

**ORIGINALNI NAUČNI RADOVI**

**METODE ZAŠTITE EKSPERIMENTALNIH ANASTOMOZA  
NA KOLONU**

Goran STANOJEVIĆ, Dragojlo GMIJOVIĆ, Milan JOVANOVIĆ,  
Miroslav STOJANOVIĆ, Miomir PEŠIĆ i Milan VIŠNJIĆ

*Hirurška klinika Kliničkog centra u Nišu*

U radu su prikazani rezultati eksperimentalnog istraživanja na malim životinjama (pacovima), kojim je ispitivana efikasnost primene metoda zaštite za sprečavanje dehiscencija anastomoza kolona.

Istraživanje je sprovedeno na 90 eksperimentalnih životinja podeljenih u 3 grupe. od po 30. U kontrolnoj grupi (K grupa) rađena je segmentalna resekcija leve polovine kolona sa termino-tenninalnom anastomozom jednoslojnim produžnim šavom. U II grupi životinja rađena je zaštita anastomoze intraluminalnom aplikacijom latex proteze (L grupa) i u III grupi primenjena je aplikacija fibrinskog lepka - bioadhezi va (F grupa). Kompletna dehiscencija anastomoze kao uzrok mortaliteta u K grupi registrovana je u 3 (10%) slučajaja, a u L grupi 2 (6,6%) životinje. U F grupi nije bilo dehiscencije spojajom difuznog peritonitisa. Primenom zaštitnih metoda kod izvođenja anastomoza na kolonu postignuti su bolji rezultati koji su se ogledali u manjerr broju dehiscencija. Lokalnom primenom fibrinskog lepka ostvareni su najbolji rezultati jer je postignuta dobra mehanička zaštita i skraćuje se vreme zarastanja anastomoza na kolonu.

*Ključne reči:* anastomoze kolona, protektivna latex proteza, fibrinski lepak

**Uvod**

Oboljenja kolona savremene ljudske populacije karakteriše tendencija stalnog rasta. U najvećem broju slučajeva patoloških stanja na kolonu hirurška terapija je terapija izbora. Najčešće izvođenje operacije danas su resekcije različitih vrsta i opsežnosti: segmentalne kolektomije, desna i leva hemikolektomija, subtotalne i totalne kolektomije. Kada se radi o operacijama kod kojih se odstranjuju različiti delovi kolona, zbog patoloških lezija na njima uspostavljanje kontinuiteta gastrointestinalnog trakta vrši se izvođenjem različitih vrsta anastomoza. Izvođenje anastomoza je najvažniji deo hirurške intervencije a njihova kompleksnost je posledica specifičnih osobina kolona od kojih su najznačajniji: ograničena dužina (1,5-2 m), tanji crevni zid u odnosu na tanko crevo, postojanje retroperitonealnih delova bez seroze, specifična vaskularizacija i prisustvo bogate mešovite (aerobno-anaerobne)

mikrobiološke flore. Dehiscencije anastomoza, na retke i veoma opasne postoperativne komplikacije u gastrointestinalnoj hirurgiji iz ovih razloga znatno su češće kod hirurških intervencija na kolonu u odnosu na druge delove digestivnog trakta. Pored nesumnjivog napretka ostvarenog tokom zadnje dve decenije u hirurškoj tehnici, šavnom materijalu, preoperativnoj pripremi kolona, profilaktičkoj antibiotskoj terapiji, anesteziji i reanimaciji, još uvek perzistira nedozvoljivo visoka učestalost dehiscencija anastomoza kolona koje se kreću od 3 do 10% kod elektivnih a čak i do 30% kod urgentnih intervencija, praćenih velikim mortalitetom oko 25% (*Hoier-Madsen, 1975; Krivokapić, 1990; Petrović, 2000*).

Ovakvo stanje je razlog aktivnog istraživanja velikog broja kolorektalnih hirurga širom sveta na otkrivanju novih i efikasnijih metoda, tehnika i sredstava za sprečavanje dehiscencija.

Metode zaštite anastomoza na kolonu za vreme njihovog složenog biološkog procesa zarastanja odavno su iz ovih razloga bile i ostale predmet interesovanja velikog broja hirurga. Prvi podaci o njima nalaze se već u XI veku, kada je *Saliceto* iz Salerna ušivao rane na crevu preko intraluminalno aplikovanog gušćijeg grkljana. Usleduje primena endoluminalno apliciranog tubusa od trske u XVI i gumenog tubusa u XVIII veku od strane *Von Walther-a* (*Fraser, 1982*).

Od velikog broja različitih protektivnih metoda koje su bile u primeni u kolorektalnoj hirurgiji danas se najčešće i sa najboljim rezultatima primenjuje protektivna endoluminalna latex proteza i lokalna aplikacija fibrinskog lepka (bioadheziva). Prvu metodu, koja se još i naziva endoluminalni by-pass uveli su *Biagio Ravo* i *Ralph Ger* 1983. godine u cilju sprečavanja neposrednog kontakta fecesa sa anastomozom tokom njenog procesa zarastanja (*Ravo, 1984*).

Dругu metodu u obliku lokalne primene fibrinskog lepka, koji je biološki hemostatski i adhezivni agens počeli su da primenjuju od 1978. godine *Matras, Spangler, Scheele*, aplicirajući ga lokalno preko kolorektalnih anastomoza (*Scheele, 1978*).

Od mnogobrojnih eksperimentalnih i prospektivnih kliničkih studija koje su u toku očekuje se odgovor o pravoj vrednosti ovih dveju metoda. Zbog aktuelnog značaja ovog problema mi smo se opredelili da kroz naše eksperimentalno istraživanje utvrdimo da li se primenom ispitivanih lokalnih protektivnih metoda za sprečavanje popuštanja anastomoza na kolonu mogu ostvariti bolji rezultati u obliku manjeg broja dehiscencija u odnosu na kontrolnu grupu i da li postoje prednosti jedne u odnosu na drugu metodu.

