

# Ультраструктурні зміни слизової оболонки необладдера mini-pigs через три місяці після ілеоцистопластики (експериментальне дослідження)

Р.В. Савчук<sup>1</sup>, Ф.І. Костев<sup>1</sup>, Н.І. Молчанюк<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Одеський національний медичний університет

<sup>2</sup>ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України», м. Одеса

В Україні проблема раку сечового міхура залишається актуальною, оскільки щороку реєструють близько 5 тис. нових випадків. Тканини травного тракту активно використовуються у реконструктивній хірургії сечової системи протягом останніх тридцяти років, особливо у формуванні артифіціального сечового міхура.

**Мета дослідження:** вивчити ультраструктурні зміни слизової оболонки артифіціального сечового міхура mini-pigs в експериментальних умовах через 3 міс після виконання ілеоцистопластики.

**Матеріали та методи.** Матеріалом даного дослідження слугували результати, отримані при обстеженні 18 самиць mini-pigs віком 4–15 міс і масою тіла 8–15 кг. В експериментальних тварин моделювання артифіціального сечового міхура виконували шляхом цистектомії з наступною ілеоцистопластиком.

**Результати.** Епітеліальний пласт слизової оболонки після цистектомії місяцями повністю зруйнований, особливо на бічних поверхнях ворсинок. Агресивне та токсичне середовище сечі артифіціального сечового міхура, в якій опинилася слизова ileum у післяопераційний період через 3 міс після формування кондукту, викликає пошкодження плазмолем і органел клітин власної пластинки. Вже на цьому ранньому етапі розвиваються компенсаторно-відновні процеси, про що свідчать скупчення крупних мітохондрій та посилення в клітинах білоксинтезуючих процесів.

**Заключення.** Екстремальні умови життєдіяльності призводять до пригнічення місцевого імунітету і захисних властивостей у тканинах слизової оболонки необладдера, а також до розвитку алергічних реакцій і запалення тканин сформованого штучного сечового міхура.

**Ключові слова:** цистектомія, ілеоцистопластика, ультраструктурні зміни.

В Україні проблема раку сечового міхура залишається актуальною, оскільки щороку реєструють близько 5 тис. нових випадків, фіксують щороку близько 2,3 тис. смертей від даної патології [1]. Золотим стандартом лікування м'язово-інвазивного раку сечового міхура з найкращими показниками якості життя у післяопераційний період – є радикальна цистектомія з ілеоцистопластиком [2, 3]. Тканини травного тракту активно використовують у реконструктивній хірургії сечової системи протягом останніх тридцяти років, особливо у формуванні артифіціального сечового міхура [4, 5]. Формування необладдера з термінального відділу ілеум істотно покращило показники якості життя та зменшило кількість метаболічних порушень. Контакт сечі зі слизовою оболонкою кишечника, який володіє секретуючими та реадсорбуючими якостями, виконання незапрограмованої ролі призводить до ультраструктурних змін слизової оболонки нециста, необхідних для ви-

конання нової функції. Вивчення трансформації слизової оболонки нециста проводили протягом останніх двадцяти років. За даними дослідників відзначались атрофічні процеси, гіперсекреція сульфомуцинів, сіаломуцинів, прогресуюча атрофія мікрворсинок, аденоматозна гіперплазія і дисплазія [6, 7]. У літературі обмаль даних щодо динамічних змін слизової оболонки необладдера, що ефективно та результативно можна вивчити за експериментальних умов у тварин.

**Мета дослідження:** вивчити ультраструктурні зміни слизової оболонки артифіціального сечового міхура mini-pigs в експериментальних умовах через 3 міс після виконання ілеоцистопластики.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Матеріалом даного дослідження слугували результати, отримані при обстеженні 18 самиць mini-pigs віком 4–15 міс і масою тіла 8–15 кг. В експериментальних тварин моделювання артифіціального сечового міхура виконували шляхом цистектомії з наступною ілеоцистопластиком.

