és hosszának a növekedéséből adódik (24). A legújabb vizsgálat cuprolinic blue festés (kifejezett aspecificus, panneuronális marker, ami a legtöbb neuront jelöli a ganglionokban) segítségével történt patkányban, 3 és 27 hónapos kor között. Ez a vizsgálat 20-30% neuronszám veszteséget mutatott a duodenumban, 15-20% -ot a jejunum-ileumban, 30-40%-ot vastagbélben (68). Wester és munkatársai emberi plexus myentericust tanulmányozva kifejezett neuronszám csökkenést észleltek az első életév során (104).

Tanulmányomban mind a terminális ileum, az ileocecalis billentyű és a coecum plexus myentericusában a nitricus neuronok számának kifejezett csökkenését észleltem az életkor előrehaladtával. A nitricus sejtek számának, denzitásának csökkenése miatt az életkor előrehaladtával egyre kisebb a veszélye a túlzott mennyiségű nitrogén-oxid felszabadulásnak adott szövetmennyiségben. Ez a jellegzetesség véleményem szerint, magyarázatot ad arra, hogy a primer invaginatio miért nem jellemző idősebb gyermek- és felnőttkorban.

6.3. Az ileocecalis billentyű atresia és agenesia sebészeti megoldása

Az ileocecalis billentyű atresiája és az ileocecalis junctio atresiája műtét előtt nem különíthető el egyéb ileum atresiától. Fontos a pontos intraoperatív diagnózis felállítása. Amennyiben az ileocecalis billentyű membrános elzáródásával állunk szemben, a billentyűn végzett plasztika, az ileocecalis billentyű megmentése eredményezi a legfiziológiásabb megoldást a komplett resectióval és esetleges pótlással szemben. Nehezíti a diagnózist, hogy a terminális ileum tágulata miatt nehéz a membrán jelenlétét megállapítani. A Cacciari és munkatársai által közölt esetben a betegnél korábban enterocolitis necrotisans és vékonybél perforáció miatt ileostoma készült (8). Csupán a helyreállító műtét kapcsán észlelték az ileocecalis billentyű membrános atresiáját. Természetesen a vékonybél stoma miatt a terminális ileum már nem volt tágult, így sokkal könnyebb volt az atresia jellegét, az ileocecalis billentyű jelenlétét diagnosztizálni.

Ismert, hogy az enterocolitis necrotisans késői szövődményeként stricturák alakulhatnak ki a bélen. Mivel az enterocolitis necrotisans általában az ileocecalis régióból indul ki, a Cacciari által közölt esetben az ileocecalis billentyű atresia akár az enterocolitis necrotisans késői következménye is lehetett. Mindez azonban nem feltétlen változtat a műtéti stratégián.

További intraoperatív nehézséget jelenthet, hogy a kitágult vékonybél mekkora szakaszát resecáljuk. Az irodalom szerint törekednünk kell a lehető leghosszabb életképes bél megtartására, még többszörös anastomosisok készítése árán is (33, 55).

A következő megfontolandó kérdés az ileocecalis billentyű művi szeleppel történő helyettesítése. Amennyiben a resectio során elvesztett bél hossza nem szignifikáns, akkor ileocecalis billentyű-helyettesítés nem szükséges. Hosszantartó parenteralis táplálást igénylő „rövidbél” szindróma esetén az ileocecalis billentyű-helyettesítés hasznos lehet.

6.4. Megfelelő billentyűpótlás

Hoffmann és Shafik izolált human és kutya ileocecalis preparátumokban az ún. „magas nyomású zónákban” azaz az ileocecalis sphincterben 20-30 H₂O cm nyomást regisztráltak manometriás módszerekkel (36, 86).

Az ileocecalis billentyű (ICV) általunk regisztrált anterograd és retrograd hidrosztatikai nyomástűrési értékei (ICV_{ant} = 21.6 ± 3.96 H₂O cm, ICV_{retrog} = 25.8 ± 4.92 H₂O cm) is ebbe a tartományba esnek.

Ha figyelembe vesszük az ileocecalis billentyű anterograd illetve retrograd hidrosztatikus ellenállásáért felelős tényezőket, megfontolandó következtetéseket vonhatunk le.

Az ileocecalis billentyű anterograd hidrosztatikus ellenállásáért nagy valószínűséggel csak a sphincter tónusa okolható, azaz tisztán az ileocecalis billentyű által kifejtett nyomás. Az ileocecalis billentyű hidrosztatikus reflux kontrolljáért azonban több tényezőt is felelősnek tartunk: pl. az ileocecalis junctio geometriáját, külső rögzítő ligamentumokat, a billentyű alakját és a sphincter tónusát (lásd 2.2.2. pont).

Az általunk mért hidrosztatikai nyomásértékek és a manometriás vizsgálatok által regisztrált értékek közötti kis különbség arra utal, hogy mind az ileocecalis billentyű anterograd, mind a retrograd hidrosztatikus rezisztenciája az ileocecalis billentyű myogen tónusának következménye, és az egyéb, pl. a billentyű alakjából származó feltételezett hatások elhanyagolhatóak.

Az invaginált billentyűk, amelyek helyettesíteni hivatottak különböző sphinctereket pl. húgyuti continens stomák a hólyag sphinctert (48), a porto-enterostomákban használt billentyűk az Oddi sphinctert (52) és az ileocecalis billentyűt, csupán passzívan, alakjuknál fogva képesek hidrosztatikai ellenállást kifejteni.

Több tanulmány is vizsgálta e billentyűk hidrosztatikai antireflux hatékonyságát, mikrobiológiai effektivitását és anterograd átjárhatóságát (10, 17, 19). Ezek a tanulmányok főként a colo-ilealis refluxból adódó szövődmények kiküszöbölésére koncentráltak (pl. Crohn betegség

recidívája) (3). Nem található azonban olyan vizsgálat, mely a művi billentyűket az anterograd hidrosztatikai ellenállás szempontjából elemezné, holott az adekvát anterograd ellenállás rendkívül fontos pl. „rövidbél” szindróma esetén. Nincs olyan közlemény, amely tárgyalná az invaginált szelepek hidrosztatikai paramétereit az invaginált bélszakasz hosszúságának függvényében.

Megvizsgáltam több fontos tényezőt is, melyeket feltétlenül figyelembe kell vennünk az invaginált művi billentyűk készítésénél:

1. A mesenterialis erek megtöretése miatt az invaginált bélszakasz vérellátása zavart szenved. A statis enyhe jeleit (pangás, lilás elszíneződés) láttuk néhány órával a 7 cm-nél hosszabb bél invaginálása után. A hosszan invaginált mesenterium húzó erőt fejt ki a begyűrt bélszakaszra, magában hordozva az ún. „sliding complication” azaz a desinvaginálódás szövődményét (16). Mindezek miatt a lehető legrövidebb, de hatékony szelep készítése célszerű.

2. A legrövidebb hatékony szelephosszot minden esetben az adott bél átmérőjének figyelembevételével kell meghatározni. Az invaginálandó bélszakasz nem lehet rövidebb a bél átmérőjénél (4.3.4. pont).

3. Fontos a megfelelő anterograd hidrosztatikus ellenállás kialakítása. Túl nagy ellenállás, nagyobb, mint a pótolni kívánt ileocecalis billentyű ellenállása, komplikációkhoz vezethet.

Tanulmányomban az ileocecalis billentyű anterograd ellenállását összehasonlítottam a lehető legkisebb invaginált billentyű anterograd ellenállásával. A legrövidebb invaginált billentyű nem bizonyult elegendően hatékonyak. Az invaginált bélszakasz hosszának növelésével sikerült növelni az invaginált billentyű anterograd ellenállását is. Céлом, hogy „ideális” azaz olyan invaginált billentyűt készítsek, mely hidrosztatikai paramétereiben (anterograd és retrograd) megfelel az ileocecalis billentyűnek.

A kísérlet során néhány tényezőt figyelmen kívül hagytam, pl.: a széklet viszkozitás, a spontán desinvaginálódás és a bélfal rugalmasság.

A kísérletben standardként használt Gastrographin-fiziológiás só oldat viszkóзитását nem hasonlítottam a természetes vékonybél tartalomhoz. Ez nehéz is lett volna, hiszen a

vékonybél-tartalom viszkozitása széles határok között mozog az elfogyasztott táplálék minőségétől és a vízfogyasztástól függően. Elképzelhető, hogy más folyadék használata mellett más értékeket kapunk a mérések során, de a mért értékek abszolút értékeinek különbsége hasonló következtetésekre vezetett volna minket.

Ismert az invaginált billentyűben fellépő ún. desinvaginálódási tendencia, melyet az invaginált bél mesenteriumában fellépő húzó erő közvetít a szeleptől aborálsan lévő bélszakasz telődése során. Az invaginált billentyű készítése során, a körkörös seromuscularis öltéseken kívül nem használtam egyéb, a biomechanikai stabilitást fokozó manővert. Egyébként ezek az eljárások még ma is csak kísérleti stádiumban vannak (16, 18, 20).

A bélfal a bélkacs telődése során tágulni kezd, csökkentve ezzel a lumenen belüli nyomást. A bélfal relaxációs reflexe jól ismert, mérését az anorectalis manometriás vizsgálatoknál használjuk Hirschsprung betegség diagnosztikájában (83).

Mialatt a bél tágul, a szelep szárnyai egymástól távolodnak, és a szelep kinyílik. Mindez a folyamat csak addig játszódik, amíg a bélfal teljesen ki nem tágul és el nem veszti elaszticitását. Eddig a momentumig a bélkacs belüli nyomás konstans és alacsony. Ez azt jelenti, hogy a szelep megnyílását az intraluminalis tartalom mennyisége és a bélfal tágultsági foka befolyásolja addig a pillanatig, amíg az intraluminalis nyomás nem kezd emelkedni. A kontroll bélkacs 10 H₂O cm nyomás mellett teljesen feltelődött. Csak minimális átmérőbeli különbséget mértem a 10 H₂O cm-es nyomással feltöltött kontroll bélkacs és a 60 H₂O cm nyomással feltöltött B kacs (4 cm hosszú invaginált billentyűvel) között. Ez arra utal, hogy az intraluminalis tartalomnak és a bélfal tágultsági fokának kisebb szerepe van a szelepek megnyílásában, mint a lumenen belüli nyomásnak. Mindez arra enged következtetni, hogy a lumenen belüli nyomás a megfelelő paraméter, ami alapján a különböző hosszúságú szelepek hatékonyságát megfelelően mérni lehet.

Az invaginált billentyű szelepek meglepően nagy antireflux hatékonysággal bírnak az anterograd ellenálláshoz képest. Ezzel szemben az ileocecalis billentyű anterograd és retrograd hidrosztatikus ellenállása közel egyforma. A legrövidebb (4 cm) invaginált billentyű anterograd

ellenállása nem éri el az ileocecalis billentyűét. Ez magyarázható a két szelep különböző struktúrájával. Az invaginált billentyű hosszabb szelep szárakkal rendelkezik, de nincs sphincter izomzata, tulajdonképpen passzív szelep, míg az ileocecalis billentyű hidrosztatikus aktivitása inkább az aktív sphincter funkció következménye, mintsem a rövidebb passzív szelepszárnyak működéséből adódik (86).

Méréseim során a 6 és 7 cm közötti hosszúságúra növelt invaginált billentyű anterograd ellenállása elérte az ileocecalis billentyűnek megfelelő értéket.

Következtetésül levonhatjuk, hogy az aktív ileocecalis billentyűt nem lehet tökéletesen helyettesíteni invaginált passzív szeleppel, de az invaginált bélszakasz hosszának növelésével megfelelő anterograd hidrosztatikus ellenállás érhető el, kifejezetten jó antireflux ellenállás mellett.

A legrövidebb invaginált billentyű készítése elegendő, ha a fő célunk a hatékony reflux kontroll kialakítása, például Crohn betegség esetén. Ha viszont megfelelő anterograd rezisztencia kialakítása a prioritás („rövidbél” szindróma), a rövid invaginált billentyű, mely egyébként megfelelő reflux kontrollal bír, nem lesz kellően hatékony. Mivel az invaginált billentyű anterograd ellenállását a szelep hosszának növelésével fokozni lehet, hosszabb invaginált billentyű készítése indokolt (különösen „rövidbél” szindrómában) az ileocecalis billentyű fiziológiásabb helyettesítése érdekében. A klinikai alkalmazás bevezetése előtt a hosszabb invaginált billentyű hosszútávú hatékonyságának ellenőrzése céljából további vizsgálatokra van szükség.

6.5. Az ileocecalis billentyű felhasználásának lehetősége a biliaris atresia sebészetében

Ha a természetes antireflux mechanizmus hiányzik, a visszaáramló vizelet vagy béltartalom komplikációkhoz vezethet, például vesico-ureteralis reflux esetén húgyuti infekció, gastro-oesophagealis refluxban nyelőcsőgyulladás alakulhat ki. Az extrahepaticus epeút atresia műtéti rekonstrukciója, a Kasai-féle Roux-Y porto-enterostomia ugyan megoldhatja az epe elvezetését, de az Oddi sphincter hiánya miatt a reflux veszélye nagy. Az Roux-Y porto-enterostomia

leggyakoribb szövődménye az epeútgyulladás. Habár ennek etiológiája csak részben vezethető vissza a felszálló fertőzésre, a refluxmentes anastomosis fontos követelmény. Ez a logika vezetett a refluxgátló mehanizmusok alkalmazásához a biliaris atresia sebészetében.

A korai közlemények, kisebb létszámú betegcsoporton végzett vizsgálatok alapján, hangsúlyozzák a szeleppel készített anastomosisok előnyét. Nakajo 17 esetet (62), Saeki 13 sikeres esetet közöl (79), amelyekben az invaginált billentyű szignifikánsan csökkentette a postoperatív cholangitis gyakoriságát. Az újabb retrospektív tanulmányok szerint azonban, nagyobb beteganyagot vizsgálva, Kennith (45) és Sartorelli (80) az invaginált szelepeket nem tartották effektívnek.

Méréseimből egyértelműen kiderül, hogy az invaginált szelepek közül még a lehető legrövidebb is, rendkívül nagy antireflux ellenállással bír. A kísérletben mért 60 H₂O cm nyomás valószínűleg bőven a bélben mérhető fiziológias nyomásértékek felett van. Az ileocecalis conduit refluxgátló hatása messze elmarad a rövid invaginált billentyű paramétereitől.

De vajon az invaginált szelepek nagy hidrosztatikai hatékonysága hasonló mikrobiológiai effektivitással is párosul, ami képes a postoperatív cholangitis prevenciójára? Yeah és munkatársai, kísérletes modellben, a nyálkahártyából képzett invaginált szeleppel ellátott Roux-kacsot hatékonyabb mikrobiológiai barriernek találták az eredeti Roux-Y kacsnál, igaz csak egyfajta (*hydrophila aeruginosa*) baktériummal szemben (108). Ezzel szemben az általam végzett előkísérlet eredménye más baktériummal (*enterococcus faecalis*) felveti azt a lehetőséget, hogy az invaginált billentyű, a klinikai tapasztalatoknak megfelelően, nem hatékony mikrobiológiai barrier, legalább is nem minden baktériummal szemben.

