

Ультроструктурна адаптація слизової оболонки ортотопічного ілеального сечового міхура в динаміці у віддаленому періоді в експерименті

Р. В. Савчук¹, Ф. І. Костев¹, Н. І. Молчанюк², Ю. М. Дехтяр¹, С. В. Головко³

¹Одеський національний медичний університет,

²Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України, м. Одеса,

³Національний військово-медичний клінічний центр «Головний військовий клінічний госпіталь», м. Київ

Ultrastructural adaptation of mucosa of orthotopic ileal bladder in the late period dynamics in experiment

R. V. Savchuk¹, F. I. Kostyev¹, N. I. Molchanyuk², Yu. M. Dekhtiar¹, S. V. Golovko³

¹Odessa National Medical University,

²Filatov Institute of Ophthalmological Diseases and the Tissue Therapy, Odessa,

³National Military–Medical Clinical Centre «Central Military Clinical Hospital», Kyiv

Реферат

Мета. Оцінити в експерименті ультроструктурні зміни слизової оболонки ортотопічного сечового міхура (СМ) карликових свиней через 12 міс після виконання ілеоцистопластики.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження проведені на 18 самицях карликових свиней віком 4 – 15 міс, яким виконали цистектомію із формуванням ортотопічного СМ з клубової кишки.

Результати. В ультроструктурі слизової оболонки штучно створеного СМ під тривалим впливом сечі стовпчасті клітини в епітеліальному шарі поступово заміщалися клітинами іншого типу, за структурою близькими до епітелію СМ, для виконання його повноцінної функції. Власна пластинка слизової оболонки мала явища деструктивного характеру переважно клітинних елементів, на окремих ділянках волокнисті структури переважали над клітинними.

Висновки. Ультроструктурні зміни слизової оболонки штучно створеного СМ через 12 міс після ілеоцистопластики свідчать про її повну трансформацію і адаптацію з елементами еволюції та пристосування до нових умов життєдіяльності.

Ключові слова: ортотопічний сечовий міхур; ультроструктурні зміни; адаптація.

Abstract

Objective. To estimate the changes in ultrastructure of mucosa in artificially created orthotopic bladder in 12 mo after ileocystoplasty in experiment on a dwarf pigs.

Materials and methods. Experimental investigations were conducted on 18 female dwarf pigs ageing 4 – 15 mo, in whom cystectomy was performed with artificially created orthotopic bladder, using ileocystoplasty.

Results. In mucosal ultrastructure of the artificially created bladder under durable influence of urine the columnar cells in epithelial layer gradually transform into cells of another type, which are structurally close to the bladder epithelium, adjusted for performance of its full-fledged function. Own mucous plate have had destructive changes predominantly in cellular elements, in some portions fibrous structures prevailed over cellular.

Conclusion. Changes in ultrastructure of mucosa of artificially created bladder in 12 mo after ileocystoplasty witness about its complete transformation and adaptation with elements of evolution and adaptation to new conditions of functioning.

Keywords: orthotopic bladder; ultrastructural changes; adaptation.

Деривація сечі за допомогою тканин органів травної системи залишається найкращим вибором у лікуванні пацієнтів з інвазивним раком СМ чи іншими захворюваннями, яке передбачає його видалення [1]. Для відновлення функціональних можливостей сечового резервуара використовують різні відділи травного каналу – тонку та товсту кишки, шлунок [2, 3]. Також для цистопластики в експериментальних умовах застосовували тканину перикарда, очеревини, матки, плаценти [4 – 7]. Нині активно напрацьовують способи отримання штучно вирошеного СМ за допомогою біоінженерних технологій, а раніше були спроби використання з цієї метою синтетичних матеріалів, таких як тефлон, колаген тощо [8, 9]. Основна вимога до штучного СМ – це має бути резер-

вуар достатньої ємності, низького тиску, з мінімальними реабсорбуючими та секретуючими властивостями. Є повідомлення про найкращі показники якості життя, мінімізацію післяопераційних ускладнень та адаптацію для виконання нової функції ортотопічного СМ, сформованого з термінальної ділянки клубової кишки, в порівнянні з іншими відділами травного каналу [10]. Разом з тим доступна література не містить повноцінної інформації про ступінь придатності кишкового резервуара, ультроструктурні зміни слизової оболонки кондукту в динамічному спостереженні для оптимального заміщення СМ і виконання незапрограмованих функцій.

Мета дослідження: оцінити в експерименті ультроструктурні зміни слизової оболонки ортотопічного СМ карли-

кових свиней через 12 міс після виконання ілеоцистопластики.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені на 18 самицях карликових свиней віком 4 – 15 міс і масою тіла 5 – 15 кг, яким виконали цистектомію з формуванням ортотопічного СМ з клубової кишки.