**Методика оперативного втручання:** під внутрішньовенним наркозом (тіопентал) у положенні на спині свині виконують розріз черевної стінки по середній лінії та видаляють сечовий міхур. Виділяють кишковий сегмент, розсікають уздовж протибрижового краю та формують форму шара. Сечоводи імплантують у верхівку, уретру зшивають з каудальною частиною. Стенти, розташовані всередині сегмента, проводять у сечоводи. Відновлюють безперервність кишки. Рану ушивають вікрилом. Через 3 міс після оперативного втручання була взята біопсія та проведено дослідження слизової артифіціального сечового міхура.

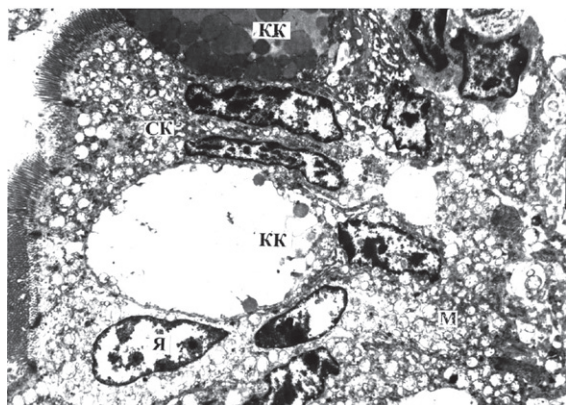
Отриманий матеріал умовно був розподілений на дві групи: піддослідна і контрольна.

Піддослідна група – ділянка слизової оболонки клубової кишки, з якої сформований нецист через 3 міс після оперативного втручання.

Контрольна група – ділянка слизової оболонки інтактної клубової кишки mini pigs.

Тварини обох груп були одного віку. Оперативне втручання у тварин та виведення їх з досліду відбувалось у стані глибокого наркозу згідно з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та Законом України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки слизової оболонки клубової кишки і нециста свиней фіксували в 2,5% розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при значенні рН-7,4 з наступною дофіксацією в 1% розчині осмієвої кислоти при такому самому значенні рН буферного розчину. У подальшому зразки зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації. Просочення тканин та їхню полімера-



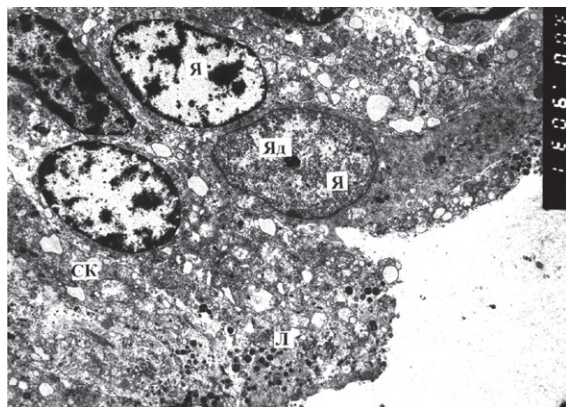
**Мал. 1.** Ультраструктура слизової оболонки клубової кишки інтактної свині через 3 міс після ілеоцистопластики. Фрагмент клітин епітеліального шару в нормальному стані. Електронна мікрофотографія:  $\times 2\ 500$

Умовні позначення: ЩО – щіточкова облямівка, СК – стовпчаста клітина, Я – ядро, М – мітохондрії, КК – келихоподібна клітина.

лізацію проводили в суміші епоксидних смол епон-аралдит. Контрастування ультратонких зрізів виконували за методикою Reynolds [8]. Вивчали і фотографували об'єкти в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01.