Ha abból indulunk ki, hogy az invaginált billentyű nagy antireflux képessége miatt jó mikrobiológiai barrier, az invaginált billentyűk sikertelen klinikai alkalmazásából arra következtethetünk, hogy a postoperatív cholangitis nem a porto-enterostoma útján felszálló fertőzés, hanem más tényezők, pl. haematogen bakteriális transzlokáció, cholestasis következménye (13). Mindezekből azt is gondolhatnánk, hogy a porto-enterostoma teljesen indifferens a postoperatív cholangitis prevenciójában. Csakhogy eredményeimből

következtetésként az is levonható, hogy a magas hidrosztatikai antireflux képesség nem jelent feltétlenül kifogástalan mikrobiológiai barriert. Mivel komoly bizonyíték van arra, hogy a cholestaticus máj fogékony az ascendáló fertőzésre (11), nem zárhatjuk ki azt a feltételezést, hogy az invaginált billentyű-k klinikai sikertelensége a nem kielégítő mikrobiológiai funkcióból származik.

Endo és munkatársai, az ileocecalis junctiót felhasználva mintegy 10 %-kal csökkenték a műtétet követő epeút gyulladás gyakoriságát az invaginált szeleppel készített anastomosishoz képest (22). Az ileocecalis conduit használatáról illetve hatékonyságáról több közlés nem található az irodalomban. A tanulmányomban egyedül az ileocecalis billentyű volt képes nagyobb mértékben megakadályozni az ascendáló fertőzést, mely alátámasztja Endo és munkatársainak eredményét. Az ileocecalis conduit mikrobiológiai hatékonyságának oka lehet az ileumban lévő nagyszámú nyirokelem, és az aktív „szelepfunkció” a passzív invaginált billentyűvel szemben.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a magas hidrosztatikai effektivitással bíró antireflux szelepek alkalmazásának előnyét sem a klinikai tanulmányok, sem előkísérletes eredményeink nem támasztják alá. Ugyanakkor, a kisebb hidrosztatikai effektivitású, de hatékony immunológiai barrier, az ileocecalis billentyű, hatékony lehet a postoperatív epeút gyulladás prevenciójában. Ezért érdemes tovább vizsgálni alkalmazásának lehetőségeit.

A továbbiakban, lehetőségeink szerint, növelni szeretnénk a kísérletbe bevont állatok számát. Modellünkben növelni szeretnénk az állatok túlélési idejét, a vizsgált postoperatív periódust. Az ún. „fajidegen” baktériumok helyett az állatok béltraktusában honos baktériumok májra kifejtett közvetlen hatását is szeretnénk vizsgálni epeút rekonstrukciót követően. A klasszikus szövettani vizsgálatokon kívül egyéb érzékeny módszerekkel, immunhisztokémia és reverz polimeráz láncreakció (rt PCR) segítségével szeretnénk vizsgálni a különböző gyulladásos mediatorok (TGF β , monocyta chemoattractant protein 1 (MCP1), interleukin 1 és 6 (IL1, IL6) expresszióját a májban.

6.6. Elért fontosabb új eredmények és következtetések összegzése

1. Elsőként számoltunk be az ileocoecalis billentyű idegrendszerének térbeli szerkezetéről, és arról, hogy az ileocoecalis billentyű autonóm idegrendszere két egymástól jól elkülöníthető, ilealis és coecalis eredetű myentericus, mély és felületi submucosus plexusokra bontható.

2. Elsőként sikerült a Whole-Mount preparálási technikát adaptálni és alkalmazni a különböző korú sertésekből származó ileocoecalis billentyűkben.

3. Szöveti vizsgálatokkal kimutattam, hogy a két különböző eredetű, coaxiális helyzetű plexus az ileocoecalis billentyű szabad végénél összeköttetésben van és a plexus myentericust övező -az ún. „lassú myoelektromos potenciál hullám” terjedéséért felelős- Cajal-féle interstitialis sejtek láncolatában nincs folytonossági hiány.

4. Az ileocoecalis billentyű plexus myentericusában észlelt nitricus hyperinnervatio magyarázatot ad arra, hogy a primer invaginatio miatt az ileocoecalis billentyűben kezdődik.

5. A postnatalis vizsgálataink során a különböző életkorú sertések -újszülött, 4 hét, 12 hét és felnőtt korú- ileocoecalis billentyűiben végzett vizsgálataim során megállapítottam, hogy a nitricus neuronok és ganglionok száma szignifikánsan csökkent az életkor előrehaladtával. A hiperinnerváció csökkenés az életkor előrehaladtával magyarázhatja, hogy a primer invaginatio miatt nem jellemző idősebb gyermekkorban és felnőttkorban.

6. Az ileocoecalis billentyű veleszületett atresiája, agenesiája igen ritka, de már újszülöttkorban akut sebészeti kezelést igényel. Munkacsoportunk elsőként számolt be újszülöttkori ileust okozó veleszületett ileocoecalis billentyű agenesiáról. Felhívtuk a figyelmet a membrános elzáródás és az agenesia elkülönítésének jelentőségére és a műtéti stratégia különbségeire, újszülöttkori szempontjaira. Az egyszerű anastomosis elfogadható, de ha „rövidbél” szindróma fenyeget, billentyű-plasztika illetve pótlás választandó.

7. Az ileocoecalis billentyű tökéletesen nem helyettesíthető rövid invaginált szeleppel, de az invaginált szelep hosszának növelésével megfelelő anterograd hidrosztatikus ellenállás érhető el.

8. Rövid invaginált szelep készítése elegendő, ha a resectio után a prioritás a hatékony reflux kontroll kialakítása (Crohn betegség). Megfelelő anterograd rezisztencia elérése céljából („rövidbél” szindróma) azonban hosszabb invaginált szelep készítése indokolt.

9. A Kasai porto-enterostomiákban készített, magas hidrosztatikai hatékonyságú antireflux szelepek előnyét kísérletes eredményeink nem támasztották alá. Ugyanakkor a kisebb hidrosztatikai hatékonyságú ileocecalis billentyű, hatékonyabb immunológiai barriernek bizonyult, valószínűleg eredményesebb lehet a postoperatív epeútgulladások megelőzésében.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az értekezés gyermeksebészeti szemszögből tárgyalja az ileocoecalis junctio jelentőségét. Az első szakasz részletezi az ileocoecalis billentyű neuroanatómiájának eddig ismeretlen részleteit. Két különálló, coaxialis elhelyezkedésű, ilealis és coecalis eredetű enteralis neuron, és myentericus Cajal sejt-hálózatról számol be. Az ileocoecalis junctióban nem található a pyloro-duodenalis junctiora jellemző myoelektromos izoláció. Az egymással folytonos összeköttetésben álló ilealis és coecalis enteralis neuronális plexusok és a Cajal-féle sejtek hálózatának anatómiája magyarázza, hogy az ileocoecalis junctio miért képes az ilealis és coecalis motilitás koordinációjára.

Az értekezés második részében, Whole-Mount technika és NADPH-d enzimhisztokémiai segítségével az ileocoecalis billentyűben feltárt, az életkorral csökkenő nitricus hyperinnervatio magyarázza, hogy az egyik leggyakoribb gyermekkori akut hasi kórkép, az invaginatio, miért éppen az ileocoecalis junctióban alakul ki és miért csecsemőkorban a leggyakoribb.

Az értekezés harmadik része az újszülöttkori ileust okozó ileocoecalis billentyű agenesia ritka klinikai esetét ismerteti, hangsúlyozza az ileocoecalis billentyű atresia és agenesia elkülönítésének fontosságát. Egyszerű resectio és anastomosis elfogadható, de billentyű-plasztikára illetve pótlásra érdemes törekedni „rövidbél” szindróma esetén.

A negyedik fejezet összehasonlítja az ileocoecalis billentyű hidrosztatikus paramétereit a billentyű pótlására használt invaginációs billentyűkkel. Megállapítja, hogy a rövid invaginációs billentyűk kifejezett refluxgátló képességgel bírnak, de nem fejtenek ki elegendő anterograd ellenállást. Ezért alkalmasak lehetnek Crohn betegség recidívájának csökkentésére, de „rövidbél” szindróma megelőzésére csak a hosszabb invaginált billentyűk alkalmasak.

Az ötödik fejezet előkísérletben felveti, hogy az ileocoecalis billentyű gyengébb hidrosztatikus refluxgátló képessége ellenére hatékonyabb mikrobiológiai barrier, mint a kifejezetten nagy hidrosztatikai refluxgátló képességgel bíró invaginált szelepek. Ezért az ileocoecalis billentyű alkalmazásával valószínűleg mérsékelhető az epeúti rekonstrukciót követő cholangitis gyakorisága veleszületett biliaris atresiában.

8. SUMMARY

This study focuses on the importance of the ileocaecal junction. The first section explores the detailed anatomy of the enteric nervous system in the ileocaecal valve. Two distinct coaxial enteric nervous plexuses of ileal and caecal origin and myenteric Cajal cell network in the ileocaecal valve have been reported. No myoelectric isolation has been found between the ileal and caecal enteric nervous system, as it was described at the pyloro-duodenal junction. This anatomy explains the coordinated ileocaecal motility patterns.

The nitroergic hyperinnervation of the ileocaecal valve revealed by Whole-Mount preparation technique and NADPH-d histochemistry in the second section of the study explains why the intussusception (one of the most common surgical emergencies in children) happens at the ileocaecal junction. The decreasing nitroergic hyperinnervation of the ileocaecal valve with age revealed in this study may explain the decreasing occurrence of intussusception with age.

The importance of the differentiation between agenesis and atresia of the ileocaecal valve is discussed in the third section of this study. A case with agenesis of the ileocaecal valve is reported and surgical options are discussed. Resection and simple anastomosis are accepted in case of atresia and agenesis, but valve-plasty or replacement should be considered in imminent short bowel syndrome.

The fourth section is comparing the hydrostatic parameters of the ileocaecal valve with intussusception type intestinal valves, used for ileocaecal valve replacement. It has been established that the short intussusception type valves have appropriate antireflux efficacy to prevent the recurrence of Crohn disease, but only longer intussusception type valves are suitable for preventing of short bowel syndrome.

In the fifth section the ileocaecal valve with less hydrostatic antireflux efficacy has been found more effective microbiological barrier than the intussusception like valves. The use of the ileocaecal valve as a bilioenteric conduit may reduce the incidence of postoperative cholangitis after hepatico-potenterostomy in biliary atresia.

9. IRODALOMJEGYZÉK

9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Altdorfer K, Feher E, Feher J.: Distribution and localization of nitric oxide containing neural elements in the digestive tract. *Orv Hetil* 1996; 137: 857-860.
2. Araujo EJ, Sant'Ana Dde M, Molinari SL, de Miranda Neto MH.: Regional differences in the number and type of myenteric neurons in the descending colon of rats. *Arq Neuropsiquiatr* 2003; 61: 220-225.
3. Bakkevold KE.: Nipple valve anastomosis for preventing recurrence of Crohn disease in the neoterminal ileum after ileocolic resection. A prospective pilot study. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 293-299.
4. Bauer AJ, Schwarz NT, Moore BA, Turler A, Kalff JC.: Ileus in critical illness: mechanism and management. *Current Opin in Critical Care* 2002; 8: 152-157.
5. Bell TM, Steyn JH.: Viruses in lymph nodes of children with mesenteric adenitis and intussusception. *Br Med J* 1962; 5306: 700-702.
6. Ben-Ghedalia D, Hasdai A, Josef E.: Availability of macro and microelements from edible domestic waste fed to sheep. *J Dairy Sci* 1983; 66: 1298-1302.
7. Bogers JJ, Van Marck E.: The ileocaecal junction. *Histol Histopathol* 1993; 8: 561-566.
8. Cacciari A, Mordenti M, Ceccarelli PL, Ruggeri G.: Ileocaecal valve atresia: our surgical approach. *Eur J Pediatr Surg* 2004; 14: 435-439.
9. Cai WQ, Gabella G.: Structure and innervation of the musculature at the gastroduodenal junction of the guinea-pig. *J Anat* 1984; 139: 93-104.
10. Chardavoyne R, Isenberg HD, Tindel M, Stein TA, Sampson-Scherer J, Wise L.: Microbiologic efficacy of a surgically constructed nipple valve. *Am J Surg* 1984; 147: 230-233.
11. Chih-Sung Hsieh, Chao-Cheng Huang, Jiunn-Jong Wu.: Ascending cholangitis provokes IL-8 and MCP-1 expression and promotes inflammatory cell infiltration in the cholestatic rat liver. *J Pediatr Surg* 2001; 36: 1623-1628.
12. Cserni T, Magyar Á, Németh T, Paran ST, Csízy I, Józsa T.: Atresia of the ileocecal junction with agenesis of the ileocecal valve and vermiform appendix: report of a case. *Surg Today* 2006; 36: 1126-1128.
13. Deitch EA, Sittig K, Li M.: Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J Surg* 1990; 159: 79-84.
14. DiDio LJA., Anderson MC.: Jejunum-ileum. In: The „sphincters” of the digestive system. Anatomical functional and surgical considerations. The William and Wilkins Co, Baltimore, 1968. pp. 52-196.
15. Dorney SF, Ament ME, Berquist WE, Vargas JH, Hassall E.: Improved survival in very short small bowel of infancy with use of long-term parenteral nutrition. *J Pediatr* 1985; 107: 521-525.
16. Ecker KW, Hildebrandt U, Haberer M, Feifel G.: Biomechanical stabilization of the nipple valve in continent ileostomy. *Br J Surg* 1996; 83: 1582-1585.
17. Ecker KW, Pistorius G, Harbauer G, Feifel G.: Bacterial clearance of the terminal ileum in relation to the ileocolic connection. *Zentralbl Chir.* 1995; 120: 336-342.
18. Ecker KW, Pistorius G, Harbauer G, Feifel G.: An intestinal neosphincter attained by circumscribed muscle proliferation. Technical development and functional evaluation in the dog. *Langenbeck's Arch Chir* 1994; 379: 361-367.
19. Ecker KW, Pistorius G, Menger MD, Feifel G.: Establishment of an immunocompetent nipple valve anastomosis to prevent faecal reflux after ileocolic resection in dogs. *Eur J Surg* 2000; 166: 409-414.
20. Ecker KW, Pistorius G, Menger MD, Feifel G.: Long-term function of experimental substitutes of the ileocecal valve. *Eur Surg Res* 1997; 29: 75-83.
21. Ein SH, Venugopal S, Mancer K.: Ileocaecal atresia. *J Pediatr Surg* 1985; 20: 525-528.
22. Endo M.: Outcomes of ileocolic conduit for biliary drainage in infants in biliary atresia in comparison with Roux-Y type reconstruction. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 700-704.