## **Materijali i metode**

Eksperimentalno istraživanje obavljeno je na Medicinskom fakultetu u Nišu, Odseku za eksperimentalnu hirurgiju Centra za biomedicinska istraživanja, u Institutu za fiziologiju i Biohemijskoj laboratoriji Kliničkog centra u Nišu, tokom 1998. i 1999. godine.

Kao eksperimentalne životinje korišćeni su pacovi Wister soja težine od 350 do 490 g. Poštovani su principi o zaštiti životinja po propisima i zakonu.

Sve životinje su operisane u opštoj anesteziji. Premedikacija se sastojala iz aplikacije Atropina i Bensedina u dozi od 0,2 mg/100 g telesne težine, intramuskularno. Opšta anestezija, u trajanju od 30-60 minuta, izvedena je davanjem Ketalara, u dozi od 8 mg/100 g telesne težine, intraperitonealno.

Sve operacije su izvedene bez preoperativne pripreme kolona. Trbušna duplja je otvarana gornjom i donjom medijalnom incizijom u dužini od oko 4 cm. Nakon eksploracije trbušne duplje na levoj polovini kolona 3-4 cm iznad peritonealne refleksije izvedena je parcijalna resekcija, uz prethodno podvezivanje paraintestinalne arkade sa odstranjivanjem kolona u dužini od 1,5 do 2 cm. Posle odstranjivanja segmenta kolona kontinuitet creva je ponovo uspostavljen izvođenjem termino-terminalne anastomoze na 3 načina zbog čega su životinje podeljene u 3 grupe.

### *I. Kontrolna grupa*

U ovoj grupi životinja nakon izvedene parcijalne resekcije kolona izvedena je termino-terminalna (T-T) anastomoza jednoslojnim produžnim invertirajućim šavom, sporesorbujućim sintetskim materijalom (6-0, 7-0).

### *II. Grupa životinja sa primenom protektivne latex proteze*

Kod izvođenja termino-terminalnih anastomoza primenjivana je latex proteza cilindričnog oblika, dužine 15-20 mm, promera 7-8 mm, pravljen u latex hirurških rukavica ("prsti")-

Nakon izvedene resekcije kolona proksimalni kraj creva je evertiran u dužini od 8 mm, za koji je ušivena slobodna ivica evertiranog dela latex proteze za mukozu i submukozu zida kolona, produžnim šavom, sporesorbujućim koncem (6-0,7-0). Evertirani deo kolona je vraćen u normalnu poziciju posle čega je napravljen zadnji zid, jednoslojnim invertirajućim šavom, koristeći sporesorbujući sintetski materijal, a zatim se ušije prednji zid anastomoze na identičan način, uz prethodno ubacivanje latex proteze u distalni deo kolona.

### *III. Grupa životinja sa primenom fibrinskog lepka*

Posle identičnog operativnog postupka primenjenog u prethodne dve grupe eksperimentalnih životinja na izvedenu anastomozu aplikovan je fibrinski lepak, Beriplast P. Behring.

Pripreman je na sledeći način:

Fibrinski lepak je izložen sobnoj temperaturi, sadržaj bočice 2 (rastvor aprotinina) je prenošen pomoću sterilnog šprica za jednokratnu upotrebu, u bočicu 1 (fibrinogen-suva supstanca). Sadržaj se blago mućka dok se liofilizat ne rastvori. Rastvor je nakon nekoliko minuta spreman za upotrebu.

Priprema rastvora kalcijum trombina izvodi se izvlačenjem 1 ml sadržaja iz bočice 4 (kalcijum hlorid) i prenošenjem u bočicu 3. Zatim se sadržaj mućka dok se u potpunosti ne rastvori. Pomoću tuberkulinskog šprica (sa plavom skalom) izvlači se sadržaj iz bočice 1, a pomocu tuberkulinskog šprica (sa crvenom skalom) izvlači se sadržaj iz bočice 3.

Pripremljen Beriplast P uz pomoć "Pantaject" sistema aplikuje se prvo na zadnji zid anastomoze (na suhu površinu) u količini od 0,3 do 0,5 ml. Nakon aplikacije sačeka se 2-3 min. da se formira adhezivni, po izgledu "pihtijasti" sloj lepka. Identičan postupak se ponavlja i za prednji zid.

Posle operacije eksperimentalne životinje stavljane su u specijalne kaveze (po jedna), gde im je bila dostupna hrana i voda od i postoperativnog dana, uobičajena za tu vrstu životinja.

Sve do planiranog žrtvovanja životinje su pažljivo klinički praćene (do 21 dan). Kontrolisano je opšte stanje životinja, njihovo ponašanje i eventualne promene (odbijanje hrane i vode), izgled operativne rane, javljanje crevne peristaltike i prve stolice.

Po 6 životinja iz sve tri grupe žrtvovane su III, V, VII i XIII postoperativnog dana. Bezbolno su žrtvovane posle premedikacije i uz primenu opšte anestezije.

Pregled organa trbušne duplje i izvedene anastomoze vršen je pomoću incizije u obliku obrnutog slova "U", kojom se omogućava podizanje prednjeg trbušnog zida. Pri pregledu trbušne duplje obraćena je posebna pažnja na makroskopski izgled anastomoze, postoperativne adhezije i zapaljenske promene na peritoneumu.

Određivanje pritiska pucanja (PPKA) i napona pucanja (NPZKA) zida kolona vršeni su odmah nakon žrtvovanja životinja, u sve tri grupe.