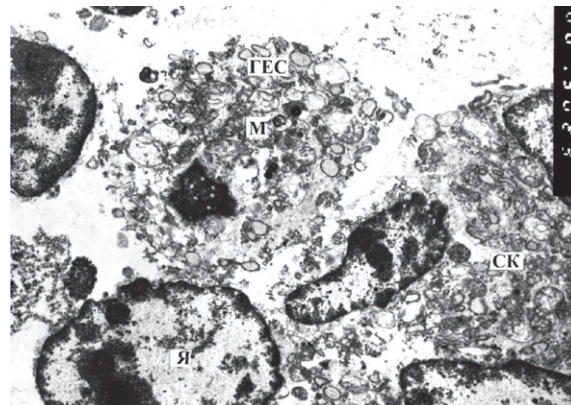
### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При ультраструктурному дослідженні слизової оболонки клубової кишки mini-pigs через 3 міс після ілеоцистопластики в її епітеліальному шарі стовпчасті клітини (ентероцити) характеризуються крупними розмірами і циліндричною формою. Ядра цих клітин переважно овальної форми, ядерна оболонка має гладкі рівні контури, під якою розташований ядерний хроматин у конденсованому стані. Глибки конденсованого хроматину лише іноді спостерігаються по всій каріоплазмі. У клітинах добре визначається ядерце, яке розташовано центрично або ексцентрично, місцями контактує з ядерною оболонкою. В електронно-прозорій каріоплазмі спостерігається практично бліда мілкофібрилярна сітка. На апікальній поверхні ентоцитів розташована щіточкова облямівка. Вона має тонкі, високі, густо розміщені осміофільні мікрворсинки. В електронно-прозорому цитозолі цих клітин розташовані переважно мітохондрії, невелика кількість елементів ендоплазматичної сітки та піноцитозних пухирців з помірним електронно-щільним вмістом.



**Мал. 3.** Ультраструктура слизової оболонки артифіціального сечового міхура mini-pigs через 3 міс після цистектомії та ілеоцистопластики. Електронна мікрофотографія:  $\times 3\ 000$

Умовні позначення: СК – стовпчаста клітина, Я – ядро, Яд – ядерце, Л – лізосоми.



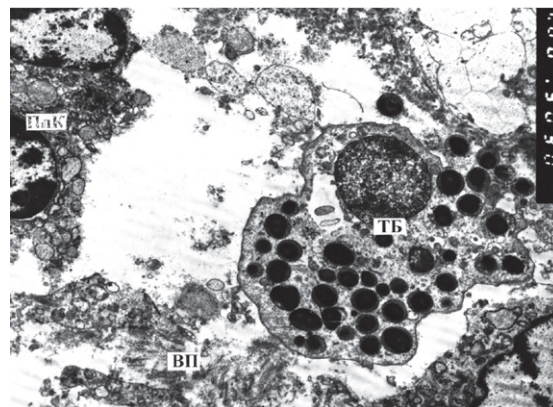
**Мал. 2.** Ультраструктура слизової оболонки артифіціального сечового міхура mini-pigs через 3 міс після цистектомії та ілеоцистопластики. Електронна мікрофотографія:  $\times 5000$

Умовні позначення: СК – стовпчаста клітина, Я – ядро, ГЕС – гладка ендоплазматична сітка, М – мітохондрії.

Частина стовпчастих клітин має дещо підвищеної електронної щільності матрикс цитоплазми. Іноді між цими клітинами помітні келихоподібні клітини з великим вмістом муцинозного секрету. Окремі келихоподібні клітини спустошені, вони втратили свій муцинозний секрет і мають електронно-прозору апікальну частину цитоплазми (мал. 1).

Мітохондрії в цих клітинах круглої форми, різного розміру, від мілких до крупних. Ці органи мають електронно-прозорий внутрішньомітохондріальний матрикс; різну ступінь деструкції крист. Деякі мітохондрії перетворились у вакуолі. На базальній мембрані розташовані стовпчасті клітини без мікрворсинок. Ультраструктура їх практично аналогічна таким, що розташовані на поверхні ворсинки. Власна пластинка слизової оболонки представлена великою кількістю сполучнотканинних клітин, серед яких розміщені пучки колагенових волокон та поодинокі кровоносні капіляри (К). Слід зазначити, що цитоплазма ендотеліальних клітин капілярів знаходиться у стані набряку. Окремі ендотеліальні клітини спустошені, інші – з деструкцією частини внутрішньоклітинних органел, треті – у стані повного некрозу. У просвіті капілярів спостерігається слядж еритроцитів. У сполучній тканині частина клітин з елементами дегенерації цитоплазматичних органел та набряком їхнього цитозолу.