23. Fortyn K, Hradecky J, Pazdera J, Hruban V, Dvorak P, Klaudy J.: Intestinal invagination in pigs. *Vet Med* 1985; 30: 173-173.
24. Gabella G.: Fall in number of myenteric neurons in aging guinea pigs. *Gastroenterology* 1989; 96: 1487-1493.
25. Gabella G.: The number of neurons in the small intestine of mice, guinea-pigs and sheep. *Neuroscience* 1987; 22: 737-752.
26. Gesrhon MD.: Functional anatomy of the enteric nervous system. In Holschneider A -Puri P (eds): *Hirschsprung disease and allied disorders*. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 2000. pp. 19-58.
27. Grant HW, Bucimazza I, Hadley GP: Comparison of colo-colic and ileocolic intussusception. *J Pediatr Surg* 1996; 31: 1607-1610.
28. Grassi R, Pinto A, Valente T, Rossi G, Catalano O, Rotondo A.: Massive enterolithiasis associated with ileal dysgenesis. *Br J Radiol* 1997; 70: 207-209.
29. Grier RL, Nelson AW, Lumb WV.: Experimental sphincter for short-bowel syndrome. *Arch Surg* 1971; 102: 203-208.
30. Guglielmi FW, Boggio-Bertinet D, Federico A, Forte GB, Guglielmi A, Loguercio C, Mazzuoli S, Merli M, Palmo A, Panella C, Pironi L, Francavilla A.: Total parenteral nutrition-related gastroenterological complications. *Dig Liver Dis* 2006; 38(9): 623-642.
31. Gupta N, Cohen SA, Bostrom AG, Kirschner BS, Baldassano RN, Winter HS, Ferry GD, Smith T, Abramson O, Gold BD, Heyman MB.: Risk factors for initial surgery in pediatric patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 130: 1069-1077.
32. Hao WL, Lee YK.: Microflora of the gastrointestinal tract: a review. *Methods Mol Biol* 2004; 268: 491-502.
33. Hasegawa T, Sumimura J, Nose K, Sasaki T, Miki Y, Dezawa T.: Congenital multiple intestinal atresia successfully treated with multiple anastomoses in a premature neonate: report of a case. *Surg Today* 1996; 26: 849-851.
34. Hipper K, Ehrlein HJ.: Motility of the large intestine and flow of digesta in pigs. *Res Vet Sci* 2001; 71: 93-100.
35. Hirakawa H, Kobayashi H, O'Briain DS.: Absence of NADPH-diaphorase activity in internal anal sphincter (IAS) achalasia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 54-58.
36. Hoffman R, Gomez R, Tanagho EA, McAnich JW.: Motility and intraluminal pressure of the ileocolonic junctional zone and adjacent bowel in a canine model. *Urol Res* 1993; 21: 329-332.
37. Höllwarth E.: Short bowel syndrome and surgical techniques for the baby with short intestines. In Puri P (ed): *Newborn Surgery*, 2nd edition, Arnold, London, 2003. pp. 572-574.
38. Izzo AA, Gaginella TS, Mascolo N.: Nitric oxide as a mediator of the laxative action of magnesium sulphate. *Br J Pharmacol* 1994; 113: 228-233.
39. Jin X, Wu F, Lei P.: The role of hypergastrinemia in the pathogenesis of intussusception in infants. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 1996; 34: 92-94.
40. Kajimoto T, Dinning PG, Gibb DB, de Carle DJ, Cook IJ.: Neurogenic pathways mediating ascending and descending reflexes at the porcine ileocolonic junction. *Neurogastroenterol Motil* 2000; 12: 125-134.
41. Karrer FM, Lilly JR, Hall RJ.: Biliary tract disorders and portal hypertension. In: Ashcraft KW, Holder TM. (eds): *Pediatric Surgery*, 2nd edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1993. pp. 478-492.
42. Kaur U, Goyal N, Gupta M.: Disposition of muscularis propria and nerve elements in the lip of the ileocaecal valve. *Nepal Med Coll J* 2005; 7: 125-128.
43. Kelles A, Janssen J, Tack J.: IL-1 β and IL-6 excite neurones and suppress cholinergic neurotransmission in the myenteric plexus of the guinea pig. *Neurogastroenterol Mot* 2000; 12: 531-538.
44. Kelley ML Jr, Gordon EA, Deweese JA.: Pressure responses of canine ileocolonic junctional zone to intestinal distention. *Am J Physiol* 1966; 211: 614-618.
45. Kenneth H.: The intussusception antireflux valve is ineffective in preventing cholangitis in biliary atresia. *J Pediatr Surg* 1996; 31: 403-406.
46. Kimura K.: Biliary atresia. In Puri P(ed): *Newborn Surgery*. 2-nd edition, Arnold, London, 2003. pp. 580-588.

47. Kluwe WM, Page JG, Toft JD.: Pharmacological and toxicological evaluation of orally administered pyridostigmine in dogs. *Fundam Appl Toxicol* 1990; 14: 40-53.
48. Kock NG: Continent ileostomy. *Prog Surg* 1973; 12: 180.
49. Konno M, Kobayashi A, Tomomasa T, Kaneko H, Toyoda S, Nakazato Y, Nezu R, Maisawa S, Miki K.: Guidelines for the treatment of Crohn's disease in children. *Pediatr Int* 2006; 48: 349-352.
50. Kumar D, Phillips SF.: The contribution of external ligamentous attachments to function of the ileocecal junction. *Dis Colon Rectum* 1987; 30: 410-416.
51. Lee HC, Yeung CY, Fang SB, Jiang CB, Sheu JC, Wang NL.: Biliary cysts in children-long-term follow-up in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2006; 105: 118-124.
52. Lilly JR, Karver FM, Hall RJ: The surgery of biliary atresia. *Ann Surg* 1989; 210: 289-296.
53. Lin Z, Cohen P, Nissan A, Allweis TM, Freund HR, Hanani M.: Bacterial wall lipopolysaccharide as a cause of intussusception in mice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 27: 301-305.
54. Lopez EL, Devoto S, Woloj M, Cleary TG.: Intussusception associated with *Escherichia coli* 0157:H7. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8: 471-473.
55. Louw JH, Barnard CN.: Congenital intestinal atresia: observations on its origin. *Lancet* 1955; 2: 1065-1065.
56. Maegawa FA, de Souza JA, de Araujo EJ, Koh IH, d'Acampora AJ, de Farias DC, Mengarda J, Volpato D, da Silva LG, de Cordova CS.: Ileocecal valve reconstruction in dogs. *Acta Chir Bras* 2005; 20: 55-63.
57. Malbert CH: The ileocolonic sphincter. *Neurogastroenterol motil* 2005; 17: 41-49.
58. Masane AL, Lortat-Jacob S, Sayegh N.: Intussusception in infants and children: feasibility of ambulatory management. *Eur J Pediatr* 1999; 158: 707-710.
59. Matsushita M, Suzuki T, Hajiro K.: Intussusception associated with *Salmonella typhi* murium enterocolitis. *Am Gastroenterol* 1994; 89: 1246-1248.
60. Metzger J, Degen L, Beglinger C, von Flue M, Harder F.: Clinical outcome and quality of life after gastric and distal esophagus replacement with an ileocolon interposition. *J Gastrointest Surg* 1999; 3: 383-398.
61. Montedonico S, Sri Paran T, Pirker M, Rolle U, Puri P.: Developmental changes in submucosal nitrergic neurons in the porcine distal colon. *J Pediatr Surg* 2006; 41: 1029-1035.
62. Nakajo: Intussusception-type antireflux valve in the Roux-en-Y loop to prevent ascending cholangitis after hepatic portoenterostomy. *J Pediatr Surg* 1990; 25: 311-314.
63. Neut C, Bulois P, Desreumaux P, Membre JM, Lederman E, Gambiez L, Cortot A, Quandalle P, van Kruiningen H, Colombel JF.: Changes in the bacterial flora of the neoterminal ileum after ileocolonic resection for Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 939-946.
64. Nissan A, Zhang JM, Lin Z, Haskel Y, Freund HR, Hanani M.: The contribution of inflammatory mediators and nitric oxide to lipopolysaccharide-induced intussusception in mice. *J Surg Res* 1997; 69: 205-207.
65. Ogasawara Y, Yamataka A, Tsukamoto K, Okada Y, Lane GJ, Kobayashi H, Miyano T.: The intussusception antireflux valve is ineffective for preventing cholangitis in biliary atresia: a prospective study. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 1826-1829.
66. Oh R, Brown DL.: Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician* 2003; 67: 979-986.
67. Olaison G, Smedh K, Sjodahl R.: Natural course of Crohn's disease after ileocolic resection: endoscopically visualised ileal ulcers preceding symptoms. *Gut* 1992; 33: 331-335.
68. Phillips RJ, Powley TL.: As the gut ages: timetables for aging of innervation vary by organ in the Fischer 344 rat. *J Comp Neurol* 2001; 434: 358-377.
69. Pinter AB, Farkas A, Par A, Kovesi T, Appelshoffer S.: A long-term follow-up of five patients with atresia of the common bile duct. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 1050-1054.
70. Prado IM, Di Dio LJ.: The "human"-like morphology of the swine papilla ilealis. *Ann Anat* 2000; 182: 371-375.
71. Quigley EM, Dent J, Phillips SF.: Manometry of canine ileocolonic sphincter: comparison of sleeve method to point sensors. *Am J Physiol*. 1987; 252: 585-591.
72. Quigley EM, Phillips SF.: The ileocecal (ileocolonic) sphincter. *Z Gastroenterol* 1983; 21: 47-55.
73. Quigley EM, Phillips SF, Cranley B, Taylor BM, Dent J.: Tone of canine ileocolonic junction: topography and response to phasic contractions *Am J Physiol* 1985; 249: 350-357.

74. Quigley EM, Thompson JS.: Effects of artificial ileocolonic sphincter on motility in intestinal remnant following subtotal small intestinal resection in the dog. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 1222-1229.
75. Reynolds M, Luck SR, Raffensperger JG.: The valved conduit prevents cholangitis: a follow up. *J Pediatr Surg* 1985; 20: 696-702.
76. Rickham PP.: Massive small intestinal resection in newborn infants. *Ann Roy Coll Surg Engl* 1967; 41: 480-485.
77. Ricotta J, Zuidema GD, Gadacz TR, Sadri D.: Construction of an ileocecal valve and its role in massive resection of the small intestine. *Surg Gynecol Obstet* 1981;152: 310-314.
78. Roger T, Cabanie P, Ferre JP.: Microscopic and functional anatomy of the ileal papilla and caecocolonic valve in the rat. *Acta Anat (Basel)* 1991; 142: 299-305.
79. Saeki M, Nakano M, Hagane K.: Effectiveness of an intussusceptive antireflux valve to prevent ascending cholangitis after hepatic portojejunosomy in biliary atresia. *J Pediatr Surg* 1991; 26: 800-803.
80. Sartorelli KH, Holland RM, Allshouse MJ.: The antireflux valve is ineffective in biliary atresia. *J Pediatr Surg* 1996; 31: 403-406.
81. Sartoris A, Succo G, Mioli P, Merlino G.: Reconstruction of the pharynx and cervical esophagus using ileocolic free autograft. *Am J Surg* 1999; 178: 316-322.
82. Sawaguchi S, Nakajo T, Mori T.: Surgical treatment of congenital biliary atresia by making a temporary external biliary fistula. *J Jpn Surg Soc* 1968; 69: 1317-1320.
83. Scharli AF.: The practical significance of manometry in pathology of the rectum and anorectum. *Prog Pediatr Surg* 1989; 24: 142-142.
84. Schermann M, Michel K, Ceregrzyn M, Zeller F, Seidl S, Bischoff SC.: Human mast cell mediator cocktail excites neurons in human and guinea-pig enteric nervous system. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 281-289.
85. Shafik A, El-Sibai O, Shafik AA.: Electrophysiologic identification of the location of the colonic pacemakers. A human study. *Front Biosci* 2002; 7: 1-5.
86. Shafik A, El-Sibai O, Shafik AA.: Physiological assessment of the function of the ileocecal junction with evidence of ileocecal junction reflexes. *Med Sci Monit* 2002; 8: 629-635.
87. Shand JE, Bremmer DN.: Agenesis of the vermiform appendix in a thalidomide child. *Br J Surg* 1977; 64: 2003-2004.
88. Shermann JO, Cosentino CM.: Intussusception. In: Ashcraft KW, Holder TM (eds): *Pediatric Surgery*, 2nd edition, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1993. pp. 416-420.
89. Shneider BL.: Intestinal bile acid transport: biology, physiology, and pathophysiology. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32: 407-417.
90. Surawicz CM, Levine DS, Saunders DR, Rubin CE.: Comparison of human jejunal and ileal fat absorption by electron microscopy. *Gastroenterology* 1988; 94: 1376-1382.
91. Szucs G, Toth I, Barna T, Brath E, Gyani K, Miko I.: Operation technique and healing process of telescopic ileocolostomy in dogs. *Acta Vet Hung* 2003; 51: 539-550.
92. Taari K, Salo JO, Pitkaranta P, Kivisaari L, Schroder T, Rannikko S.: Efficacy and complications of the Nd:YAG laser in partial nephrectomy: experimental study in piglets. *Scand J Urol Nephrol* 1991; 25: 303-306.
93. Takahashi T.: Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol* 2003; 8: 421-430.
94. Takahashi-Monroy T.: Surgical treatment of Crohn's disease. *Gac Med Mex* 2005; 141: 351-355.
95. Tjwa ETTL, Bradley JM, Keenan CM, Kroese ABA, Sharkey KA: Interleukin 1 β activates specific populations of enteric neurons and enteric glia in guinea pig ileum and colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: 1268-1276.
96. Tomobuchi M, Oshitani N, Matsumoto T, Kitano A, Seki S, Arakawa T: In situ generation of nitric oxide by myenteric neurons but not by mononuclear cells of the human colon. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001; 28: 13-18.
97. Turkyilmaz Z, Karabulut R, Gulen S, Demirogullari B, Ozen IO, Sonmez K, Basaklar AC, Kale N.: Role of nitric oxide and cyclooxygenase pathway in lipopolysaccharide-induced intussusception. *Pediatr Surg Int* 2004; 20: 598-601.