Merenja PPKA vršena su u Institutu za fiziologiju Medicinskog fakulteta u Nišu. Tom prilikom je korišćen aparat fiziograf (PHYSIOGRAPH-six E and M Instrument Co. Inc. Houston Texas A Narco Company) koji se sastoji iz sistema za automatsko uduvavanje vazduha i dela za grafičko registrovanje postignutih pritiska. Iz dobijenih krivulja postignutih pritisaka izračunavaju se vrednosti PPKA u mmHg, uz pomoć standardne krive dobijene postizanjem pritiska od 100 mm Hg (visina krivulje odgovara visini 4 standardna kvadratića).

Određivanje koncentracije kolagena vršeno je indirektno preko kvantitativnog određivanja L-hydroxy-prolina u zidu kolona na mestu anastomoze. Uzimanje uzoraka za određivanje koncentracije kolagena obavljeno je nakon merenja PPKA, III, V, VII i XIII dana.

Histomorfološka analiza tkiva iz područja anastomoze obavljena je pomoću svetlosne i skening elektronske mikroskopije. Svetlosna mikroskopija rađena je klasičnim metodama bojenja tkiva hematoksilin eozinom

(H&E) i PAS, kao i specijalnim metodama za bojenje fibrina (po Weigert-u), elastičnih vlakana (Weiger-ov rezorcin fuksin) i kolagena (trihromno bojenje Masson). Skening elektronska mikroskopija rađena je fiksiranjem komadića tkiva u 4% gluteraldehidu 48 sati na +4 stepena Celzijusa a zatim je vršena postfiksacija u 1% OsO<sub>4</sub> u trajanju od 60 minuta. Nakon izvršene fiksacije, tkivo je dehidrirano u rastućim koncentracijama etanola a zatim u rastućim koncentracijama acetona u etanolu (od 30%, 50%, 75%, 95% i 100%). Nakon sušenja uzorci su presvučeni slojem zlata u jonskom raspršivaču i analizovani na skening elektronskom mikroskopu "JEOL" JSM-5300.

Kvantitativno dobijene vrednosti sređene su u vidu grafikona. Za testiranje srednjih vrednosti razlika i razlika pojedinih frekvencija primenjavani su statistički testovi a pre svega: Student-ov t-test i Fischer-ov test egzaktne verovatnoće nulte hipoteze.

## Rezultati

Rezultati eksperimentalne studije analizirani su upoređivanjem sledećih parametara:

### *Postoperativne komplikacije*

Najveću incidencu obolevanja pokazuju pacovi iz K grupe, gde je obolelo 10 ili 33,3%. Gotovo istu incidencu od 30% pokazuju pacovi iz L grupe, tako da razlika od 3,3% u korist K grupe nije statistički signifikantna. Najmanju incidencu postoperativnih komplikacija pokazuje F grupa (13,3%). Dominantan uzrok postoperativnih komplikacija kod sve tri grupe bila je infekcija operativne rane. Intraabdominalne priraslice, su naročito zastupljene kod K grupe i njihova zastupljenost od 40%, skoro je dva puta veća od zastupljenosti kod ostale dve grupe. Parcijalna dehiscencija anastomoze je zastupljena kod sve tri grupe i to kod K i F sa po jednim slučajem, a kod L sa dva slučaja. Posebno treba uočiti da je u L grupi bilo prisutno po 11 % mezocelijačnih apscesa i intraluminalnog krvarenja. Komparacija postoperativnih komplikacija među grupama pokazuje da je incidenca obolevanja kod F grupe značajno manja u odnosu na incidencu obolevanja K grupe. Razlika je statistički signifikantna za nivo  $p < 0,1$ . Relevantni rizik (R. R.) za ove dve grupe iznosi 2,53 što znači da je rizik obolevanja kod K grupe 2,53 puta veći nego kod F grupe. U istom smislu govori i vrednost unakrsnog odnosa (O. R.=3,25).

Razlika između incidenci obolevanja kod L i F grupe i pored toga što je incidenca kod L grupe za 20% veća, nisu statistički signifikantne ( $p > 0,05$ ). Međutim, vrednosti R. R. i O. R. pokazuju da je rizik obolevanja kod L grupe 2 puta veći nego kod F grupe.

### *Mortalitet*

Od 90 eksperimentom obuhvaćenih životinja u postoperativnom periodu uginulo je 10 ili 11,1%. Najveći mortalitet je u K grupi gde je uginulo 6 životinja ili 20%, zatim sledi L grupa sa 4 uginule životinje ili 13,3%, treba uočiti da u F grupi nije došlo do uginuća nijedne od eksperimentalnih životinja. Ileus i peritonitisi se javljaju kao uzrok mortaliteta u podjednakom broju u odnosu na ukupan broj životinja u grupama K i L, sa tom razlikom što se peritonitis kao posledica dehiscencije anastomoze kod grupe K javio u intervalu od II do IV dana, a kod grupe sa latex protezom V dana. Ileus u L grupi se javio V i VII dana i to u vidu fekalne opstrukcije na mestu implantirane proteze. Kod kontrolne grupe ileus se javio u intervalu između XII i XIII dana. Nekroza zida creva na mestu ušivene latex proteze javila se II postoperativnog dana.

Treba istaći da Fischer-ovim testom egzaktno verovatnoće kod F grupe u odnosu na mortalitet K grupa pokazuje statistički signifikantnu razliku za  $p < 0,05$  (Fischer:  $p=0,024 < 0,05$ ). Takođe, F grupa pokazuje razliku u odnosu na L grupu, međutim, Fischer-ov test ne pokazuje značajnost razlike (Fischer:  $p=0,112 > 0,05$ ).

### *Pritisak pucanja kolona sa anastomezoma*

Pritisak pucanja segmenta kolona je iskazan u mmHg.