Під час проведення електронної мікроскопії слизової оболонки артифіціального сечового міхура mini pigs через 3 міс



**Мал. 4.** Ультраструктура слизової оболонки артифіціального сечового міхура mini-pigs через 3 міс після цистектомії та ілеоцистопластики. Електронна мікрофотографія:  $\times 4000$

Умовні позначення: ПлК – плазматична клітина, ТБ – тканинний базофіль, ВП – власна пластинка.



після виконання ілеоцистопластики, стовпчасті клітини в епітеліальному пласті ділянками розташовані дещо деорганізовані. В них зруйнована плазмолема, а цитоплазматичні органели знаходяться в стані різного ступеня їхньої патології (мал. 2).

У цих клітинах навколо ядра вузьким ободком розташована цитоплазма. У ній знаходиться невелика кількість мітохондрій, елементів гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) та крупних піноцитозних пухирців. Спостерігаються клітини з повністю зруйнованими цитоплазматичними органелами, залишилися лише окремі їхні ядра. Поруч з такими клітинами виявляються стовпчасті клітини із вогнищево зруйнованою плазмолемою, але з елементами компенсаційно-відновних процесів. Про це свідчать зкупчення великих мітохондрій, розширені цистерни ГЕС з матеріалом підвищеної електронної щільності та вільних рибосом, їхні ядра мають невеликі інвагінації каріолеми та крупні ядерця, що, в цілому, свідчить про посилення в клітинах блоксинтезуючих процесів. В епітеліальному пласті міжклітинні контакти недостатньо сформовані. Можна думати, що на таких ділянках ворсинок слизової оболонки відбувається активне відновлення епітеліального пласту. На інших ділянках стовпчасті клітини розташовані у вигляді пласта, але щіткова облямівка в них відсутня, а в їхній цитоплазмі міститься велика кількість типових органел, серед яких ГЕС має значно розширені цистерни. Відмінність цих клітин від зазначених вище лише в тому, що в їхній апікальній області визначаються зкупчення великої кількості лізосом. Між цими клітинами локалізуються поодинокі клітини не схожі на стовпчасті (мал. 3). Місцями як на вершині ворсинок, так і на їхніх бокових поверхнях спостерігаються ділянки, на яких епітеліальні клітини відсутні.

На базальній мембрані в основі ворсинок визначаються стовпчасті клітини з нормальною ультраструктурою. Під нею в сполучній тканині власної пластинки серед тонких колагенових фібрил розташовані капіляри та її клітини, переважно плазматичні та поодинокі клітини подібні на стовпчасті (малодиференційовані). Під ними спостерігаються великі безструк-

турні електронно-прозорі ділянки власної пластинки, в якій спостерігаються сполучнотканинні клітини, як в стані руйнування їхньої плазмолеми, так і в стані близькому до норми. Переважно це плазматичні клітини і тканинні базофіли (мал. 4).

Отже, епітеліальний пласт слизової оболонки після цистектомії місцями повністю зруйнований, особливо на бічних поверхнях ворсинок, місцями спостерігаються дезорганізація стовпчастих клітин з елементами деструкції цитоплазматичних органел, місцями розташовані стовпчасті клітини з активними процесами репаративної їхньої регенерації, які зумовлюють відновлення самих ентероцитів, і можливо, в подальшому і всього епітеліального шару. Причому в епітеліальному шарі ділянками визначаються клітини неподібні на стовпчасті, які, вочевидь, пристосовуються до змінених умов, до виконання функції сечового міхура. У власній пластинці на фоні ознак набряку основної речовини спостерігаються ознаки пригнічення імунного процесу в результаті пошкодження плазматичних клітин і розвитку алергічної реакції за рахунок руйнування плазмолемі тканинних базофілів і виходу гранул в основну речовину власної пластинки. Під дією гістамину розширюються міжклітинні контакти капілярів і підвищується неконтрольована проникність речовин із капілярів у власну пластинку.