98. Vannucchi MG, Corsani L, Bani D, Faussone-Pellegrini MS.: Myenteric neurons and interstitial cells of Cajal of mouse colon express several nitric oxide synthase isoforms. *Neurosci Lett* 2002; 326: 191-195.
99. Velentine JF, Tannahill CL, Stevenot SA, Sallustio JE, Nick HS, Eaker EY.: Colitis and interleukin 1 β up-regulate inducible nitric oxide synthase and superoxid dismutase in rat myenteric neurons. *Gastroenterology* 1996; 111: 56-64.
100. Wallace MJ, Ahrar K, Stephens LC, Wright KC.: Transvenous extrahepatic portacaval shunt: feasibility study in a Swine model. *Radiology* 2003; 228: 119-125.
101. Wang P, Liu B, Ou H, Tong L, Yang J, Tang C.: Nitric oxide synthase/nitric oxide pathway mediates intussusception pathogenesis in rats. *Chin Med J* 1999; 112: 1016-1019.
102. Wang XY, Lammers WJ, Bercik P, Huizinga JD.: Lack of pyloric interstitial cells of Cajal explains distinct peristaltic motor patterns in stomach and small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: 539-549.
103. Ward SM, Xue C, Sanders KM.: Localization of nitric oxide synthase in canine ileocolonic and pyloric sphincters. *Cell Tissue Res* 1994; 275: 513-527.
104. Wester T, O'Briain DS, Puri P.: Notable postnatal alterations in the myenteric plexus of normal human bowel. *Gut* 1999; 44: 666-674.
105. Wildhaber BE, Coran AG, Drongowski RA, Hirschl RB, Geiger JD, Lelli JL, Teitelbaum DHJ.: The Kasai portoenterostomy for biliary atresia: A review of a 27-year experience with 81 patients. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 1480-1480.
106. Willets IE, Kite P, Barclay GR.: Endotoxin, cytokines and lipid peroxides in children with intussusception. *Br J Surg* 2001; 88: 878-883.
107. Wilmore DW.: Factors correlating with a successful outcome following extensive intestinal resection in newborn infants. *J Pediatr* 1972; 80: 88-95.
108. Yeh TS.: Mucosal intussusception to avoid ascending cholangitis. *Brit J Surg* 1990; 77: 984-991.
109. Young DG.: Intussusception. In: O'Neill JA (ed): *Pediatric Surgery*, Mosby, 1998. pp. 1185-1198.
110. Zurita M, Raurich JM, Ramirez A, Gil J, Darder J.: A new neovalve type in short bowel syndrome surgery. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 110-118.

9.2. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke

1. **Cserni T**, Pap Szekeres J, Furka I, Németh N, Józsa T, Mikó I.: Hydrostatic characteristics of the ileocolic valve and intussuscepted nipple valves: an animal model. J Invest Surg 2005; 18: 185-191. **IF: 0,857**
2. **Cserni T**, Magyar Á, Németh T, Paran ST, Csízy I, Józsa T.: Atresia of the ileocecal junction with agenesis of the ileocecal valve and vermiform appendix: report of a case. Surg Today 2006; 36: 1126-1128. **IF: 0,478**
3. **Cserni T**, Paran S, Puri P.: New hypothesis on the pathogenesis of ileocaecal intussusception. J Paediatr Surg 2006; (közlésre elfogadva) **IF: 1,125**

Impakt faktor: 2.46

9.3. Egyéb közlemények jegyzéke

1. **Cserni T**, Kiss A, Jozsa T, Szolosi Z, Nagy B.: Extralobar pulmonary sequestration in the right upper thoracic region. Respiration 2005; **IF: 1,299**
2. **Cserni T**, Jozsa T, Csizy I, Carr MC, Canning DA, Rushton HG: The danger of intraoperative antegrade cannulation of the ureter in infancy and early childhood. J Urol 2005; 173: 967-968. **IF: 3,592**
3. Pap-Szekeres J, Cserni G, Furka I, Svebis M, **Cserni T**, Brath E, Nemeth N, Miko I.: A new concept for esophageal resection-prevascularization: an experimental study. Dis Esophagus 2005; 18: 274-280. **IF: 0,936**
4. Pap-Szekeres J, Cserni G, Furka I, Svébis M, **Cserni T**, Bráth E, Németh N, Mikó I.: Extraabdominalisan átültetett cseplesz lebeny mikrocirkulációjának intraoperatív vizsgálata laser Doppler flowmetria segítségével kutyán. Magy Seb 2005; 58: 116-119.
5. Jozsa T, **Cserni T**, Szikszay E, Csizy I, Olah E.: Feter ex ore-a rare presenting symptom of a complete second branchial fistula. Clin Pediatr (Phila) 2004; 43: 473-474. **IF: 0,692**
6. Csízy I, Furka I, **Cserni T**, Józsa T, Oláh Cs, Pethő K, Németh N, Mikó I.: Szöveti mikrocirkulatio mérése kísérletes ureter-neoimplantatiók során. Orv Hetil 2003; 144: 129-132.
7. Pap-Szekeres J, Cserni G, Furka I, Svebis M, **Cserni T**, Bráth E, Németh N, Mikó I.: Transplantation and microsurgical anastomosis of free omental grafts: experimental animal model of a new operative technique in dogs. Microsurgery 2003; 23: 414-418. **IF: 0,711**

Impakt faktor: 7,23

Az in extenso publikációk kumulatív impakt faktora: 9,69

9.5. Az értekezés témájával kapcsolatos előadások

1. **Cserni T**, Pap Szekeres J, Furka I, Németh N, Józsa T, Mikó I.: Experimentelle Daten über die Antireflux-Klappen der Roux-Y-Anastomosen, die bei Kasaischen Operationen gebraucht werden. 7th Danube Symposium on Pediatric Surgery, 2001. Visegrád, Hungary
2. **Cserni T**, Pap Szekeres J, Furka I, Németh N, Józsa T, Mikó I.: Efficacy of different antireflux techniques in preventing cholangitis in biliary atresia using animal model., 15th International Paediatric Surgical Research, 2002. Graz, Austria
3. **Cserni T**, Pap Szekeres J, Furka I, Németh N., Józsa T., Mikó I.: Tiermodell für den Vergleich der Antireflux-Effektivität der verschiedenen hepatischen Portoenterostomien für Gallengangatresie. 27th Seminar of the Austrian Society for Surgical Research, 2003. Gosau, Austria
4. **Cserni T**, Sri Paran, Prem Puri.: New hypothesis on the pathogenesis of ileocecal intussusception. Congress of European Pediatric Surgical Association, 2006. Maastricht, Hollandia

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenek előtt köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőimnek *Prof. Dr. Mikó Irénnek* a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Sebészeti Műtéttani Tanszék vezetőjének és *Prof. Dr. Prem Purinak* a Children's Research Centre, Our Lady's Hospital for Children, University College Dublin, Ireland igazgatójának, akik nélkül sem kutató-, sem oktató munkát nem végezhettem volna. Nemcsak szakmai, hanem emberi támaszt is nyújtottak számomra, amit külön is köszönök.

Köszönettel tartozom *Prof. Dr. Furka Istvánnak*, aki az állatkísérletekkel kapcsolatos összes szükséges elméleti és gyakorlati ismerettel ellátott, s nem egyszer személyes segítséget nyújtott a műtéteim végzése közben.

Köszönöm *Dr. Kiss Ákos Leventének*, a BAZ Megyei Kórház Gyermekegészségügyi Központ Sebészeti Osztálya főorvosának, hogy elindította sebészi pályámat.

Hálás köszönettel tartozom *Prof. Dr. Oláh Évának* a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Gyermekklinika igazgatójának és *Dr. Csízy Istvánnak* a Gyermeksebészeti Osztály vezetőjének a sok szakmai és emberi segítséget, mellyel lehetővé tették számomra Ph. D. tanulmányaim végzését.

Köszönet illeti *Dr. Németh László* egyetemi docens urat, *Dr. Józsa Tamás* tanársegéd urat, *Dr. Pap-Szekeres József* főorvos urat szakmai-baráti segítségükért kutatómunkámban, s magánéletemben. *Dr. Sefcsik István* főállatorvos úrnak, *Dr. Németh Norbert* egyetemi adjunktus úrnak, *Bráth Endre* tanársegéd úrnak és *Dr. Pető Katalin* tanársegéd nőnek elméleti és gyakorlati ismereteim gyarapításában nyújtott segítségét köszönöm.

Munkám nem jöhetett volna létre a *Sebészeti Műtéttani Tanszék munkatársainak* szeretetteljes segítsége nélkül.

Végezetül hálámat fejezem ki *Szüleimnek*, *Feleségemnek*, *Gyermekeimnek*, türelmükért, a tanulmányaim során nyújtott lelki támogatásukért, mely nélkül minden bizonnyal kudarcot vallott volna a kutatómunkám.

11. MELLÉKLET

az értekezéshez felhasznált, megjelent *in extenso* közlemények másolatai

Hydrostatic Characteristics of the Ileocolic Valve and Intussuscepted Nipple Valves: An Animal Model

Tamás Csérni, MD

Department of Pediatric Surgery,
University of Debrecen Medical and
Health Science Center, Debrecen,
Nagyerdei krt, Hungary

József Pap Szekeres, MD

General Surgical Department,
Bács-Kiskun County Hospital,
Kecskemét, Hungary

**István Furka, MD, PhD, DSc,
and Norbert Németh, MD, PhD**

Department of Operative Techniques and
Surgical Research, University of Debrecen
Medical and Health Science Center,
Debrecen, Nagyerdei krt, Hungary

Tamás Józsa, MD

Department of Pediatric Surgery,
University of Debrecen Medical and
Health Science Center, Debrecen,
Nagyerdei krt, Hungary

Irén Mikó, MD, PhD

Department of Operative Techniques and
Surgical Research, University of Debrecen
Medical and Health Science Center,
Debrecen, Nagyerdei krt, Hungary

Received 28 September 2004;
accepted 7 April 2005.

Address correspondence to Tamás Csérni,
MD, Department of Pediatric Surgery,
Medical and Health Science Center,
University of Debrecen, Debrecen,
Nagyerdei krt. 98, Hungary.
E-mail: tcserni@yahoo.com

ABSTRACT The ileocolic valve, in the dog, decelerates the passage of stools and prevents fecal reflux. A loss of anterograde resistance worsens the symptoms of short bowel syndrome. The absence of fecal reflux control enhances the risk of recurrence of Crohn's disease. The aim of the present study was to examine what length of intussusception-like nipple valve (INV) should be constructed in order to restore the hydrostatic characteristics of the normal ileocecal valve. The anterograde and retrograde hydrostatic resistances of INVs of different lengths (4, 5, 6, or 7 cm) were compared with those of the normal ileocolic valve by using a contrast enema and x-ray monitoring in a canine model. It was found that the 4-cm-long INV may be sufficient to achieve an appropriate antireflux efficacy (59.60 ± 4.26 cm H₂O) versus the ileocolic valve (25.80 ± 4.92 cm H₂O), but this does not furnish an anterograde resistance comparable to that of the normal ileocolic valve (10.70 ± 1.15 cm H₂O vs. 21.60 ± 3.96 cm H₂O). We found that the appropriate length of the INV with which the anterograde resistance of the ileocolic valve could be attained in our model was between 6 and 7 cm. Thus, the shortest possible constructed INV should be effective in clinical conditions such as Crohn's disease, but the recommended length in short bowel syndrome should be greater than this.

KEYWORDS hydrostatic efficacy, ileocolic valve, intussusception-like nipple valve

The ileocecal valve plays a double role in the regulation of the passage of stools. It provides anterograde resistance and reflux control [1]. The loss of this valve for any surgical reason involves several adverse effects. Without adequate anterograde resistance, the accelerated

stool transport leads to diarrhea and (due to the decreased absorption time) steatorrhea, hypoalbuminemia, dehydration, and loss of minerals [2]. In the absence of reflux control, the stools with the accompanying colonic bacteria can reflux into the small bowel, this being associated with frequent inflammation of the ileal mucosa [3]. The disadvantages arising from an insufficient valve function are best demonstrated by the examples of short bowel syndrome and Crohn's disease. Accelerated stool transport worsens the symptoms of short bowel syndrome, while frequent inflammation of the ileal mucosa facilitates the possible recurrence of Crohn's disease [3, 4].

Replacement of a removed ileocecal valve with a surgically constructed intussusception-like nipple valve (INV) is recommended [3], particularly in Crohn's disease and short bowel syndrome patients, and its efficacy has been conclusively demonstrated [5–9]. For optimal substitution, the hydrostatic characteristics of the INV must be similar to those of the normal ileocecal valve.

The aim of the present study was to compare the hydrostatic parameters of the ileocolic valve and the INVs, and define the relationship between the hydrostatic features and the length of the INV in a canine model.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was approved by the Committee of Animal Research at the University of Debrecen (permission number 16/2000.DE MÁB). Mongrel dogs ($n = 5$, age 2–3 years, weight 15–20 kg) were subjected to study. The animals were kept under conventional circumstances in standard cages, were fed with commercially available mixed food, and had free access to water. Anesthesia was performed with a combination of ketamine (10 mg/kg, im) and xylazine (1 mg/kg, im) in multiple doses during the experiment (mean duration 112 min in each animal). Heart rate, blood pressure, and body temperature were continuously monitored as well.

After median laparotomy, a 150-cm length of intestine (jejunum and ileum) was dismembered into five 30-cm-long segments (conduits A, B, C, D, and E). A 15-cm-long segment of the terminal ileum (with

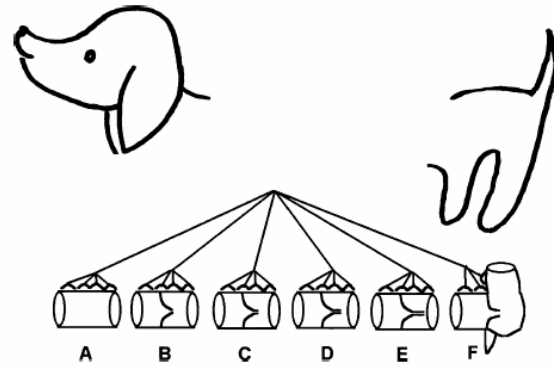


FIGURE 1 Intestine conduits equipped with INVs of various lengths.

the ileocolic valve) and a 15-cm-long colon segment were also isolated (conduit F). Conduit A, without a valve, with propulsive motility intact, was used as control. Conduits B, C, D, and E were equipped with stepwise-elongated INVs 4, 5, 6, and 7 cm long, in the middle of the 30-cm-long segment (Figure 1). The caliber and the thickness of the wall of the intestine were the same in all groups of conduits. The mesenteric blood supply and, by means of careful surgery, the peristaltic activity were preserved; 37°C saline was used to prevent the intestine from becoming cold.