Visina vrednosti pritiska je u direktnoj korelaciji sa protokom vremena. Maksimum je dostignut XIII postoperativnog dana. III postoperativnog dana sve tri grupe pokazuju najniže vrednosti pritiska, ali vrednost sukcesivno raste od kontrolne ( $X = 99,17$ ), preko L grupe ( $X = 129,67$ ), do najveće vrednosti kod F grupe ( $X = 140,8$ ).

Razlika između proseka L i K grupe je statistički signifikantna za nivo  $p < 0,05$ . Naročito je izražena razlika između prosečnog pritiska kod F i K grupe. Razlika je statistički signifikantna za  $p < 0,01$ . Razlika između proseka pritiska kod F i K grupe, su statistički signifikantne u svim postoperativnim danima. Najveća je V postoperativnog dana, kada je razlika statistički signifikantna za nivo  $p < 0,001$  (diferencija 49,3 mmHg).

Razlika između L i K grupe su takođe statistički signifikantne sem kod VII dana, gde razlika od 12,7 mmHg u korist L grupe nije statistički signifikantna.

Razlika između prosečnog pritiska F i L grupe, statistički je jedino signifikantna V postoperativnog dana. Ako se posmatraju grupe u celini, odnosno prosečni pritisak za ukupne grupe od  $n = 24$ , razlika je jedino signifikantna između F i K grupe. Razlika od 32,5 mmHg u korist F grupe je statistički signifikantna za  $p < 0,05$ .

### *Mortalitet*

Od 90 eksperimentom obuhvaćenih životinja u postoperativnom periodu uginulo je 10 ili 11,1%. Najveći mortalitet je u K grupi gde je uginulo 6 životinja ili 20%, zatim sledi L grupa sa 4 uginule životinje ili 13,3%, treba uočiti da u F grupi nije došlo do uginuća nijedne od eksperimentalnih životinja. Ileus i peritonitisi se javljaju kao uzrok mortaliteta u podjednakom broju u odnosu na ukupan broj životinja u grupama K i L, sa tom razlikom što se peritonitis kao posledica dehiscencije anastomoze kod grupe K javio u intervalu od II do IV dana, a kod grupe sa latex protezom V dana. Ileus u L grupi se javio V i VII dana i to u vidu fekalne opstrukcije na mestu implantirane proteze. Kod kontrolne grupe ileus se javio u intervalu između XII i XIII dana. Nekroza zida creva na mestu ušivene latex proteze javila se II postoperativnog dana.

Treba istaći da Fischer-ovim testom egzaktne verovatnoće kod F grupe u odnosu na mortalitet K grupa pokazuje statistički signifikantnu razliku za  $p < 0,05$  (Fischer:  $p=0,024 < 0,05$ ). Takođe, F grupa pokazuje razliku u odnosu na L grupu, međutim, Fischer-ov test ne pokazuje značajnost razlike (Fischer:  $p=0,112 > 0,05$ ).

### *Pritisak pucanja kolona sa anastomozoma*

Pritisak pucanja segmenta kolona je iskazan u mmHg.

Visina vrednosti pritiska je u direktnoj korelaciji sa protokom vremena. Maksimum je dostignut XIII postoperativnog dana. III postoperativnog dana sve tri grupe pokazuju najniže vrednosti pritiska, ali vrednost sukcesivno raste od kontrolne ( $X = 99,17$ ), preko L grupe ( $X = 129,67$ ), do najveće vrednosti kod F grupe ( $X = 140,8$ ).

Razlika između proseka L i K grupe je statistički signifikantna za nivo  $p < 0,05$ . Naročito je izražena razlika između prosečnog pritiska kod F i K grupe. Razlika je statistički signifikantna za  $p < 0,01$ . Razlika između proseka pritiska kod F i K grupe, su statistički signifikantne u svim postoperativnim danima. Najveća je V postoperativnog dana, kada je razlika statistički signifikantna za nivo  $p < 0,001$  (diferencija 49,3 mmHg).

Razlika između L i K grupe su takođe statistički signifikantne sem kod VII dana, gde razlika od 12,7 mmHg u korist L grupe nije statistički signifikantna.

Razlika između prosečnog pritiska F i L grupe, statistički je jedino signifikantna V postoperativnog dana. Ako se posmatraju grupe u celini, odnosno prosečni pritisak za ukupne grupe od  $n = 24$ , razlika je jedino signifikantna između F i K grupe. Razlika od 32,5 mmHg u korist F grupe je statistički signifikantna za  $p < 0,05$ .

NPZKA posle III dana raste i kod F i kod L grupe, ali sa tom razlikom što kod F grupe V dana dostiže 2,1 a kod L grupe 1,7 jed. i razlikom od 0,39 jed. (dyne/cm) koja je statistički signifikantna za  $p < 0,01$ . Najveća razlika između F i K grupe uočava se V dana, kada je razlika signifikantna za nivo  $p < 0,01$ . Razlika je značajna i u VIII u XIII danu za nivo  $p < 0,05$ . NPZKA u K grupi ni u jednom danu ne dostiže vrednosti NPZKA u L grupi, ali razlike nisu pokazale statističku značajnost sem u III postoperativnom danu ( $p < 0,001$ ) (tabela 1).