Методика оперативного втручання. Під внутрішньовенним наркозом (тіопентал натрію) у положенні на спині свині розрізали червну стінку по середній лінії і видаляли СМ. Виділяли кишковий сегмент, розсікали уздовж протибрижового краю, формуючи кондукт. Сечоводи імплантували у верхівку утвореного кондукту, сечовипускальний канал зшивали з його каудальною частиною. Стенти, розташовані всередині кишкового сегмента, проводили в сечоводи, відновлювали безперервність кишки. Рану зашивали вікрилом.

Через 12 міс після оперативного втручання тварин виводили з експерименту в стані глибокого наркозу згідно з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» і проводили ультраструктурні дослідження слизової оболонки сечового резервуара та інтактної клубової кишки. Отриманий матеріал умовно розподілили на два види: піддослідний – ділянка слизової оболонки клубової кишки, з якої сформовано ортотопічний СМ, і контрольний – ділянка слизової оболонки інтактної клубової кишки.

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки слизової оболонки інтактної клубової кишки і ортотопічного СМ свиней фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду з рН 7,4 фосфатного буферу, потім проводили додаткову фіксацію у 1% розчині осмієвої кислоти з таким же рН буферного розчину. В подальшому зразки зневоджували у спиртах зростаючої концентрації. Для просочення тканин та їх полімералізації використовували сумі-

ші епоксидних смол (епон-аралдит). Контрастування ультратонких зрізів здійснювали за методикою Reynolds [8].

Вивчали і фотографували об'єкти за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-100-01.

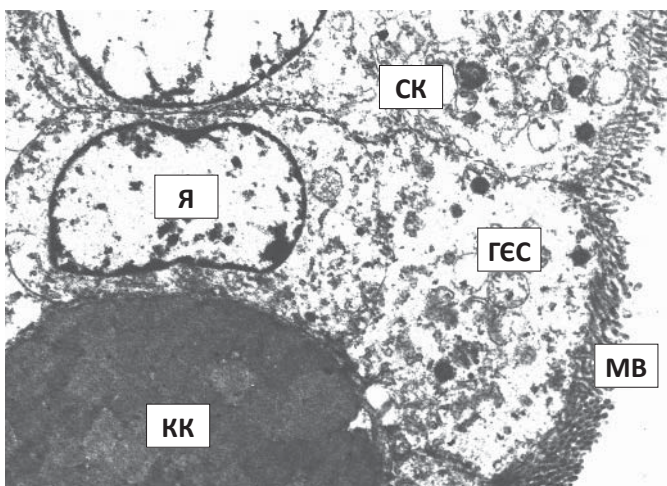
Результати

Проведеним електронно-мікроскопічним дослідженням виявлено, що через 12 міс після ілеоцистопластики епітеліальний шар слизової оболонки ворсинок інтактної клубової кишки збережений, його архітектоніка не змінена. Стовпчасті клітини переважно нормальної ультраструктури з добре сформованою щіточковою облямівкою (рис. 1), ділянками розташовані дещо ущільнено, мають електронно-прозорий цитозоль, мікрворсинки на їх апікальній поверхні розташовані розріджено, деякі клітини з елементами набряку гранулярної ендоплазматичної сітки, внутрішньомітохондріального матриксу та вогнищами деструкції крист мітохондрій, що, можливо, пов'язано з підвищенням їх функціональної активності.

На боковій поверхні мікрворсинок один щільний ряд стовпчастих клітин, в ядрах яких дещо збільшена кількість конденсованого хроматину, форма ядер близька до круглої, їх каріолема дещо звивиста, цитозоль підвищеної електронної щільності, в ньому зосереджена велика кількість мітохондрій з редуцією крист. Між боковими поверхнями мікрворсинок вкраплення жиру та матеріал білково-ліпідного складу. Ультраструктура власної пластинки слизової оболонки в межах норми, за винятком просвітлення основної речовини сполучної тканини (рис. 2).