INVs were constructed by inserting seromuscular stitches (using Ethibond 4/0 nonabsorbable material) around the intestine at equal distances. The intestine was telescoped into itself in the peristaltic direction and the threads were knotted (Figure 2). To determine the minimum and maximum length of the INVs used in the experiment we considered the following:

1. When a bowel segment x cm long is telescoped, the bowel wall is folded (doubled) into the lumen over a length of $x/2$ cm. To build a complete valve, the folded (doubled) bowel should acquire the size of the radius of the intestine tube; otherwise, the center of the valve will remain open (Figure 2). We found the mean diameter of the intestine tube in our canine model to be approximately 4 cm. To build a complete valve, an intestine segment at least 4 cm long was needed to telescope.
2. INVs with stepwise elongated length (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 cm) were created in a preliminary study to

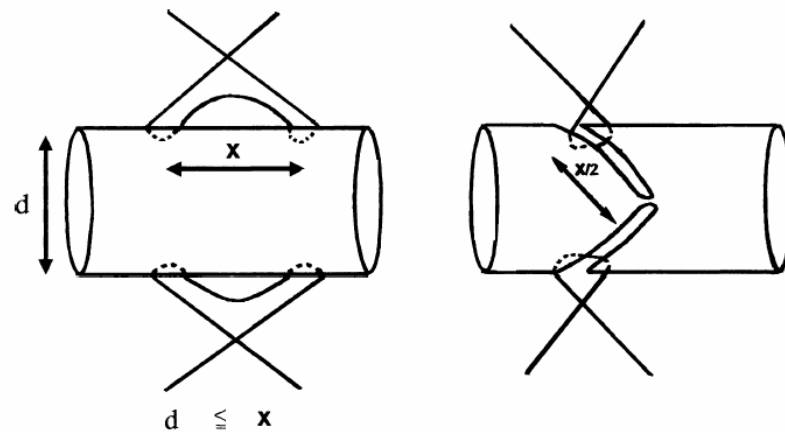


FIGURE 2 Creation of the INV.

observe the changes of the circulation of the intussuscepted bowel wall and to estimate the possible maximum length of intussusception. After 3 h the stitches were removed and each intussuscepted segment was examined. Thickening of the bowel wall and marked dark livid discoloration were observed on the invaginated bowel wall longer than 7 cm. Therefore no INVs were used in the conduits longer than 7 cm.

Foley balloon catheters (12 Ch) were fixed at both ends of the conduits. Customary equipment for infusion was connected to the ends of the catheters. The hydrostatic pressures at which the conduits were filled were measured continuously by using the principle of communicating vessels and are given as the differences in fluid levels. A centimeter scale was fixed on the tripod of the infusion equipment to measure the fluid levels. The zero point was at the level of the conduit. The hydrostatic pressures in the conduits were raised by slow elevation (5 cm/min) of the infusion equipment (elevation of the height of the filling fluid column). Continuous x-ray screening of the conduits was performed using an image intensifier during the experiment. The moment at which the contrast co-material emerged (anterograde) or broke through (retrograde) the valves was observed on the monitor. During the measurement, the conduit was dilated.

Gastrografin in 0.9% saline (dilution 1:2) was used as contrast material throughout the experiment. First

the anterograde filling was performed in one conduit; then the contrast fluid was washed out from the conduit by 0.9% saline using the Foley catheters fixed in both end of the conduit. The retrograde filling was subsequently carried out in the same conduit. At the end of the operation, the animals were euthanized with an overdose of the anesthetics.

For statistical analyses, SigmaStat 1.0 software (Jandel Scientific Co., Erkrath, Germany) and non-parametric tests were used. One-way RM analysis of variance (ANOVA) with the Student–Newman–Keuls test and the Mann–Whitney rank sum test was applied to compare the anterograde and retrograde resistance pressures in the different cases. Data are given as means \pm standard deviations (\pm SD). The level of statistical significance was set at $p < .05$.

RESULTS

In each INV group, the moment of opening was detected by direct x-ray observation; this was the moment when the contrast fluid overcame the resistance of the INV and started to fill the bowel segment behind it (Figure 3). The hydrostatic pressures that opened the different INVs were compared as measures of the efficacy of the antireflux valves (Figure 4).

Anterograde Filling

For conduit A (control), the anterograde filling occurred at a pressure of 9.66 ± 1.20 cm H₂O. In

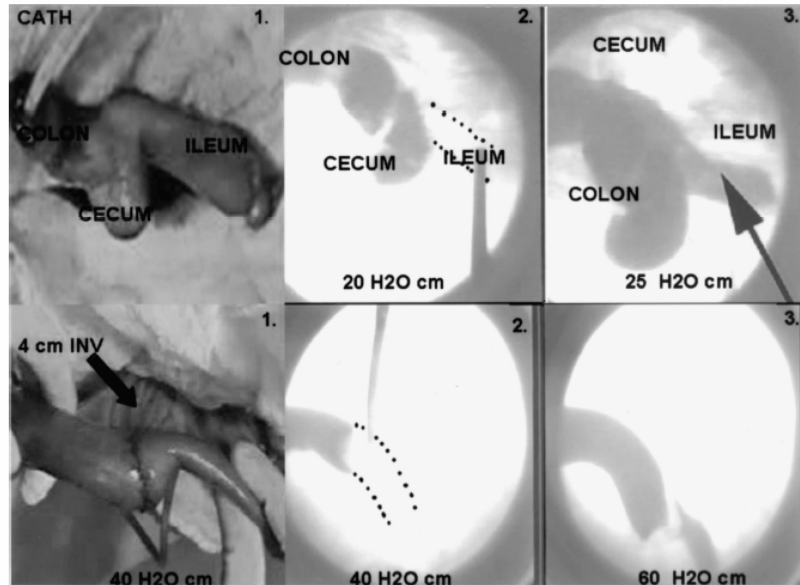


FIGURE 3 Upper: 1, Retrograde contrast filling of the ileocolic segment; 2, x-ray image of the ileocolic segment at 20 cm H₂O retrograde pressure; 3, x-ray image of the ileocolic segment at 25 cm H₂O retrograde pressure. Lower: 1, Retrograde contrast filling of the 4-cm-long INV; 2, x-ray image of the 4-cm-long INV at 40 cm H₂O retrograde pressure; 3, x-ray image of the 4-cm-long INV at 60 cm H₂O retrograde pressure.

conduit B, the contrast medium passed through the 4-cm-long INV at a pressure of 10.70 ± 1.15 cm H₂O. In conduit C, the 5-cm-long INV provided a pressure of 13 ± 0.95 cm H₂O. For conduit D, the 6-cm-long valve revealed a pressure of 15.04 ± 0.80 cm H₂O. In conduit E, the 7-cm-long INV opened only at a pressure of 29.24 ± 4.76 cm H₂O ($p < .001$ vs. the control). For conduit F, the contrast medium needed

a pressure of 21.60 ± 3.96 cm H₂O to pass through the ileocolic valve ($p < .001$ vs. the control).

Retrograde Filling

In the control conduit (conduit A), a hydrostatic pressure of 9.40 ± 1.59 cm H₂O was measured when the contrast fluid started to move in the

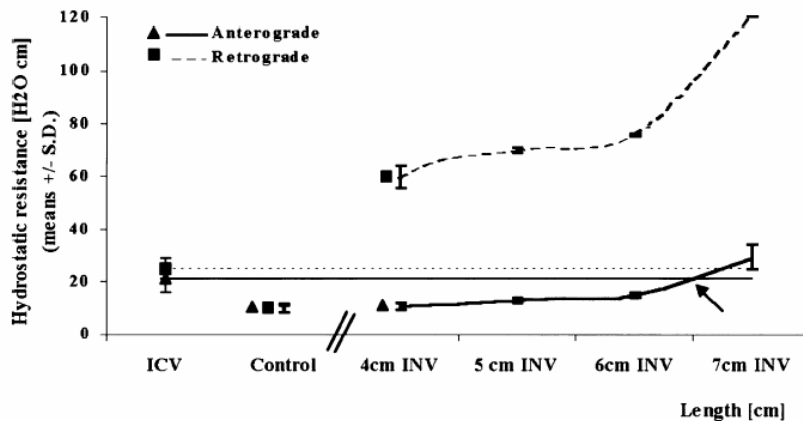


FIGURE 4 Comparison of the antegrade and retrograde pressure control of the valves. The arrow shows that the appropriate length of the INV with the antegrade resistance of the normal ileocecal valve is between 6 and 7 cm.

antiperistaltic direction and filled up the oral part of the bowel segment. In conduit B, the 4-cm-long INV broke at a pressure of 59.60 ± 4.26 cm H₂O ($p < .001$ vs. the control). For conduit C, the 5-cm-long INV broke at a pressure of 69.8 ± 0.97 cm H₂O. In conduit D, the 6-cm-long INV opened at a pressure of 75.5 ± 0.72 cm H₂O. For conduit E, a pressure of 120 cm H₂O was still not sufficient to break the 7-cm-long INV. In conduit F, the ileocolic valve broke at a pressure of 25.80 ± 4.92 cm H₂O ($p < .001$ vs. the control).

DISCUSSION

The canine model has been used previously in several studies to assess the benefit of the ileocecal valve replacement in human [5, 7–9]. The anatomy of ileocolic junction of the dog is very similar to the human ileocecal junction [10]. Isolated preparations of the ileocolic junctions in both species show a “high-pressure zone” with a pressure of 20–30 cm H₂O [11, 12], which correlates with our results. This “high-pressure zone” corresponds to the ileocecal sphincter in human and ileocolic sphincter in dog. The appearance of the valve shaped mucosal wings of the ileocecal and the ileocolic orifice is very similar (Figure 5).

The contraction of the sphincter and the mucosal wings of the orifice are responsible for anterograde resistance and reflux control in both species [12]. The *ileocecal/ileocolic inhibitory reflex* (ileal distension initiate the relaxation of the ileocolic sphincter and the cecum/colon, allowing the chyme to pass in the cecum/colon) and the *ceco/colo-ileal excitatory reflex* (the cecum/colon distension evokes the contraction of the sphincter and relaxation of the ileum, preventing ceco/colo-ileal reflux and allowing chyme to accumulate) work in both species the same way [11, 12]. Therefore, despite the mild anatomic difference, with the dog having an ileocolic sphincter, rather than ileocecal, and the cecum of the dog being described as an appendage or diverticulum rather than the initial part of the colon [10], we believe that an in vivo canine model is more suitable for studying the ileocecal valve replacement than human cadaveric specimen, in which these reflexes are not working.

INVs are used to improve the continence of the intestinal and urinary reservoirs, to prevent ascending cholangitis in portoenterostomies for biliary atresia patients, and for replacement of the ileocecal valve [13, 14]. A number of studies have been used to assess the function of these nipple valves regarding the hydrostatic antireflux efficacy, the microbiological

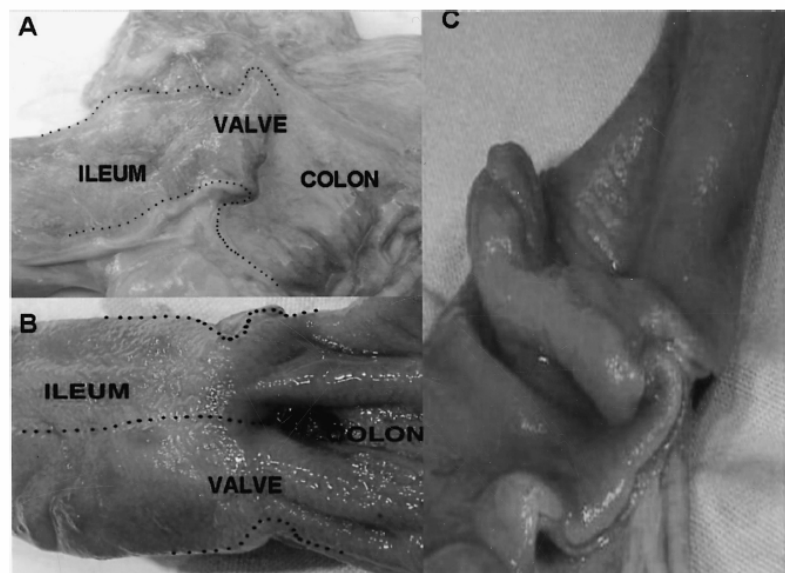


FIGURE 5 (A) Human ileocecal junction. (B) Ileocolic junction of the dog. (C) The 4-cm-long INV.

efficacy and the free antegrade passage [5–7]. The use of INVs after ileocolic resection in patients with Crohn's disease significantly delayed symptomatic and endoscopic neoleal recurrence [3]. The long-term (12 months) competence of substitutes of the ileocecal valve was checked in a canine model and a better bacteriological clearance of the ileum was confirmed relative the ileocolic end-to-end anastomosis [8].

No study appears to have been reported on the question of whether the INV provides adequate antegrade resistance, which is especially desirable in clinical conditions such as the short bowel syndrome of neonates. No particular data have been found on the relationship of the hydrostatic parameters and the length of the INV.

The following important aspects, which should be considered before the construction of an INV, were examined in our canine model:

1. The blood supply of the telescoped bowel segment diminishes during the intussusception due to the angulations of the mesenteric vessels. Signs of stasis were seen on the invaginated bowel wall longer than 7 cm in our model. The traction force of the long intussuscepted mesentery increases the risk of sliding complications [15]. Hence, creation of the shortest possible adequate valve is suggested.
2. The minimum effective length of the intussuscepted bowel segment should be estimated in each individual case (Figure 2).
3. It is desirable to provide an antegrade resistance that is sufficient. An antegrade resistance higher than that of the normal ileocecal valve not only delays the physiological transport, but also results in complications. The antegrade resistance of the ileocecal valve was compared with that of smallest possible INV. The smallest possible INV was found to be ineffective. Lengthening of the invaginated bowel segment resulted in an enhanced antegrade resistance. Our aim in that model was to set the INV efficacy at the level that of the ileocecal valve.

Other aspects, such as viscosity of the stool, sliding complications, and the compliance of the bowel wall, were not examined.

The viscosity of the Gastrografin–saline fluid mix (ratio 1:2) was standardized and was not compared with or adapted to that of the small bowel content, which is extremely variable (depending on the nature of the food, the amount of water drunk, etc.). It might well be that another fluid with a different viscosity would result in different absolute values in the measurements, but the differences between these values should lead to similar results and conclusions.

No biomechanical stabilization maneuver was performed. Sliding complications (such as the tendency of the intestine to desuscept because of traction forces on the mesentery of the nipple during the filling of the bowel behind the valve) are relatively common. Accordingly, various biomechanical stabilization procedures are used; this topic is still under investigation [8, 9, 15].

The dilation of the conduit acts as a buffer to a rise in pressure. The relaxation reflex of the bowel wall to rising intraluminal pressure is well known; it is used in rectal manometry for the diagnosis of Hirschsprung disease [16]. While the bowel is dilating, the wings of the valve move away and the valve opens. This is valid up to the point when the conduit is completely filled and the bowel wall loses its elasticity. Up to this point, the intraluminal pressure is nearly constant and low. This means that the opening of the valve is influenced by the intraluminal volume and the degree of dilation up to the point when the intraluminal pressure begins to rise. The control conduit was to be seen totally filled at 10 cm H₂O. Only a moderate difference was measured between the diameter of the control conduit at 10 cm H₂O and the diameter of conduit B (with a 4-cm-long INV) at a retrograde pressure of 60 cm H₂O. This suggests that the intraluminal volume and dilatation of the bowel wall play less important roles than pressure as concerns the moment of valve opening. We consider that the intraluminal pressure is an appropriate parameter with which to compare the efficacies of valves of different lengths.