Tabela 1. Prosečne vrednosti NPZKA po grupama i danima (dyne/cm)

Dani	Grupe			
	n	K $X \pm SD$	L $X \pm SD$	F $X \pm SD$
III	6	1,12 $\pm$ 0,25	1,50 10,12	1,47 $\pm$ 0,16
V	6	1,53 10,19	1,72 $\pm$ 0,15	2,11 $\pm$ 0,14
VII	6	2,10 + 0,12	2,18 $\pm$ 0,12	2,30 $\pm$ 0,10
XIII	6	2,40 $\pm$ 0,16	2,60 $\pm$ 0,22	2,70 $\pm$ 0,19
Svega	24	1,80 $\pm$ 0,53	2,00 $\pm$ 0,43	2,15 $\pm$ 0,45

NPZKA - Napon pucanja zida kolona sa anastomozom

n - broj eksperimentalnih životinja

K - Kontrolna grupa eksperimentalnih životinja

L - Grupa sa primenjenom latex protezom

F - Grupa sa primenjenim fibrinskim lepkom

X - Srednja vrednost

SD - Standardna devijacija

III, V, VII, XIII - postoperativni dani

Dyne/cm - din po centimetru

#### *Količina kolagena na mestu anastomoze*

Najveće vrednosti hidroksiprolina, na mestu anastomoze i to u svim postoperativnim danima utvrđeni su u grupi sa fibrinskim lepkom. Već III postoperativnog dana vrednosti hidroksiprolina dostižu 20,5 mg/g, što je iznad nivoa neoperisanog kolona (20,04 mg/g), a za 8,77 mg/g veće od vrednosti hidroksiprolina u L grupi, odnosno za 4,69 mg/g veće od vrednosti hidroksiprolina u grupi. Razlike su statistički signifikantne za nivo značajnosti od  $p < 0,001$ .

Vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze pokazuju najveću prosečnu vrednost u F grupi V postoperativnog dana 27,9 mg/g što je za 8,5 mg/g veće od vrednosti za neoperisan kolon, 12,29 mg/g od proseka za grupu sa latex protezom i 9,76 mg/g od proseka za K grupu. Sve tri razlike su visoko statistički signifikantne za  $p < 0,001$ .



Prosečne vrednosti za sve dane kao i za 24 eksperimentalne životinje u F grupi iznosio je 24,19 mg/g i bio je za: 7,66 mg/g veći od istog proseka u L grupi, za 6,6 mg/g od proseka u K grupi i za 4,15 mg/g tkiva vrednosti za neoperisan kolon. I ove razlike su statistički signifikantne za  $p < 0,001$ . Vrednosti hidroksiprolina u L i K grupi imaju, ne samo značajno manje vrednosti od hidroksiprolina u F grupi, već i potpuno različiti tok rasta. Do VII postoperativnog dana postoje značajno manje vrednosti hidroksiprolina u L grupi u odnosu na K grupu - $p < 0,01$  za III postoperativni dan i  $p < 0,001$  za V postoperativni dan. VII i XIII dana vrednosti hidroksiprolina u L grupi postaju veće u odnosu na K grupu ali bez statističke značajnosti ( $p > 0,05$ ) (tabela 2).

*Tabela 2.* Prosečne vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze po grupama i danima (mg/g)

Dani	Grupe		
	F X $\pm$ SD	L X $\pm$ SD	K X $\pm$ SD
III	20,54 $\pm$ 0,94	11,77 $\pm$ 0,73	15,85 $\pm$ 2,57
V	27,92 $\pm$ 4,15	15,63 $\pm$ 0,46	18,16 $\pm$ 1,31
VII	23,25 $\pm$ 1,95	18,70 $\pm$ 0,89	18,51 $\pm$ 0,79
XIII	25,04 $\pm$ 1,74	20,05 $\pm$ 0,92	19,59 $\pm$ 0,80
za uzorak n = 24	24,19 $\pm$ 3,60	16,53 $\pm$ 3,25	18,03 $\pm$ 2,01

n - broj eksperimentalnih životinja

K - Kontrolna grupa eksperimentalnih životinja

L - Grupa sa primenjenom latex protezom

F - Grupa sa primenjenim fibrinskim lepkom

X - Srednja vrednost

SD - Standardna devijacija

III, V, VII, XIII - postoperativni dani

mg/g - miligram na gram tkiva hidroksiprolina

### *Histomoifološka analiza uzoraka izvedene anastomoze kolona*

Petog postoperativnog dana u K grupi može se zapaziti prisustvo velikog broja polimorfonuklearnih leukocita, a u L grupi još uvek se zapaža prisustvo defekta. U F grupi uočava se daleko manje neutrofilnih leukocita a broj mladih krvnih sudova koji se formiraju u toku nastanka granulacionog tkiva je bio znatno veći. Vidljivo je i postojanje mladog kolagena na mestu anastomoze. XIII postoperativnog dana u kontrolnoj grupi životinja se posmatra prisustvo granulacionog tkiva sa dosta polimorfonuklearnih leukocita, u L grupi defekt sluzokože sveden je na uzanu pukotinu uz prisustvo granulocitne infiltracije i traka vezivnog tkiva, a u F grupi je evidentno postojanje dobro razvijenog granulacionog tkiva sa brojnim mladim krvnim sudovima. Sken-

ing elektronskom mikroskopijom V postoperativnog dana u F grupi zapažaju se grupisana u vidu snopova različita vlakna - fibrinska, elastična i kolagena, koja u potpunosti ispunjavaju mesto anastomoze, za razliku od L grupe gde defekt još uvek nije ispunjen tkivnim infiltratom, mada se na nekim mestima može videti manji broj vlakana koji u vidu mostova premošćuju ivice anastomoze, kao i oskudna ćelijska reakcija.

## Diskusija

Problem bezbednog izvođenja anastomoza na kolonu još uvek je aktuelan. Najznačajnija i najčešća komplikacija kod izvođenja hirurških intervencija je dehiscencija anastomoze. Ona je još uvek najčešći uzrok postoperativnih komplikacija i mortaliteta. Prema podacima iz literature učestalost klinički manifestnih oblika dehiscencije u elektivnim hirurškim zahvatima se kreće do 10%, a u urgentnim do 30% (*Anderson i Lee*, 1981). Pojava subkliničkih ili radiološki manifestnih dehiscencija registruje se u oko 40% na kolonu i 69% slučajeva na rektumu (*Goligher i sar.*, 1970; *Kontić*, 1994).