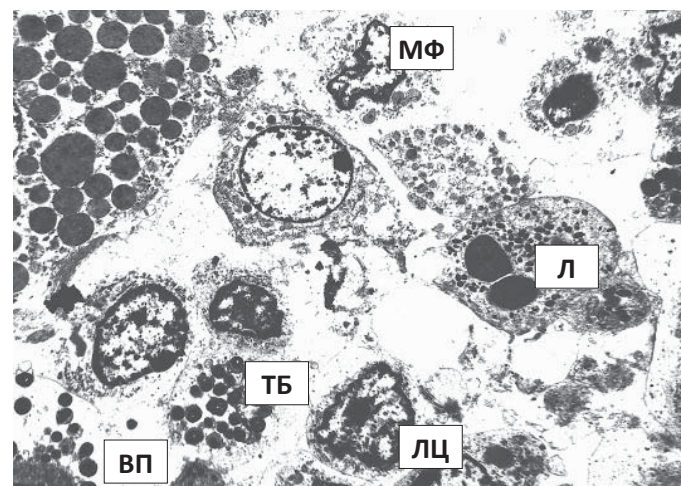
Через 12 міс після ілеоцистопластики в епітеліальному шарі слизової оболонки ворсинок штучно створеного СМ спостерігали як ентероцити клубової кишки, так і клітини, не схожі на стовпчасті, характерні для слизової оболонки через 6 міс після формування сечового резервуара.

Ентероцити епітеліального шару клубової кишки вирізнялися своїм поліморфізмом: одні мали нормальну ультраструктуру, інші – виражені ознаки білоксинтезуючих



*Рис. 1.
Мікрофото.*

Ультраструктура слизової оболонки інтактної клубової кишки через 12 міс після ілеоцистопластики: СК – стовпчаста клітина; КК – келихоподібна клітина; МВ – мікрворсинки, Я – ядро, ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка. Зб. ×4000.



*Рис. 2.
Мікрофото.*

Ультраструктура слизової оболонки інтактної клубової кишки через 12 міс після ілеоцистопластики: ВП – власна пластинка, ТБ – тканинний базофіл, ЛЦ – лімфоцит, Л – лейкоцит, МФ – макрофаг. Зб. ×3000.

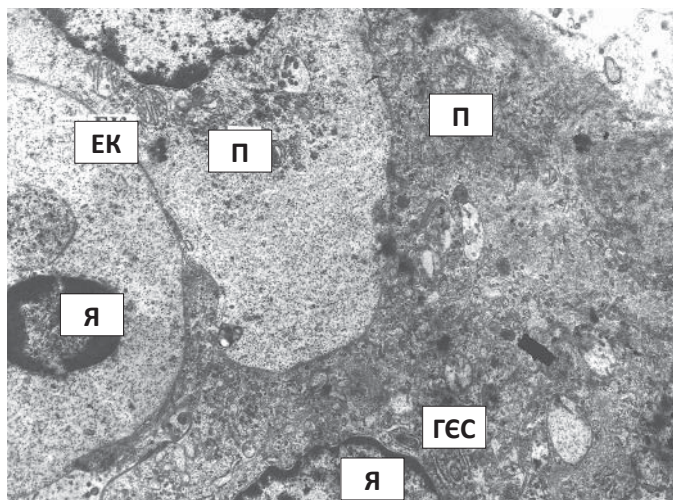


Рис. 3.
Мікрофото.

Ультраструктура слизової оболонки ортотопічного СМ через 12 міс після ілеоцистопластики: ЕК – епітеліальні клітини, Я – ядро, ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка, П – полісоми. Зб. ×2500.

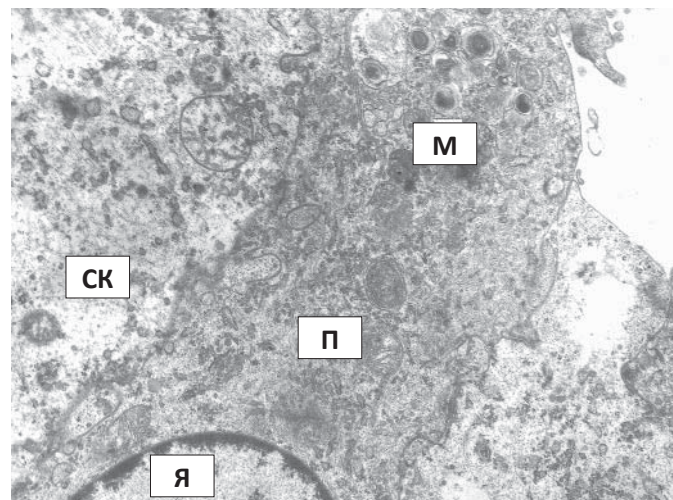


Рис. 4.
Мікрофото.

Ультраструктура слизової оболонки ортотопічного СМ через 12 міс після ілеоцистопластики: СК – стовпчасті клітини; Я – ядро; П – полісоми; М – мітохондрії. Зб. ×8000.