A check on the hydrostatic properties of the INVs revealed a surprisingly high antireflux efficacy, in contrast with the low antegrade resistance. On the other hand, there was a moderate difference between the antegrade and the retrograde hydrostatic resistance of the ileocolic valve. The antegrade

resistance of the shortest (4-cm-long) INV did not attain that of the ileocolic valve. This finding could be explained with the different structure of the two valves. The INV has longer wings (Figure 5) but does not possess sphincter fibers (“high-pressure zone”), which should produce contraction in reaction to the increase of intraluminal pressure in the colon/cecum. It seems that its resistance originates rather from passive response. But the resistance of the ileocolic valve appears to come more from its active sphincter contraction than from its shorter passive valve wings [12]. We found that an INV length between 6 and 7 cm furnished the antero- grade resistance of the ileocolic valve in our model.

We concluded that the ileocolic sphincter cannot be replaced perfectly by INV, but by lengthening of the INV, higher passive antero- grade resistance could be achieved. The shortest possible INV can be used if the main goal in the surgery is to achieve antireflux efficacy, for example, in clinical conditions such as Crohn’s disease. In contrast, in short bowel syndrome, where the attainment of appropriately delayed physiological transport is important, the shortest INV will be insufficient. As the antero- grade resistance can be enhanced by lengthening the constructed INV, a longer INV should be used to restore the antero- grade resistance of the ileocecal valve, but without giving rise to an unsuitable rate of transport. Further investigations are needed to verify the long-term antero- grade competence of elongated INVs before their clinical application.

REFERENCES

1. Snell RS. The abdominal cavity. In: Snell RS, ed. *Clinical Anatomy for Medical Studies*, 5th ed. Boston: Little, Brown; 1995:183–244.
2. Quigley EM, Thompson JS. Effects of artificial ileocolonic sphincter on motility in intestinal remnant following subtotal small intestinal resection in the dog. *Dig Dis Sci*. 1994;39:1222–1229.
3. Bakkevold KE. Nipple valve anastomosis for preventing recurrence of Crohn disease in the neoterminal ileum after ileocolic resection. A prospective pilot study. *Scand J Gastroenterol*. 2000;35:293–299.
4. Selzner M, Isenberg J, Keller HW. Current status of surgical treatment of short bowel syndrome. *Zentralbl Chir*. 1996;121:1–7.
5. Ecker KW, Pistorius G, Harbauer G, Feifel G. Bacterial clearance of the terminal ileum in relation to the ileocolic connection. *Zentralbl Chir*. 1995;120:336–342.
6. Chardavoine R, Isenberg HD, Tindel M, Stein TA, Sampson-Scherer J, Wise L. Microbiologic efficacy of a surgically constructed nipple valve. *Am J Surg*. 1984;147:230–233.
7. Ecker KW, Pistorius G, Menger MD, Feifel G. Establishment of an immunocompetent nipple valve anastomosis to prevent faecal reflux after ileocolic resection in dogs. *Eur J Surg*. 2000;166:409–414.
8. Ecker KW, Pistorius G, Menger MD, Feifel G. Long-term function of experimental substitutes of the ileocecal valve. *Eur Surg Res*. 1997;29:75–83.
9. Ecker KW, Pistorius G, Harbauer G, Feifel G. An intestinal neosphincter attained by circumscribed muscle proliferation. Technical development and functional evaluation in the dog. *Langenbecks Arch Chir*. 1994;379:361–367.
10. *Miller’s Anatomy of the Dog*, Philadelphia. W. B. Saunders; 1979.
11. Hoffman R, Gomez R, Tanagho EA, McAnich JW. Motility and intraluminal pressure of the ileocolonic junctional zone and adjacent bowel in a canine model. *Urol Res*. 1993;21:329–332.
12. Shafik A, El-Sibai O, Shafik AA. Physiological assessment of the function of the ileocecal junction with evidence of ileocecal junction reflexes. *Med Sci Monit*. 2002;8:629–635.
13. Kock NG. Continent ileostomy. *Prog Surg*. 1973;12:180.
14. Lilly JR, Karver FM, Hall RJ. The surgery of biliary atresia. *Ann Surg*. 1989;210:289–296.
15. Ecker KW, Hildebrandt U, Haberer M, Feifel G. Biomechanical stabilization of the nipple valve in continent ileostomy. *Br J Surg*. 1996;83:1582–1585.
16. Scharli AF. The practical significance of manometry in pathology of the rectum and anorectum. *Prog Pediatr Surg*. 1989;24:142.

Case Report

Atresia of the Ileocecal Junction with Agenesis of the Ileocecal Valve and Vermiform Appendix: Report of a Case

TAMÁS CSERNI¹, ÁGNES MAGYAR¹, TAMÁS NÉMETH², THAMBIPILLAI SRI PARAN³, ISTVÁN CSÍZY¹, and TAMAS JÓZSA¹

Departments of ¹Pediatric Surgery and ²Pathology, Medical and Health Science Center, University of Debrecen, Nagyerdei krt. 98, 4012 Debrecen, Hungary

³Department of Paediatric Surgery, Our Lady's Hospital for Sick Children, Dublin, Ireland

Abstract

Intestinal atresia involving the ileocecal region is a very rare intestinal malformation, and the presence or absence of the ileocecal valve influences its surgical management. We report the case of a male newborn with a provisional diagnosis of distal ileal atresia, in whom laparotomy revealed that the entire ileocecal region was atretic with an absent ileocecal valve and appendix vermiformis. We resected the dilated terminal ileum together with the atretic segment and performed an ileocolic anastomosis between the terminal ileum and the transverse microcolon without valve reconstruction. When last seen, 8 months after the operation, the baby was developing normally. Ileocolic anastomosis without valve replacement appears to be sufficient if an ileocecal valve is completely absent and only a short segment of the terminal ileum is lost.

Key words Ileocecal atresia · Ileocecal valve agenesis · Ileocecal valve reconstruction

Introduction

Jejunioileal atresia occurs in 1:330 to 1:1 500 live births.¹ Although about one third of intestinal atresias are localized in the distal ileum, atresia of the ileocecal junction and atresia of the ileocecal valve are rare. To the best of our knowledge, only four such cases have been reported in the English-language medical literature.²⁻⁴ Agenesis of the vermiform appendix is also a rare condition, found in approximately 1 in 100 000 laparotomies performed for suspected acute appendicitis.⁵ Again, only a few cases have been reported in the English-language

medical literature.^{6,7} We report a case of intestinal atresia involving the entire ileocecal junction, with agenesis of the ileocecal valve and a vermiform appendix. We discuss the reasons for the decisions we made intraoperatively.

Case Report

A male neonate weighing 4200 g was born at 41 weeks' gestation by Cesarean section for breech presentation to a nulliparous, 25-year-old-woman with no remarkable family history. The prenatal ultrasound scan showed dilated intestinal loops, but no evidence of polyhydramnios. Abdominal distension with no passage of meconium was reported at 24 h. An erect plain film of the abdomen showed dilated loops of bowel with fluid levels on the right side and an absent bowel gas pattern in the lower abdomen (Fig. 1). A contrast enema showed microcolon up to the mid-transverse colon, with no passage of contrast beyond this point. Based on these findings we made a provisional diagnosis of terminal ileal atresia, and performed an emergency laparotomy. Laparotomy revealed that the distended terminal ileum was connected to the transverse microcolon with a 6-cm segment of bowel atrophic bowel (Fig. 2). No tenia coli or appendix was identified in this atrophic segment. We also noted a V-shaped defect in the mesentery supplying the ileocecal region.

We resected the grossly distended last 8 cm of distal ileum together with the 6-cm segment of atrophic intestine. After irrigating the lumen of the transverse colon with normal saline to exclude distal obstructions, we performed an end-to-oblique Dennis-Brown anastomosis. Closer examination of the mesentery and small bowel showed evidence of normal rotation. The baby had an uneventful postoperative course. He passed meconium on postoperative day 2 and commenced oral feeding on postoperative day 5. When last seen at his

Reprint requests to: T. Józsa
Received: November 2, 2005 / Accepted: May 16, 2006

8-month follow-up, he was developing well with height and weight within the 30th percentile.

Histopathological examination of the resected segments revealed complete absence of the ileocecal valve and a 1.5-mm deep blind sac on the tip of the atrophic bowel specimen. Microscopy showed evidence of an atrophic large bowel mucosa and the blind sac showed evidence of an atrophic appendix and lack of the tenia coli.



Fig. 1. Erect plain X-ray film of the abdomen showing dilated loops of bowel, fluid levels, and an absent bowel gas pattern in the lower abdomen

Discussion

Our review of the English-language medical literature revealed only four cases of atresia of the ileocecal junction.²⁻⁴ Ein et al.² and Cacciari et al.³ reported three cases of atresia of the ileocecal valve in which the ileocecal valve was not completely absent, but a common wall between the ileum and the cecum sealed the outlet of the valve. In these three infants the appendix was normal. Ein et al. resected the atretic segment and performed ileocolonic anastomosis without valve replacement. In contrast, Cacciari resected only the middle part of the atretic ileocaecal valve, followed by valve reconstruction. The fourth case, reported by Grassi et al.,⁴ was found in a 20-year-old, who had atresia of the ileocecal region and complete agenesis of the ileocecal valve. The presence or absence of the appendix was not mentioned in this report. This patient was also treated by resection and ileocolic anastomosis with no valve reconstruction, followed by a good long-term outcome.

Our patient had atresia of the ileocecal region with complete absence of the ileocecal valve and appendix, which is unlike any of the above four cases. We found 21 cases reported in PubMed of isolated agenesis of the appendix. The etiology of the congenital absence of the appendix is unknown, although it was often seen in babies whose mothers took thalidomide during pregnancy.⁸ There was no record of our patient's mother having taken any medication during pregnancy.

Clinical and experimental evidence suggests that ileal atresia could result from ischemic injury after the midgut has returned to the coelomic cavity.⁹ This and the V-shaped defect observed in the ileocecal mesentery of our patient led us to postulate that a vascular accident

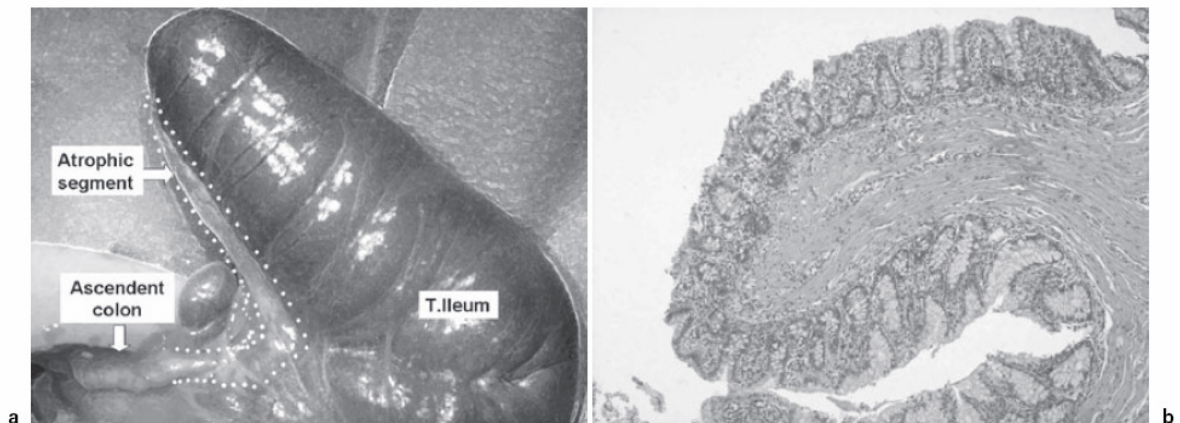


Fig. 2. a Intraoperative photograph showing the atrophic large bowel marked with *white dots*, and an absent appendix. b H&E-stained section of the resected intestine

causing ischemia of the entire ileocecal region may have resulted in the intestinal malformation.

Intraoperatively, the first difficulty we encountered was identifying the ileocecal junction in the absence of an identifiable vermiform appendix. The second difficulty was deciding how much bowel to resect. The necessity to preserve all viable native bowel in a newborn, even if it requires multiple anastomosis, has been highlighted in the past.¹⁰⁻¹² Although a lumen was palpable within the abnormal cecum and the colon ascendens was resected, because only a small segment of bowel was involved and the external appearance was grossly abnormal, we decided to remove the entire segment of bowel involved. The third difficulty was deciding whether to reconstruct the ileocecal valve.¹³ Since only about 14 cm of small bowel was lost we decided not to attempt reconstruction.

In summary, atresia of the ileocecal junction is an extremely rare finding; however, the presence or absence of the ileocecal valve influences the surgical management. Reconstruction of the ileocaecal valve is a valid alternative to intestinal resection when an abnormal ileocecal valve is present.³ Ileocolic anastomosis without valve replacement or reconstruction appears to be sufficient when the ileocecal valve is completely absent and only a short segment of terminal ileum is lost.

References

- Grosfeld JL. Jejunoileal atresia and stenosis. In: O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG, editors. *Pediatric surgery*. 5th ed. St. Louis: Mosby; 1998. p. 1145-58.
- Ein SH, Venugopal S, Mancor K. Ileocaecal atresia. *J Pediatr Surg* 1985;20:525-8.
- Cacciari A, Mordenti M, Ceccarelli PL, Ruggeri G. Ileocaecal valve atresia: our surgical approach. *Eur J Pediatr Surg* 2004;14: 435-9.
- Grassi R, Pinto A, Valente T, Rossi G, Catalano O, Rotondo A, et al. Massive enterolithiasis associated with ileal dysgenesis. *Br J Radiol* 1997;70:207-9.
- Lima M, Antonelli C, Aquino A, Domini M, Libri M, Centonze N, et al. Agenesis of the appendix vermiformis. *Pediatr Med Chir* 2003;25:370-2.
- Tilson MD, Touloukian RJ. Agenesis of the vermiform appendix. *J Pediatr Surg* 1972;7:74.
- Anyanwu SN. Agenesis of the appendix — case report. *West Afr J Med* 1994;13:66.
- Shand JE, Bremmer DN. Agenesis of the vermiform appendix in a thalidomide child. *Br J Surg* 1977;64:2003-4.
- Touloukian RJ. Intestinal atresia and stenosis. In: Ashcraft KW, Holder TM, editors. *Pediatric surgery*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1993 p. 305-19.
- Louw JH, Barnard CN. Congenital intestinal atresia: observations on its origin. *Lancet* 1955;2:1065.
- Hasegawa T, Sumimura J, Nose K, Sasaki T, Miki Y, Dezawa T. Congenital multiple intestinal atresia successfully treated with multiple anastomoses in a premature neonate: report of a case *Surg Today* 1996;26:849-51.
- Matsuo Y, Nezu R, Kubota A, Fukuzawa M, Imura K, Kamata S, et al. Massive small bowel resection in neonates—is weaning from parenteral nutrition the final goal? *Surg Today* 1992;22:40-5.
- Cserni T, Szekeres JP, Furka I, Nemeth N, Jozsa T, Miko I. Hydrostatic characteristics of the ileocolic valve and intussuscepted nipple valves: an animal model. *J Invest Surg* 2005;18: 185-91.