Iz ovog razloga mnogobrojni su pokušaji primene lokalnih protektivnih mera na anastomozi kolona u cilju ostvarivanja boljih rezultata. U žiži interesovanja savremene hirurgije kolona nalaze se različite metode primene lokalnih protektivnih mera kao što su intraluminalne proteze, stentovi i bioadhezivni agensi.

Analiza uzroka najčešćih postoperativnih komplikacija i mortaliteta jasno ukazuje na prednost primene fibrinskog lepka (znatno manja pojava postoperativnih komplikacija i bez pojave postoperativnog mortaliteta). Sa druge strane, uočljive su daleko veće postoperativne komplikacije i mortalitet kod grupa sa aplikacijom latex proteze.

Određivanje mehaničke snage anastomoze kolona vršeno je pomoću vrednosti PPKA i NPZKA. Od ove dve navedene metode, NPZKA izražava najpribližnije osobine fiziološkog stanja creva, što su konstatovali *Nelson i Anders* 1996. godine. NPZKA označava cirkularnu tenziju u tački ruptуре, koja se izračunava posebnom formulom izvedenom iz La Place-ovog zakona (*Nelsen i Anders*, 1966). Od tada se NPZKA koristi kao sigurnija metoda određivanja sile pucanja creva.

Adhezivna moć fibrinskog lepka, uslovljena pre svega količinom prisutnog fibrinogena, dostiže vrhunac u kritičkom periodu zarastanja anastomoze, odnosno od V do VII postoperativnog dana. Biološka kompatibilnost supstace i mogućnost direktnog uticaja intraluminalnog sadržaja na anastomozu sa jedne strane, kao i snaga istezanja i adhezivna mod fibrinskog lepka sa druge strane, povećavaju silu pucanja anastomoze u kritičnom periodu zarastanja. Intraluminalni sadržaj kolona pored svog već dokazanog negativnog dejstva pokazuje i neke pozitivne uticaje na proces zarastanja

anastomoze. Izgleda da feces (ili mukozna sekrecija kolona) može da stimuliše sintezu kolagena i proteina rastezanjem zida creva i stimulacijom bakterijskih toksina (*Krivokapić*, 1990). To potvrđuje i činjenica da nakon ispadanja proteze (od V do VIII dana) dolazi do povećanja vrednosti PPKA i NPZKA u grupi životinja sa primenjenom latex protezom.

Iz tog razloga se u slučaju diverzije putem rasteretne kolostome javlja redukcija sinteze kolagena u izolovanom distalnom delu kolona, što se manifestuje pojavom dehiscencije anastomoze u 5 - 20% slučajeva (*Blomquist* sar., 1985).

Određivanje kolagena u zidu kolona vršeno je preko određivanja količine hidroksiprolina u mg/g 10% homogenata tkiva creva. U tkivima kičmenjaka hidroksiprolin se skoro isključivo nalazi u kolagenu, čineći 14% njegove ukupne težine. Na osnovu ove jedinstvene distribucije hidroksiprolina moguće ga je koristiti kao dobar marker za proučavanje metabolizma kolagena (*Jiborn*, i sar., 1980; *Mastboom* i sar., 1989).

Najveće količine hidroksiprolina, na mestu anastomoze u svim postoperativnim danima registrovane su u grupi sa fibrinskim lepkom.

Smanjeno stvaranje kolagena u svim segmentima kolona je naročito izraženo kod primene endoluminalne proteze (*Krivokapić*, 1990; *Hunt* i sar., 1980). Upotrebom endoluminalne proteze dolazi do još većeg suženja lumena creva sa izraženijim proksimalnim zastojem i jačom kolagenolitičkom aktivnošću. Novija saznanja o uticaju citokina na proces zarastanja rana ukazuju da primena latex - endoluminalne proteze verovatno remeti normalno odvijanje peristaltičnih talasa creva i konsekvantni poremećaj u vaskularizaciji odgovarajućeg segmenta kolona što za posledicu ima prisustvo manje količine odgovarajućih faktora rasta (PDGF, TGF<sub>p</sub>, MDGF i druge) (*Amenta* i sar., 1996). Dokaz ovim tvrdnjama je i činjenica da nakon izbacivanja proteze (V - VII dan) dolazi do skoka vrednosti kolagena u svim segmentima izolovanog kolona pacova.

Imajući u vidu naše rezultate istraživanja i podatke iz literature može se utvrditi da se primenom fibrinskog lepka ostvaruje znatno veća koncentracija kolagena po svim segmentima izolovanog kolona pacova, što omogućava bolje i sigurnije zarastanje anastomoze. Adhezivni efekat omogućuje mehanički kontakt okrajaka creva, a biološki obezbeđuje bolju produkciju endogeno stvorenog kolagena što dokazuje i histološko ispitivanje. U našem istraživanju već III dana na mestu anastomoze koncentracija kolagena prevazilazi koncentraciju neoperisanog kolona i značajno je veća od koncentracije kolagena u K i L grupi. Apsolutno najveću vrednost hidroksiprolina u odnosu na sve tri grupe i na sve delove izolovanog segmenta kolona pacova pokazuje F grupa V dana. To potvrđuju i merenja mehaničke snage anastomoze (PPKA, NPZK) u kojima se najveća i statistički značajna razlika vrednosti F i L grupe ostvaruje V dana u korist F grupe. Ipak, kontinuirani porast vrednosti

PPKA i NPZKA ne prate vrednosti hidroksiprolina, što je i konstatacija istraživanja drugih autora (*Hunt i sar.*, 1980; *AC van der Ham i sar.*, 1992; *Cronin i sar.*, 1968; *Irvin*, 1981). Verovatno da sila pucanja izolovanog segmenta kolona zavisi ne samo od koncentracije kolagena već i od rasporeda kolagenih fibrila, tipa kolagenih vlakana, prisustva elastina, adhezivnih glikoproteina i ostalih komponenti ekstracelularnog matriksa (*Jonsson i Hogstorm*, 1992).