процесів або невелику кількість органел. Клітини мали щітчкову облямівку, але в одних клітинах мікроборсинки добре визначалися, а в інших розташовувалися розріджено або їх зовсім не було. Клітини, не схожі на стовпчасті, розташовані ділянками або поодинокі на поверхні мікроборсинок, одні крупні, циліндричної форми, з ядрами, подібними до ядер стовпчастих клітин, і цитоплазмою, структура якої відмінна від структури цитоплазми стовпчастих клітин (рис. 3), наповненою неспеціальними органелами, на апікальній поверхні клітин розташовані численні мієліноподібні клубки, а від плазмолемі відокремлювалася велика кількість піноцитозних пухирців.

На боковій поверхні мікроборсинок ці клітини утворювали інвагінації. Поряд з ними ділянками в епітеліальному шарі містилися інші клітини: вузькі, веретеноподібної форми, з паличкоподібними ядрами; крупні, епітеліально-

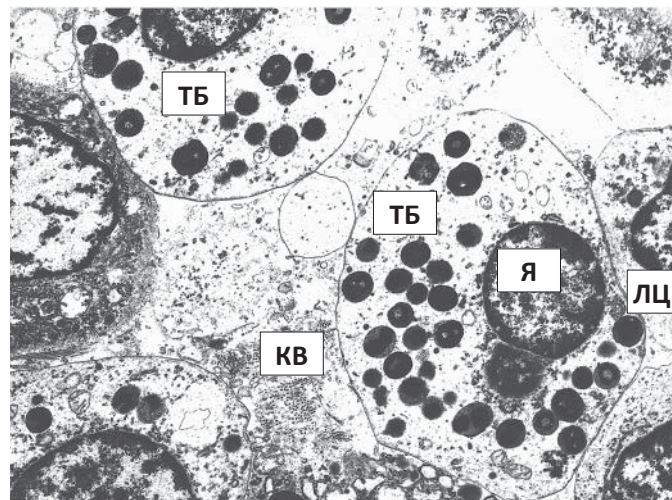


Рис. 5.
Мікрофото.

Ультраструктура слизової оболонки ортотопічного СМ через 12 міс після ілеоцистопластики: Я – ядро, ЛЦ – лейкоцит, ТБ – тканинний базофіл, КВ – колагенові волокна. Зб. ×4000.

го типу, з великими ядрами неправильної форми та з вираженими ознаками білоксинтезуючих процесів; з ядром, як у еритроцитів, але без цитоплазматичних структур, їм властивих; крупні, грушеподібної або сплющеної форми, з невеликою кількістю органел, але із значно розвиненим фібрилярним компонентом цитоскелету, подібні до клітин СМ. З ними щільно контактували великі клітини з незначними відростками та великою кількістю дрібних органел, які брали участь у білковому синтезі (рис. 4).

На боковій поверхні мікроборсинок стовпчасті клітини місцями збережені, однак їх цитоплазма містила цитозоль підвищеної електронної щільності, а ядра – більш виражений хроматин у конденсованому стані, однак на апікальній поверхні мікроборсинок клітин майже не було.

Таким чином, у слизовій оболонці штучно створеного СМ після ілеоцистопластики, окрім стовпчастих клітин властивих для тонкої кишки, зустрічалися клітини, від них відмінні, що були подібні до епітеліальних клітин, але мали інший рисунок ультраструктури, частина їх була схожа на поверхневі клітини СМ. У власній пластинці слизової оболонки спостерігали скупчення клітин як у стані альтерації їх органел, так і з нормальною ультраструктурою, між якими були ділянки густо розміщених пучків колагенових волокон, окремі обширні безструктурні електронно-прозорі ділянки, а також поодинокі сегментоядерні лейкоцити та крупні тканинні базофіли (рис. 5).

Обговорення

Через 12 міс після ілеоцистопластики в епітеліальному шарі слизової оболонки штучного СМ, частіше ніж через 6 міс, спостерігали клітини, відмінні від стовпчастих, які за типом були подібні до епітеліальних, мали різну форму і великі за розмірами цитоплазму та ядра, в них відбувалися активні білоксинтезуючі процеси, направлені як на внутрішньоклітинні, так і на позаклітинні потреби, вони розташовувалися групами, місцями щільно контактували між собою. Інші клітини неправильної форми перебува-

ли у стані активації їх метаболічної діяльності. Водночас збережені стовпчасті клітини мали як явища деструкції органел, так і елементи репаративних внутрішньоклітинних процесів, частина їх зазнавала метаморфозу, вочевидь, пристосовуючись до змінених умов існування і виконання іншої функції.

У власній пластинці слизової оболонки також спостерігали елементи, скоріше, компенсаційно-адаптивного характеру. Ділянками зменшувався набряк основної речовини, кількість клітин сполучної тканини збільшувалась, хоча частина їх мала ознаки альтерації органел, особливо строма містила багато тканинних базофілів, що свідчило про елементи алергічної реакції.