JOURNAL OF PEDIATRIC SURGERY

Jay L. Grosfeld M.D.

Editor-in-Chief

J. W. Riley Hospital for Children

702 Barnhill Drive – Suite 2500

Indianapolis, Indiana 46202

September 27, 2006

Professor Prem Puri
Children's Research Centre
Our Lady's Hospital for Children
University College Dublin
Crumlin, Dublin 12, Ireland

Dear Professor Puri:

I am pleased to inform you that your revised manuscript #06-340 titled “**New Hypothesis on the Pathogenesis of Ileocaecal Intussusception**” that was submitted to our editorial office by Dr. V. E. Boston has been accepted for publication in the *Journal of Pediatric Surgery*. The editors wish to thank you and your co-authors for submitting this manuscript to the *Journal*.

If you have any questions regarding publication of this manuscript, please refer to your manuscript identification number when contacting us. This number is different from that assigned by Dr. Boston's office. **Attached is a Copyright Release Form that must be signed and returned to my office by mail or fax.**

You will receive further information with regard to galley proofs and the exact issue in which your manuscript will appear as that determination is made. Thank you for your support of the *Journal*.

Very Sincerely Yours,
Jay L. Grosfeld M.D.
Editor-in-Chief

REVISED

NEW HYPOTHESIS ON THE PATHOGENESIS OF ILEOCAECAL INTUSSUSCEPTION

Tamas Cserni^{1,2}, Sri Paran¹, Prem Puri¹.

Children's Research Centre, Our Lady's Hospital for Children, University College Dublin, Ireland¹.

Pediatric Surgical Department, Medical Health Science Centre, University Of Debrecen, Hungary²

Communicating Author: Professor Prem Puri
Children's research Centre
Our Lady's Children's Hospital
Crumlin, Dublin 12
Ireland.
Fax: 0035314550201
Phone: 0035314096420
E-mail: prem.puri@ucd.ie

ABSTRACT

Purpose: Ileocaecal intussusception is a relatively common surgical emergency in infants and young children. The etiology of intussusception is not clearly understood. Nitric Oxide (NO) is a major inhibitory neurotransmitter in the enteric nervous system, which causes relaxation of the smooth muscles. In the Lipopolysaccharide induced experimental model of intussusception, altered intestinal motility is shown to be the result of increased NO released from various inflammatory mediators, which in turn leads to increased incidence of intussusception. The aim of this study was to examine the age related changes in the nitrergic innervation of the ileocaecal valve (ICV) in order to gain insights into the pathogenesis of intussusception.

Method: Whole-mount preparations of the myenteric plexus from ileum, ileocaecal valve and proximal colon were stained using NADPH diaphorase histochemistry in Newborn piglets (Nb) (n=3), 4 weeks old (4w) (n=3), 12 weeks old (12w) (n=3) and at adult pigs (n=3). Using light microscopy number of ganglia per cm², number of cells per ganglion and number of ganglion cells cm² were determined.

Results:

There were striking regional and age-related differences in nitrergic innervation of myenteric plexus. Density of nitrergic neurons was significantly higher in ICV compared to terminal ileum and proximal large bowel in the young animals (p<0.001).

Conclusion:

These findings suggest that the inflammatory reactions which usually precede intussusception may cause overproduction of NO by the nitrergically hyperinnervated ICV causing relaxation of the ICV and thereby facilitating ileocaecal intussusception.

INDEX WORDS:

Intussusception, nitrergic innervation, ileocaecal valve

INTRODUCTION

Intussusception is a relatively common surgical emergency in infants and young children with an incidence of 1-2 /1000 births. The peak incidence is between 5-10 months of age and it has been reported in young animals as well [1,2]. The etiology of intussusception in most infants remains unclear. Over 90% of the cases of ileocolic intussusception are idiopathic, without obvious leading point [3]. The role of the ileocaecal valve (ICV) in the pathogenesis of intussusception is not clearly understood, but the invagination usually begins in the distal ileum and progress through the ICV [1].

Primary intussusception appears in children simultaneously or following an upper respiratory tract viral infection or enteritis. Patients with intussusception have been reported to shed adenovirus, rotavirus, enterovirus or herpes simplex in their stools [4]. There is also evidence that intussusception may be associated with bacterial infection [5]. Intraperitoneal injection of bacterial lipopolysaccharides (LPS) has shown to induce intussusception in mice [6]. In the LPS induced experimental model of intussusception, altered intestinal motility is shown to be the result of increased release of Nitric Oxide (NO), which in turn leads to increased incidence of intussusception [7]. Regional difference in the density of nitrergic neurons in the myenteric plexus has been reported along the length and the circumference of the intestine [8]. There is no information available about the distribution of nitrergic neurons in the ICV. The aim of this study was to examine the age related changes in the nitrergic innervation of the ICV in order to gain insights into the pathogenesis of intussusception.

MATERIAL AND METHOD

Tissue sampling and whole-mount preparation

Specimens were taken from distal ileum, ileocaecal valve and proximal colon from newborn piglets (Nb) (n=3), 4 weeks old (4w) (n=3), 12 weeks old (12w) (n=3) and adult pigs (n=3). The animals were provided by the Institute of Experimental Clinical Research, Skejby Sygehus, University of Aarhus Denmark. The study was approved by the Danish authorities of animal protection, permission number 200601-068. The entire gastrointestinal tract was removed and subsequently fixed using perfusion fixation with 4% paraformaldehyde (PFA). Ileocaecal valves, 3-5 cm long segments of terminal ileum and proximal colon were removed and stored in PBS at 4 °C until needed.

Whole-mount preparation was carried out using fine pair of forceps and Leica dissecting microscope. Initially the bowel segment was opened along the antimesenteric border. Then the connective tissue overlying the serosa was carefully removed. Following this the specimen was turned over and the mucosa together with submucosa was peeled off the muscular layers. The circular muscle fibres were noted to be quite adherent to the region consisting the myenteric plexus. In order to avoid damaging the myenteric plexus during dissection, the samples were incubated with the staining solution after removing few of the circular muscle fibres. Once the myenteric plexus was partially visualised following initial NADPH-d staining, further dissection was carried out to remove all circular muscle fibres and the specimen was re-stained with NADPH-d solution.

Staining procedure

For NADPH-diaphorase (NADPH-d) histochemistry, the whole mount preparations were incubated in 1 mg/ml β -NADPH (Sigma), 0,25 mg/ml nitro-blue-tetrazolium, and 0.3% Triton-X in 0.05 mol/l Tris-HCL buffer (pH7.6) at 37 °C for 2h, and then left in staining solution at room temperature. Incubation was performed using free-floating technique on a 12-well cell culture dish.

After the desired staining intensity was achieved, specimens were washed in PBS for 15 min and then mounted on Polysine slides (BDH) using Glycergel mounting medium (Dakocytomation).

Microscopy and morphometry

Using light microscopy number of ganglia per cm^2 , number of cells per ganglion and number of ganglion cells cm^2 were determined. The counting was done using eyepiece graticule. Ganglia numbers were counted within an area of 0.5 cm^2 in the newborns, as the bowel specimen was not large enough to prepare 1 cm^2 segments. This count was then multiplied by factor of 4 to obtain the numbers per cm^2 . The size of the specimens was not a problem in the larger animals, and counting was performed in a minimum area of 1 cm^2 . Cell numbers per ganglion were counted in a minimum of 25 adjacent ganglia per specimen, and the average was taken. Ganglion cells per cm^2 were calculated by multiplying the mean number of cells per ganglion by the ganglia numbers per cm^2 . Results were entered into Microsoft Excel, and statistical analysis was performed using one-way Anova test.

RESULTS

The overall morphology of the myenteric plexus changed from a wide-open network within the terminal ileum to a more condensed network within the ICV in all age groups [Figure1]. The ICV contained significantly more nitrergic ganglia (2925 ± 196) and neurons (44290 ± 1489) per cm^2 than the terminal ileum (1332 ± 269 and 24379 ± 3026) in the newborn piglets. Similar differences were noted in all age groups but the differences were more marked within the newborn and 4 weeks old groups [table, figures 2 and 4]. There was no statistically significant differences noted in the number of ganglion cells per ganglion between the different regions of the bowel examined (15 ± 7 in ICV and 18 ± 11 in terminal ileum in the newborn group) [Figure 3].

Within each part of the bowel examined, the total number of nitrergic ganglion cells per cm^2 decreased with advancing age (44290 ± 1489 in the ICV at newborn age to 6443 ± 549 at adult

age). The rate of fall was highest between 4 and 12 weeks of age in all parts (37973 ± 3583 at 4 weeks to 13882 ± 2065 at 12 weeks in the ICV) [Figure 4]. After 12 weeks of age, the rate of decrease in cell numbers per cm^2 became less marked, but continued into adulthood.

DISCUSSION

The etiology of intussusception in the majority of infants remains unclear. The greater disproportion between the size of ileum and the ileocaecal valve in infants compared to that in older children has been suggested as a contributing factor for intussusception [9]. The popular theory at present suggests that there is a primary lymphoid hyperplasia in the distal small intestine secondary to infective agents, and that some of these enlarged lymphoid aggregates or hypertrophied Peyer's patches become entrapped in the intestine, serving as lead points for the intussusception [10]. However, in the Lipopolysaccharide induced animal model of intussusception none of the animals showed prominent mucosal lymphoid follicles, hypertrophied Peyer's patches or other pathologic process at the apex of the intussusception [6]. Grant et al studied 60 children with idiopathic intussusception and also found no pathological leading point in these children [11].

The role of increased intestinal peristalsis in intussusception has been observed in various studies. Gastrin injection enhanced peristalsis in animal model, and serum gastrin level in patients with intussusception was found higher than in controls [12]. Oral administration of Acetylcholinesterase inhibitor pyridostigmin caused increased peristalsis and diarrhoea in dogs, and lead to an increased incidence of intussusception [13].

Motility enhancing effect of NO has been observed in several studies in the past. For instance, the laxative magnesium sulphate is known to cause its effects through NO [14]. On the other hand, decreased neuronal NO function can result in aperistalsis and obstructive sphincters [15]. Increased NO level was measured in LPS model of intussusception. Both, local (colonic tissue) and systemic (plasma) NO levels were found to be high in rats following intraperitoneal LPS administration. Selective block of nitric oxide synthase (NOS) by N-nitro-L-arginine methyl

ester (L-NAME) prevented intussusception in this model [16,17], confirming that intussusception was secondary to the raised NO levels.

There are three isoforms of NOS: endothelial NOS (eNOS) and neuronal NOS (nNOS) normal constituents of cells and are Ca²⁺ dependent for activity; the third isoform inducible NOS (iNOS) is Ca²⁺ independent and is present in various cells including vascular endothelial cells and macrophages[18]. Inflammatory mediators (i.e. products of arachidonic acid cascade) excite the neurons of the myenteric plexus, the major local source of NO in the intestine. This excitement has been shown to increase NO production, by stimulating iNOS, locally and systemically [19,20].

Previous studies have shown that the number of myenteric nitrergic neurons in a given area of bowel increases in the caudal to rostral direction in the small intestine [21]. The markedly increased amount of myenteric neurons in the terminal ileum and the ICV identified in our study may explain why the intussusception develops mainly at the terminal ileum and progresses to involve the ileocaecal valve.

We hypothesise that the large number of myenteric neurons within the terminal ileum cause release of large quantity of NO in response to bacterial or viral infection, which in turn leads to initiation of intussusception within the terminal ileum due to impaired peristalsis. Progression of this intussusceptum may be facilitated by the significant relaxation of the ICV, caused by the release of large amount of NO by myenteric neurons.

Enteric neurons change their chemical coding and their number and density during development. Most quantitative studies examining the age-associated changes in the number of neurons in the myenteric plexus revealed significant decrease in neuronal density with advancing age [22-25]. This observation is consistent across species and appears to be region specific in the GI tract. Gabella (1987) studied developmental changes with whole mount preparations of small intestine of various animal models consisting of longitudinal muscle and myenteric plexus stained with nitro-blue-tetrazolium (NBT) for β -NADH reductase and determined that the population of neurons decreased by approximately one-half between the ages of 3 and 30 months [22]. In guinea pigs the spatial density as well as the total number of myenteric neurons was decreased in the small

intestine, a process that does not seem to depend solely on increased intestinal length and diameter throughout the adult life span [23]. Recently cuprolinic blue has been used to stain the myenteric plexus in rats at five time points between 3 and 27 months. This comprehensive study showed decreases of 20-30% in the duodenum, 15-20% in the jejunoileum, and 30-40% in the colon and rectum [24]. This study further illustrated that the neurodegeneration continues in an approximately linear fashion throughout the remainder of the animal's life. Wester et al has shown that this neurodegeneration is seen in the myenteric plexus during the first years of life in humans as well [25].

We have also found an age-related loss of nitrergic neurons within the myenteric plexus in both the terminal ileum and the ICV in this study. It is well documented that the incidence of intussusception is at its peak within the age group of 5-10 months in children, and within the very young animals [1]. This could be predicted by our above hypothesis, as the maximum numbers of nitrergic neurons are seen within the terminal ileum and ileocaecal valve between the newborn and 4 week old animals.

Acknowledgement: Institute of Experimental Clinical Research University of Aarhus, Denmark for providing tissue samples.