## ВИСНОВКИ

Агресивне та токсичне середовище сечі артіфіціального сечового міхура, в якій опинилася слизова ileum у післяопераційний період через 3 міс після формування кондукту, викликає пошкодження плазмолем і органел клітин власної пластинки. Вже на цьому ранньому етапі розвиваються компенсаторно-відновні процеси, про що свідчать зкупчення крупних мітохондрій та посилення у клітинах блоксинтезуючих процесів. Екстремальні умови життєдіяльності призводять до пригнічення місцевого імунітету і захисних властивостей у тканинах слизової оболонки необладдера, а також до розвитку алергічних реакцій і запалення тканин сформованого штучного сечового міхура.

### Ультраструктурные изменения слизистой оболочки неobladder mini-pigs через три месяца после илеоцистопластики (экспериментальное исследование)

*Р.В. Савчук, Ф.И. Костев, Н.И. Молчанюк*

В Украине проблема рака мочевого пузыря остается актуальной, поскольку ежегодно регистрируют около 5000 новых случаев. Ткани пищеварительного тракта активно используются в реконструктивной хирургии мочевой системы в течение последних тридцати лет, особенно в формировании неоциста.

**Цель исследования:** изучение ультраструктурных изменений слизистой артіфіціального мочевого пузыря mini-pigs в экспериментальных условиях, через три месяца после выполнения илеоцистопластики.

**Материалы и методы.** Материалом данного исследования послужили результаты, полученные при изучении 18 самок mini-pigs возрасте 4–15 мес и массой тела 8–15 кг. У экспериментальных животных моделирование неobladder выполняли путем цистэктомии с последующей илеоцистопластикой.

**Результаты.** Эпителиальный пласт слизистой оболочки после цистэктомии местами полностью разрушен, особенно на боковых поверхностях ворсинок. Агрессивная и токсичная среда мочи артіфіціального мочевого пузыря, в которой оказалась слизистая ileum в послеоперационный период через 3 мес после формирования кондукта, вызывает повреждение плазмолем и органел клеток собственной пластинки. Уже на этом раннем этапе включаются компенсаторно-восстановительные процессы, о чем свидетельствуют скопления крупных митохондрий и усиление в клетках белок-синтезирующих процессов.

**Заключение.** Экстремальные условия жизнедеятельности приводят к угнетению иммунитета и защитных свойств в тканях слизистой оболочки неobladder, а также к развитию аллергических реакций и воспаления тканей неоциста.

**Ключевые слова:** цистэктомия, илеоцистопластика, ультраструктурные изменения.

### Ultrastructural changes in the mucosa of neobladder in mini-pigs three months after ileocystoplasty (experimental study)

*R. Savchuk, F. Kostev, N. Molchaniuk*

The problem of bladder cancer in Ukraine remains relevant position, as approximately 5000 new cases are recorded each year. Tissues of the gastrointestinal tract have been actively used in reconstructive surgery of the urinary system for the past thirty years, especially in the formation of the neocyst.

**The objective:** the aim of the study was investigation of the ultrastructural changes in the mucous membrane of the artificial bladder in mini-pigs under experimental conditions, three months after the ileocystoplasty.

**Materials and methods.** The material of this study was the results obtained in the study of 18 female mini-pigs aged 4–15 months and weighing 8–15 kg. Experimental animal models of the neobladder were performed by cystectomy followed by ileocystoplasty.

**Results.** Thus, the epithelial layer of the mucosa after cystectomy is completely destroyed in places, especially on the lateral surfaces of the villi. The aggressive and toxic environment of the urine of the artificial bladder, in which the ileum mucosa appeared to be in the postoperative period three months after the formation of the conduit, causes damage to the plasmolemmas and the organelle of the cells of the lamina propria. The compensatory-reduction processes are included at this early stage. It is evidenced by accumulations of large mitochondria and amplification in the cells of protein-synthesizing processes.

**Conclusion.** Extreme conditions of life lead to the suppression of immunity and protective properties in the tissues of the neobladder mucosa, as well as the development of allergic reactions and inflammation of neocyst tissues.