Analiza histoloških uzoraka zida kolona ukazuje da se proces zarastanja anastomoze odvija u sve tri grupe različitim intenzitetom i dinamikom nastajanja promena.

Upadljive razlike se mogu zapaziti među ispitivanim grupama u histološkom pogledu tek nakon V dana. U F grupi posle V dana zapaža se pojava prvih kolagenih vlakana (nezreli kolagen), što se može protumačiti izmenom sastava čelijskog infiltrata koji postaje sve više mononuklearan (limfociti, makrofagalne ćelije, fibroblasti i fibrociti), a što je praćeno produkcijom prvog kolagena od strane mononuklearnih ćelija. Ovo je posledica postojećeg fibrina u vidu lepka koji stimulatorno deluje na bržu proliferaciju mononuklearnih ćelija. Ovaj histološki nalaz je u korelaciji sa rezultatima određivanja mehaničkih parametara jačine anastomoze (PPKA, NPZKA) i količine kolagena u zidu kolona.

U K grupi, kao što rezultat pokazuje, zapaljenski infiltrat je i dalje obilan, sastavljen pretežno od polimorfonuklearnih ćelija. Skening elektronskom mikroskopijom uočava se defekt na mestu anastomoze i odsustvo veće količine vlakana - fibrinskih elastičnih i kolagenih.

U grupi sa latex protezom V dana postoji defekt u zidu anastomoze, inflamatorna reakcija je manje izražena nego u K grupi, ali je po sastavu vrlo slična njoj. Uočava se oskudno prisustvo čelijske infiltracije, fibrinskih kolagenih vlakana.

Analizom naših rezultata i rezultata pomenutih autora uočava se da primena fibrinskog lepka deluje stimulatorno na proliferativni odgovor obezbeđujući uslove za izmenu kvaliteta čelijske infiltracije u smislu pojave veće količine mononuklearnih ćelija. Latex proteza obezbeđuje kvantitativno manji i sporiji biološki efekat u procesu zarastanja koji se manifestuje sledecim karakteristikama: umerenom inflamatomom reakcijom u mukozi, neznatnim čelijsko-proliferativnim odgovorom u intersticijumu, sporijim stvaranjem vezivno-tkivnog kalusa na mestu izvedene anastomoze.

Ranije uspostavljena faza fibroplazije u grupi sa fibrinskim lepkom ukazuje da egzogeno aplikovan fibrin verovatno stimuliše funkciju pojedinih citokina (PDGF, TGF $\beta$ , MDGF) u njihovoj regulaciji procesa zarastanja (*Cristensen*, 1990; *Parson*, 1996). Za razliku od fibrinskog lepka, defekt u zidu anastomoze u grupi sa latex protezom i posle V postoperativnog dana, ukazuje da se primenom ove vrste mehaničke zaštite anastomoze "kritičan period" zarastanja produžava.

## Zaključak

Primenom metoda zaštite kod izvođenja anastomoza na kolonu mogu se postići bolji rezultati koji se ogledaju u manjem broju dehiscencija. Primenom fibrinskog lepka ostvaruju se najbolji rezultati jer se postiže dobra mehanička zaštita, zatim skraćuje vreme zarastanja anastomoze zbog izraženih bioloških dejstava fibrinogena tokom procesa zarastanja rane. Primenom latex proteze postižu se slabiji rezultati u odnosu na primenu fibrinskog lepka što se manifestuje većim brojem nastalih dehiscencija. Bez obzira na mehaničku zaštitu anastomoze kolona latex proteza se ponaša kao strano telo u lumenu creva i utiče na pojavu komplikacija crevne peristaltike i vaskularizacije segmenta kolona. Primena fibrinskog lepka je jednostavnija procedura u odnosu na ugradnju latex proteze.

## Literatura

*A. C. van der Ham, Kort, W. J., Weijma, I. M., Van deningh, H. F. G. M. and Jeekel, J.* (1992). Influence of Fibrin Sealant and Fibrin Sealant-Antibiotic Combination on the Healing of Colonic Anastomosis in the Rat. Influence of Fibrin Sealant, 86-98.

*Amenta, P. S., Martinez-Hernandez, A. and Treslad, R. L.* (1996). Repair and Regeneration, in: Damjanov, L, Linder, J., and Mosby L., editors. Anderson's Pathology. St. Louis-Weisbaden, 416-448.

*Anderson, J. R. and Lee, D.* (1981). The management of acute sygmoid volvulus. *Br. J. Surg.*, 68, 117-20.

*Blomquist, H., Jiborn, H. and Zederfeld, B.* (1985). Effect of diverting colostomy on collagen in the colonic wall. *Am. J. Surg.*, 149, 330-333.

*Christensen, H.* (1990). Growth hormone increases the bursting strenght of colonic anastomoses. An experimental study in the rat. *Int. J. Colorectal. Dis.*, 5, 130-134.

*Cronin, K.,Jekson, D. and Dunphy, J. E.* (1968). Changing bursting strenght and collagen content on the healing colon. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 126, 747-753.

*Fraser, I.* (1982). An historical perspective on mechanical aids in intestinal anastomosis. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 755, 566-574.

*Goligher, J. C, Graham, N. G. and DeDombal, F. T.* (1970). Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br. J. Surg.*, 57,109-118.

*Hoier-Madsen, K., Bech-Hansen, J. and Lindenburg, J.* (1975). Anastomotic leakage following resection for cancer of the colon and rectum. *Acta. Chir. Scand.*, 141, 304-309.

*Hunt, T. K., Hawley, P. R. and Hale, J.* (1980). Colon repair: the collagenous equilibrium in wound healing and wound infection, in: Hunt TK editor. Wound healing and wound infection: Theory and Surgical Practice. New-York: Appleton-Century-Crofts, 153-159.