REFERENCES

1. Young D.G.: Intussusception, in: O'Neill JA: Pediatric Surgery, Mosby, 1998; pp 1185-1198.
2. Fortyn K, Hradecky J, Pazdera J, et al: Intestinal invagination in pigs. *Vet Med* 30: 173, 1985
3. Chung JL, Kong MS, Lin JN, et al: Intussusception in infants and children: risk factors leading to surgical reduction. *J Formos Med Assoc* 93: 481-5, 1994
4. Nicolas JC, Ingrand D, Fortier B, et al: A one-year virological survey of acute intussusception in childhood. *J Med Virol* 9: 267-71, 1982
5. Lopez EL, Devoto S, Woloj M, et al: Intussusception associated with *Escherichia coli* 0157:H7. *Pediatr Infect Dis J* 8: 471-3, 1989
6. Lin Z, Cohen P, Nissan A, et al: Bacterial wall lipopolysaccharide as a cause of Intussusception in mice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 27: 301-5, 1998
7. Nissan A, Zhang JM, Lin Z, et al: The contribution of inflammatory mediators and nitric oxide to lipopolysaccharide-induced intussusception in mice. *J Surg Res* 69: 205-7, 1997
8. Araujo EJ, Sant'Ana Dde M, Molinari SL, et al: Regional differences in the number and type of myenteric neurons in the descending colon of rats. *Arq Neuropsiquiatr* 61: 220-5, 2003

9. Shermann JO, Cosentino CM: Intussusception, in: Ashcraft Holder: Pediatric Surgery. 2nd edition, Philadelphia, W.B.Saunders Company, 1993;pp 416-420.
10. Bell TM, Steyn JH: Viruses in lymph nodes of children with mesenteric adenitis and intussusception. *Br Med J* 5306 :700-2,1962
11. Grant HW, Bucimazza I, Hadley GP: Comparison of colo-colic and ileocolic intussusception. *J Pediatr Surg* 31 :1607-10,1996
12. Jin X, Wu F, Lei P: The role of hypergastrinemia in the pathogenesis of intussusception in infants. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 34: 92-4, 1996
13. Kluwe WM, Page JG, Toft JD, et al: Pharmacological and toxicological evaluation of orally administered pyridostigmine in dogs. *Fundam Appl Toxicol* 14: 40-53, 1990
14. Izzo AA, Gaginella TS, Mascolo N, et al: Nitric oxide as a mediator of the laxative action of magnesium sulphate. *Br J Pharmacol* 113: 228-3, 1994
15. Hirakawa H, Kobayashi H, O'Briain DS, et al: Absence of NADPH-diaphorase activity in internal anal sphincter (IAS) achalasia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 20: 54-8, 1995
16. Wang P, Liu B, Ou H, et al: Nitric oxide synthase/nitric oxide pathway mediates intussusception pathogenesis in rats. *Chin Med J* 112: 1016-9, 1999
17. Turkyilmaz Z, Karabulut R, Gulen S, et al: Role of nitric oxide and cyclooxygenase pathway in lipopolysaccharide-induced intussusception. *Pediatr Surg Int* 20: 598-601, 2004
18. Takahashi T.: Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol* 8: 421-30, 2003
19. Hellström PM, Al-Saffar A, Ljung T et al.: Endotoxin actions on myoelectric activity,transit and neuropeptides in the gut role of nitric oxide. *Dig Dis Sci* 42:1640-1651, 1997
20. Rees DD, Celtek S, Palmer RMJ et al. Dexamethasone prevents the induction by endotoxin of nitric oxide synthase and the associated effects on vascular tone: an insight into endotoxin shock. *Biochem Biophys Res Commun* 173: 541-547, 1990
21. Bagyanszki M, Roman V, Fekete E. Quantitative distribution of NADPH-diaphorase-positive myenteric neurons in different segments of the developing chicken small intestine and colon. *Histochem J* 32: 679-84, 2000
22. Gabella G: The number of neurons in the small intestine of mice, guinea-pigs and sheep. *Neuroscience* 22: 737-752, 1987
23. Gabella G: Fall in number of myenteric neurons in aging guinea pigs. *Gastroenterology* 96: 1487-1493, 1989
24. Phillips RJ, Powley TL: As the gut ages: timetables for aging of innervation vary by organ in the Fischer 344 rat. *J Comp Neurol* 434: 358-377, 2001
25. Wester T, O'Briain DS, Puri P: Notable postnatal alterations in the myenteric plexus of normal human bowel. *Gut*. 44: 666-74,1999

FIGURE LEGENDS

Table:

The * shows the significant p value between the values of ileum and ICV ($P < 0.001$)

Figure 1:

NADPH-d staining of the myenteric plexus of ICV and terminal ileum in four different age groups
(40 x magnification)

Figure 2:

Number of ganglia/cm²

Figure 3: Number of cells /ganglion

Figure 4: Number of ganglion cells/cm²

	Age	Terminal Ileum	ICV	Proximal large bowel
ganglia /cm ²	Nb	1332 ± 269	2925 ± 196 *	1712 ± 51
	4w	813 ± 257	1491 ± 294 *	896 ± 51
	12w	337 ± 149	654 ± 159 *	143 ± 20
	Adult	54 ± 28	103 ± 24 *	75 ± 8
cells /ganglion	Nb	18,3 ± 11,25	15,14 ± 7,6	21 ± 7
	4w	23,46 ± 11,78	25,46 ± 12,15	36 ± 10
	12w	24,74 ± 11,41	21,22 ± 12,99	34 ± 15
	Adult	37 ± 14,9	62,32 ± 22,88	34 ± 15
ganglion cells /cm ²	Nb	24379 ± 3026	44290 ± 1489 *	35952 ± 357
	4w	19084 ± 3027	37973 ± 3583 *	32256 ± 510
	12w	8342 ± 1701	13882 ± 2065*	4862 ± 300
	Adult	1998 ± 418	6443 ± 549 *	2250 ± 120

*P<0.001

Table:

The * shows the significant p value between the values of ileum and ICV (P<0.001)

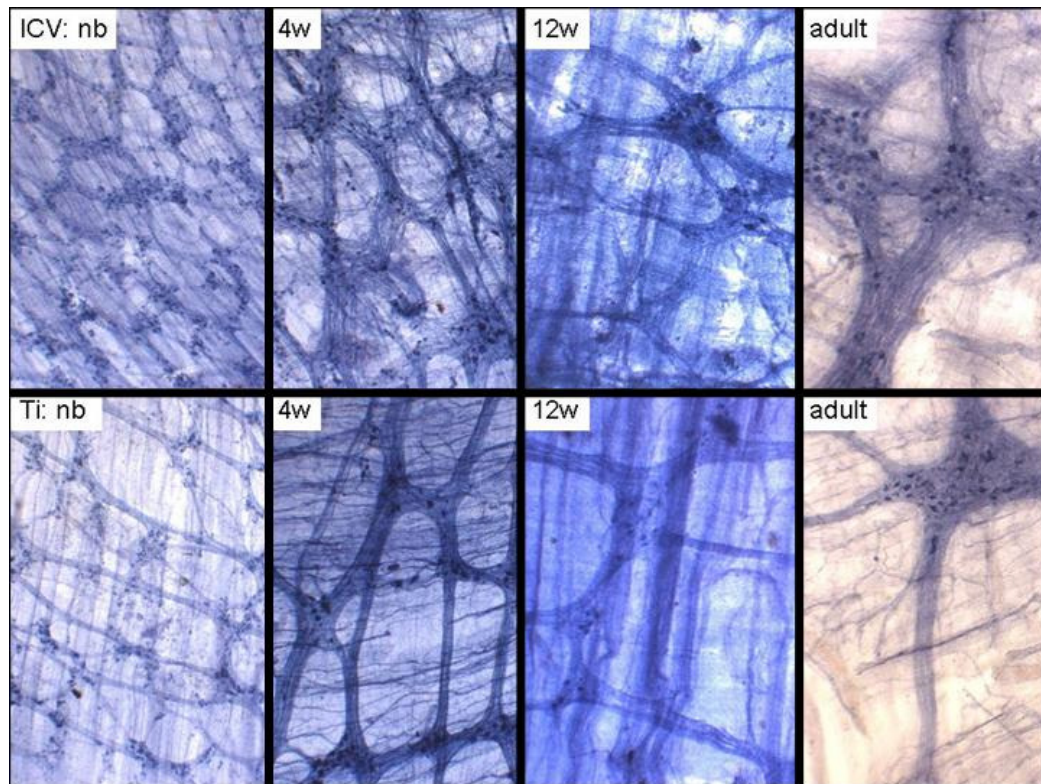


Figure 1: NADPH-d staining of the myenteric plexus of ICV and terminal ileum in four different age groups (40 x magnification)

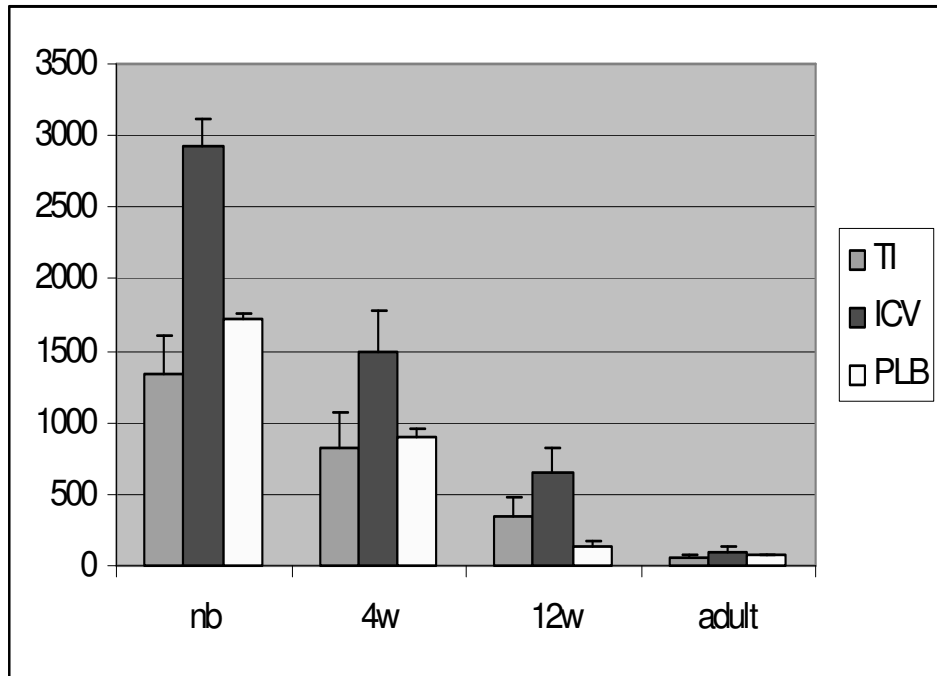


Figure 2: Number of ganglia/cm²

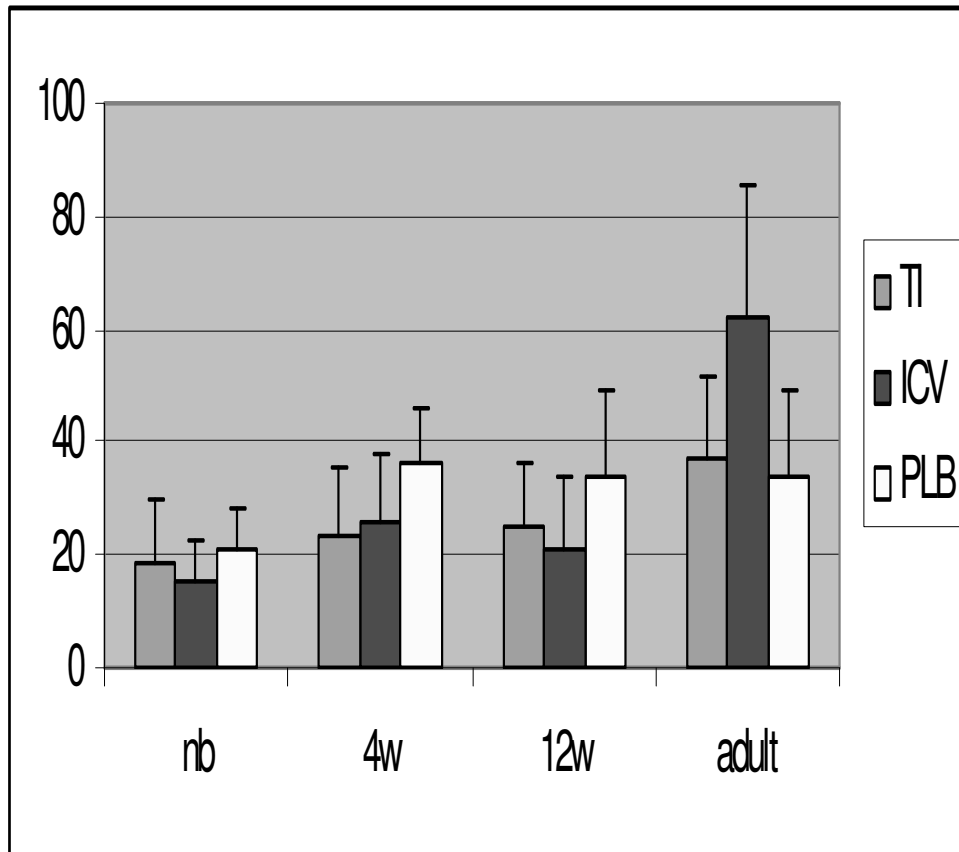


Figure 3: Number of cells /ganglion

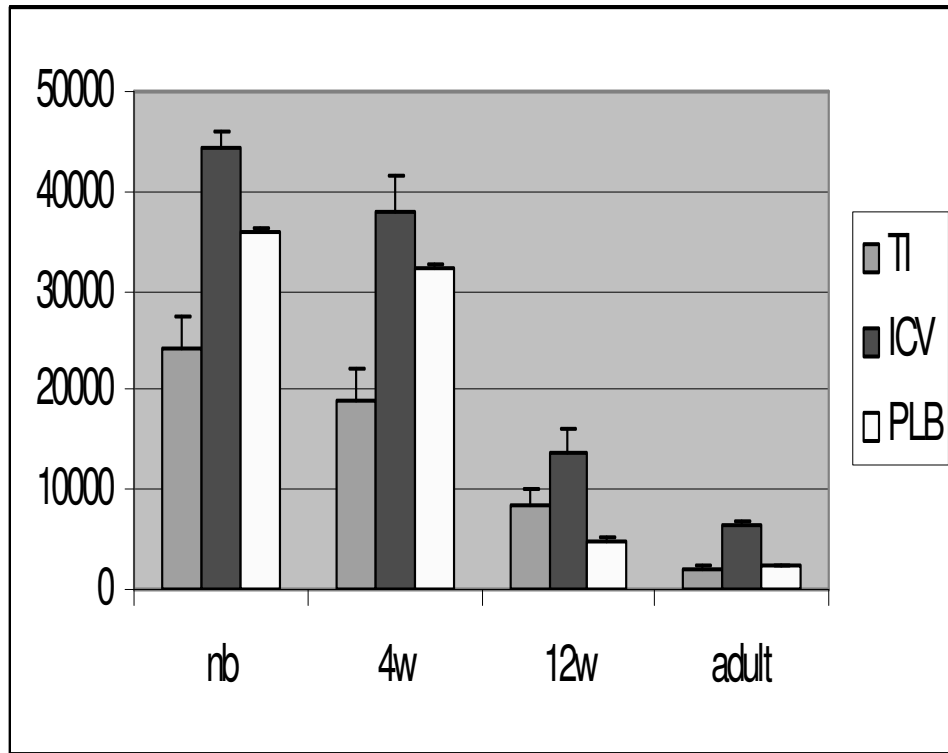


Figure 4: Number of ganglion cells/cm²