**Key words:** cystectomy, ileocystoplasty, ultrastructural changes.

Сведения об авторах

**Савчук Руслан Валерьевич** – Кафедра урологии и нефрологии Одесского национального медицинского университета, 65082, г. Одеса, Валиховський пров., 2; тел.: (067) 792-47-63. *E-mail: savrus7@rambler.ru*

**Костев Федор Иванович** – Кафедра урологии и нефрологии Одесского национального медицинского университета, 65082, г. Одеса, Валиховський пров., 2; тел.: (067) 482-23-11

**Молчанюк Наталия Ивановна** – ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины», 65061, Украина, г. Одесса, Французский бульвар, 49/51. *E-mail: elmicroscop@gmail.com*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бюлетень національного онкологічного реєстру України № 15. – «Рак в Україні». – Національний інститут раку. – К., 2014.
2. Niyati L, Ramesh T, Rajesh N, Prokar D, Muhammad S. Robot-assisted radical cystectomy with intracorporeal urinary diversion – The new 'gold standard'? Evidence from a systematic review Arab Journal of Urology, April 2018
3. Wei Shen Tan, Benjamin W. Lamb, and John D. Kelly Complications of Radical Cystectomy and Orthotopic Reconstruction Advances in Urology Volume 2015
4. Baskin LS, Hayward SW, Di Sandro MS, Li YW, Cunha GR. Epithelial-mesenchymal interactions in the bladder. Implications for bladder augmentation. Urol Clin North Am. 1999;26:49–59.
5. Aleksic P., Bancevic V., Milovic N., Kosevic B., Stamenkovic D.M., Karanikolas M. et al. Short ileal segment for orthotopic neobladder: a feasibility study. Int J Urol. 2010 Sep;17(9):768–73.
6. Parenti A, Aragona F et al. Abnormal Patterns of Mucin Secretion in Ileal Neobladder Mucosa: Evidence of Preneoplastic Lesion? Eur Urol. 1999;35:98–101
7. Gatti R, Ferretti S, Bucci G et al. Histological Adaptation of Orthotopic Ileal Neobladder Mucosa: 4-Year Follow-Up of 30 Patient. Eur Urol. 1999;36:588–594s.
8. Reynoldes E. S. The use of lead citrate at high pH an electronopaque stain in electron microscopy // J. of Cell Biol. – 1963. – V. 17. – P. 208–212.

*Статья поступила в редакцию 11.10.2018*

НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

**МЕДИКИ УКРАИНЫ МОГУТ РУКОВОДСТВОВАТЬСЯ  
СОВРЕМЕННЫМИ ПРОТОКОЛАМИ ВООЗ И EUCAST**

Украинские врачи теперь могут руководствоваться клиническими рекомендациями ВООЗ в ежедневной практике. Соответствующий приказ МОЗ Украины № 1752 прошел регистрацию в Минюсте Украины. В перечне источников клинических руководств – теперь сайты ВООЗ (WHO) и Еврокомитета, определяющего антимикробную резистентность (EUCAST).

Какие возможности для украинских медиков появляются в связи с данными изменениями? Согласно данным Центра общественного здоровья МОЗ Украины, современная медпрактика давно требовала дополнительных источников клинических руководств. Это важно для введения в сферу социально опасных болезней принципов, основанных на доказательной медицине.

ВООЗ располагает рекомендациями для разных стран, основание для которых – мониторинг и анализ эпидситуации по ВИЧ-инфекции и СПИ-Ду, туберкулезу, уровням дохода населения и т.д. Использование клинических руководств ВООЗ поможет ввести в отечественное здравоохране-

ние методики современной диагностики, терапии и профилактики ВИЧ-инфекции и резистентных форм туберкулеза. Ведь назначить противомикробное средство без определения чувствительности микроорганизмов к нему надлежащим образом невозможно.

Организация EUCAST, протоколы которой теперь могут использовать украинские медики, является на данный момент ведущим ресурсом в вопросах мониторинга противомикробной резистентности: ассоциация непрерывно обновляет показатели чувствительности микроорганизмов, гармонизирует критерии оценивания чувствительности микроорганизмов в европейских странах. Теперь украинскими лабораториями также могут использоваться новые рекомендации, основанные на современных исследованиях, вместо устаревших инструкций. Это является большим шагом в решении проблемы антибиотикорезистентности.

*Автор: Светлана Евсеева*

*Источник: Медицинский портал Здоров-Инфо*