*Irvin, T. T.* (1981). Wound Healing: Principle and Practice. Champman-Hall. London.

*Jiborn, H., Ahonen, J. and Zederfeldt, B.* (1980). Healing of Experimental Colonic Anastomoses IV. Effect of Suture Technique on Collagen Metabolism in the Colonic Wall. *Am. J. Surg.*, 139, 398-405.

*Jiborn, H., Ahonen, J. and Zederfeldt, B. (1978). Healing of Experimental Colonic Anastomoses. I. Bursting strenght of the Colon after Left Colon Resection and Anastomosis. Am. J. Surg., 136, 587-594.*

*Jonsson, T. and Hogstrom, H. (1992). Effect of future technique on early healing of intestinal anastomosis in rats. Eur. Surg., 158, 267-270.*

*Kontić, M. (1994). Šav u hirurgiji kolona, Acta Chir. Yugosl., Suppl. 2, 253-255.*

*Krivokapić, Z. (1990). Mere prevencije popuštanja anastomoze na debelom crevu. Naučna knjiga. Beograd.*

*Mastboom, W. J. B., Hendriks, T. and de Boer, H. H. M. (1989). Collagen changes around intestinal anastomoses in germ-free rats. Br. J. Surg., 76, 797-801.*

*Nelsen, T. S. and Anders, C. J. (1996). Dynamic aspects of small intestinal rupture with special consideration of anastomotic strenght. Arch. Surg., 93,309-316.*

*Parsons, M. A. (1996). Disorders of growth, differentiation and morphogeneses, in: Undrewood JCE, editor. General and Systemic Pathology. Churchill Livingstone. New York - Tokyo, 79-111.*

*Petrović, B., Todorović, B., Kocić, B. i Cvetković, M. (2000). Osnovne epidemiološke karakteristike malignih tumora kolorektalne regije u opštini Niš u periodu od 1986. do 1997. godine. Acta Facultatis Medicae Naissensis, 3-4, 169-176.*

*Ravo, B. and Ger, R. (1984). A preliminary report on the intracolonic bypass as an alternative to a temporary colostomy. Surg. Gynecol. Obstet., 159, 541-545.*

*Scheele, J., Herzog, J. and Muhe, E. (1978). Fibrin glue protection of digestive anastomosis. Z. B. L. Chirurgie, 154, 49-52.*

## **METHODES DE LA PROTECTION DES ANASTOMOSES EXPERIMENTAL^ SUR LE COLON**

Goran STANOJEVIĆ, Dragojlo GMIJOVIĆ, Milan JOVANOVIĆ,  
Miroslav STOJANOVIĆ, Miomir PEŠIĆ et Milan VIŠNJIC

*Clinique chirurgicale du Centre clinique de Niš*

Dans leur travail les auteurs presentent les resultatis de leur recherche experimentale sur les petits animaux (les rats) par lesquels on a examine l'efficacite de l'application des methodes de la protection pour empecher des dehiscences des anastomoses du colon.

La recherche est faite sur 90 animaux experimentaux divises en trois groupes par 30. Dans le groupe de controle (K groupe) on a fait resection segmentale de la moite gauche du colon avec l'anastomose termo-terminale par la couture allonge d'une seule couche. Dans le groupe II des animaux on a fait la protection de l'application intralumeneuse de la prothese latex (L groupe) et dans le groupe III on a applique la colle fibrineuse bioadhesive (F groupe). La dehiscence complete d'anastomose comme cause de la mortalite dans le groupe K est enregistree chez 3 cas (10 pour cent) et dans L groupe 2 (6,6 pour cent) des animaux. Dans le groupe F il n'y avait pas de dehiscence avec l'apparition de la peritonite diffuse. Par l'application

des methodes de protection lors de l'execution des anastomoses sur le colon on a atteint meilleurs resultats qui se reflétaient dans le moindre nombre des dehiscences. Par l' application locale de la colle fibrineuse on a realise les meilleurs resultats car on a atteint une bonne protection mecanique et on a abrege le temps necessaire pour cicatriser les anastomoses sur le colon.

*Les mots cles:* Anastomoses du colon, prothese protective latex, colle fibrineux

## **METHODS FOR EXPERIMENTAL ANASTOMOSES PROTECTION ON THE COLUMN**

Goran STANOJEVIĆ, Dragojlo GMIJOVIĆ, Milan JOVANOVIĆ,  
Miroslav STOJANOVIĆ, Miomir PEŠIĆ and Milan VIŠNJIĆ

*Surgical Clinic of the Clinic Center, Niš*

The paper presents the results of an experimental research on small animals (rats) whose purpose is to check upon efficiency of the protection methods for suppressing dehiscence of the column anastomoses.

The research is carried out on 90 experimental animals divided into three groups of 30. In the control group (group K) the segment resection of the left side of the column is done with termino-terminal anastomosis by a one-layer extension suture. In the II animal group the anastomosis protection is done by intraluminal application of latex prosthesis (group L) and in the III group the fibrin adhesive or bioadhesive application is done (group F). The complete dehiscence of anastomosis as the cause of mortality in the group K is registered in 3 (10%) cases while in the group L in 2 (6,6%) animals. In the group F there is no dehiscence with the emergence of diffuse peritonitis. By applying the protection methods in performing on the column better results are achieved and they are manifested in a smaller number of dehiscences. The local application of the fibrin adhesive provides for the best results since the good mechanical protection is achieved while at the same time the healing time of the column anastomoses is shortened.

*Key words:* Column anastomoses, protective lax prosthesis, fibrin adhesive

Autor: Ass. dr sci Goran Stanojević, hirurg, Hirurška klinika Kliničkog centra u Nišu; kućna adresa: Niš, Dušana Popovića 32.

(Rad je Uredništvo primilo 15. januara 2002. godine)