У цілому в ультраструктурі слизової оболонки штучно створеного СМ під тривалим впливом сечі поступово відбувалося заміщення в епітеліальному шарі стовпчастих клітин клітинами іншого типу, близькими за структурою до епітелію СМ, для виконання повноцінної його функції. Власна пластинка слизової оболонки мала явища деструктивного характеру переважно клітинних елементів, на окремих ділянках волокнисті структури переважали над клітинними.

Висновки

1. Ультраструктурні зміни слизової оболонки штучно створеного СМ через 12 міс після ілеоцистопластики свідчать про повну трансформацію і адаптацію з елементами еволюції та пристосування до нових умов життєдіяльності.

2. Агресивний вплив сечі викликає не тільки запальну та алергічну реакції слизової оболонки сечового резервуара, а й зміни ультраструктури епітеліоцитів.

3. Вивчення патогенетичних особливостей метаморфозу слизової оболонки штучного СМ уможливило краще розуміння його адаптивних процесів та оцінку можливого впливу на функціонування ілеального сечового резервуара лікарських засобів та нових хімічних сполук.

Підтвердження

Фінансування

Наукове дослідження та процес публікації статті фінансується приватною особою.

Інформація про внесок кожного учасника

Савчук Р. В. - ідея, обробка отриманих результатів, написання тексту; Костев Ф. І. - дизайн дослідження; Молчанюк Н. І. - обробка отриманих результатів; Дехтяр Ю. М. - аналіз результатів; Головка С. В. - концепція дослідження. Всі автори прочитали і схвалили остаточний варіант рукопису.

Конфлікт інтересів

У даному дослідженні та статті немає потенційних конфліктів інтересів.

Згода на публікацію

Всі автори дали згоду на публікацію цього рукопису.

References

1. National Cancer Institute. What you need to know about bladder cancer. Rockville: NIH Publication; 2010 August: No. 10–1559. 38 p.
2. Wang K, Yamataka A, Morioka A, Lane GJ, Iwashita K, Miyano T. Complications after sigmoidocolocystoplasty: review of 100 cases at one institution. *J Pediatr Surg.* 1999 Nov;34(11):1672–7. [https://doi.org/10.1016/S0022-3468\(99\)90642-5](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(99)90642-5).
3. Jin L, Wang M, Yang F, Niu Y, Xing N. Surgical techniques for facilitating laparoscopic intracorporeal orthotopic neobladder: initial experience. *Int Braz J Urol.* 2018 Nov–Dec;44(6):1156–65. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2017.0505.
4. Abdelrhman MA, Seddek AM, Bakr HA, Elnesr KA. Full-thickness hysterocystoplasty for management of a large bladder defect: experimental study in goats. *J Vet Med Sci.* 2013 Jan 75(6):767–71. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0298>.
5. Dapena L, Dapena I, Regadera J, Gaspar MJ, González-Peramato P. Histerocystoplasty: a novel surgical procedure in the rat. *J Surg Res.* 2012 Jun 1;175(1):157–62. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.03.002>.
6. Fishman IJ, Flores FN, Scott FB, Spjut HJ, Morrow B. Use of fresh placental membranes for bladder reconstruction. *J Urol.* 1987 Nov;138(5):1291–4. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)43586-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)43586-5).
7. Kambic H, Kay R, Chen JF, Matsushita M, Harasaki H, Zilber S. Biodegradable pericardial implants for bladder augmentation: a 2.5-year study in dogs. *J Urol.* 1992 Aug;148(2 Pt 2):539–43. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)36649-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)36649-1).
8. Sloff M, de Vries R, Geutjes P, IntHout J, Ritskes-Hoitinga M, Oosterwijk E. Tissue Engineering in Animal Models for Urinary Diversion: A Systematic Review. *PLoS One.* 2014 Jun 25;9(6):e98734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098734>.
9. Alberti C. Whyever bladder tissue engineering clinical applications still remain unusual even though many intriguing technological advances have been reached? *G Chir.* 2016 Jan–Feb; 37(1): 6–12. <https://doi.org/10.11138/gchir/2016.37.1.006>.
10. Cerruto MA, D'Elia C, Siracusano S, Gedeshi X, Mariotto A, Iafrate M, Niero M et al. Systematic review and meta-analysis of non RCT's on health related quality of life after radical cystectomy using validated questionnaires: Better results with orthotopic neobladder versus ileal conduit. *Eur J Surg Oncol.* 2016 Mar;42(3):343–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2015.10.001>.

Надійшла 08.01.2019