

Одеський національний медичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Інститут урології НАМН України
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Жуковський Дмитро Олександрович

УДК 616.62-089.87-003.96-092.4/.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**Морфогенез, функція та способи адаптації артифіціального сечового міхура
(експериментальне дослідження)**

14.01.06 – урологія

22 – охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ (Д. О. Жуковський)

Науковий керівник: Костєв Федір Іванович, доктор медичних наук, професор

Одеса – 2021

АНОТАЦІЯ

Жуковський Д. О. Морфогенез, функція та способи адаптації артифіціального сечового міхура (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.06 – урологія (22 – Охорона здоров'я). – Одеський національний медичний університет, Одеса; Інститут урології НАМН України, Київ, 2021.

Дисертація присвячена експериментальному обґрунтуванню принципової стратегії в способах адаптації артифіціального сечового міхура (АСМ) на підставі вивчення морфогенезу та функції необладера під впливом нових хімічних сполук, які мають поєднаний антихолінергічний, енерготропний та антигіпоксичний ефекти.

Дослідження виконане на базі підрозділів кафедри урології та віварію ОНМедУ протягом 2014–2017 рр. У дослідженні було використано 50 свиней масою 5–12 кг, які рандомізовано розподілені на дві групи дослідження: I (контрольна), до якої увійшли 10 оперованих тварин з експериментальною ілеоцистопластиком, що не отримували ніяких хімічних сполук, та II (основна), до якої були включені 40 свиней, яким вводили препарати. Основна група, в свою чергу, була рандомізовано розподілена на 4 підгрупи:

- підгрупа 1 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки феніл 2,2-диметилгідрозинкарбоксилат (n=10);
- підгрупа 2 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідрозид (n=10);

- підгрупа 3 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (n=10);
- підгрупа 4 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно) бензиліден) бензгідразид (n=10).

Вибір хімічних сполук для проведення експерименту виконували за допомогою програмного забезпечення LabScribe 2 (iWorx Systems, Inc., США).

На етапах дослідження застосована розроблена оригінальна експериментальна модель артифіціального сечового міхура у свиней, яка здійснюється шляхом радикальної цистектомії з ілеоцистонеопластиком. Проводили цистотонometriю сечового міхура, досліджували скоротливу активність стінки неоцисту, проводили реографічну оцінку мікроциркуляції, виконували біохімічні та патогістохімічні дослідження.

Моделювання шляхом виконання цистектомії з ілеоцистопластиком за Studer проводили на свинях-саміцях.

Цистотонometriю сечового міхура у тварин виконували із застосуванням інфузії розчину в неоцист. Внутрішньоміхуровий тиск вимірювали через інтрауретральний катетер, який був підключений через триходовий перемикач до датчика тиску. Як розчин для інфузії використовували 0,9%-й хлорид натрію, об'ємом 0,1–0,15 мл/год. Цистотонметричне дослідження виконували за допомогою апарата "Delphis KT" (Laborie, Канада). Визначали максимальну цистотонметричну ємність (МЦЄ) та максимальний детрузорний тиск (МДТ).

Дослідження скоротливої активності стінки неоцисту *in vitro* проводили за С. У. Fry (2004).

Досліджувані сполуки використовували у вигляді водних розчинів, в інтервалі молярних концентрацій 10^{-1} – 10^{-7} моль/л. Їх готували розведенням робочих 10^{-1} М розчинів відповідних сполук, при цьому вихідний об'єм кожного з них становив 20 мл.

Всі використані в роботі сполуки були синтезовані на кафедрі загальної хімії та полімерів ОНУ ім. І. І. Мечникова, їхній склад і структура встановлені сукупністю фізико-хімічних методів дослідження.

Вміст окиснених та відновлених форм нікотинамідних коферментів (НАД) в гомогенаті тканини АСМ визначали за методом N. O. Caplan, M. Giotti (1958).

Активність сукцинатдегідрогенази, лактатдегідрогенази та глутаматдегідрогенази визначали методом ІФА (набір реактивів Test combination фірми "Boehringer Mannheim").

Кількісний вміст аденілових нуклеотидів (АМФ, АДФ, АТФ) в крові та гомогенатах тканини артифіціального сечового міхура оцінювали за допомогою стандартних реактивів Test combination фірми "Boehringer Mannheim" за методом T. Bucher в модифікації D. Jaworek (1970).

Оцінювали гістологічну картину мікропрепаратів з артифіціального сечового міхура в динаміці через 3 і 6 міс. із забарвленням гематоксиліном-еозином, за Ван Гізоном.

Через 1 міс. після операції, через 6 міс. і через 1 рік у експериментальних тварин отримували порцію сечі шляхом катетеризації, яку центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хв. З утвореного осаду виготовляли мазки, які висушували на повітрі, в подальшому їх фіксували в спиртовому ефірі і забарвлювали гематоксиліном-еозином. В подальшому отримані препарати досліджували за допомогою світлового мікроскопа Olympus CX21FS1. У кожному препараті обраховували 5 полів зору (загалом не менше 150 клітин). Оцінювали кількість лімфоцитів, нейтрофілів, еритроцитів, а також кількість епітеліоцитів – поверхневих, проміжних і базальних, про що судили за проявами позаклітинного характеру.

Залежно від результатів рандомізації, експериментальним тваринам прижиттєво вводили внутрішньоочеревно розчини сполук групи гідразонів. Виведення з експерименту проводили шляхом цервікальної дислокації.

При проведенні дослідження керувалися сучасними біоетичними вимогами, дотримуючись положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів або в інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), а також вимог Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Статистична обробка експериментальних досліджень та їх графічне зображення виконані за допомогою стандартного пакета прикладних програм Statistica 10.0 (Dell StatSoft Inc., США). Використовували непараметричні методи дисперсійного та кореляційного аналізу. Нульова гіпотеза приймалася при $p > 0,05$.

В експерименті показано, що морфологічні зміни у стінці тонкокишкового трансплантата відбуваються протягом кількох місяців та приводять до наближення гістологічної структури шарів стінки неоцисту до будови аутоотопічного сечового міхура (СМ).

Так, вже через три місяці після формування АСМ починаються зміни, які полягають в помірній гіпертрофії м'язового шару, ущільненні підслизового шару, деформації лімфоїдних фолікулів збережених Песрових бляшок, дистрофічних змінах епітеліоцитів ворсинок. Ці зміни, зумовлені агресивним впливом сечі, поглиблюються з часом, тому через 6 міс. як макроскопічно, так і на мікроскопічному рівні АСМ був подібний до аутоотопічного в інтактних свиней. При мікроскопії серозна оболонка була дещо стовщена за рахунок значної кількості фіброзних пучків, відзначалися гіпертрофічні зміни міоцитів, при збереженні двошаровості м'язового шару.

Через 12 міс. після формування АСМ визначалися суттєві зміни в його структурі. Описані вище зміни поглиблюються. Відзначається повнокров'я судин, спостерігається їх фіброз. Песрові бляшки зникають, визначається невелика

кількість невеликих, деформованих лімфоїдних фолікулів із тонкою розірваною периферією і невеликим пухким центром. На цьому етапі дослідження відсутня складчастість, характерна для вихідної кишки. Ворсинки були трансформовані у сосочкоподібні утворення, крипти взагалі були відсутні. Загалом, епітелій АСМ за структурою нагадував нормальний уротелій. Наведені результати свідчать про досить глибокі структурні і морфофункціональні зміни епітелію ділянки кишкового трансплантата. Термін повної адаптації АСМ – 6 міс.

Описані морфологічні зміни супроводжуються функціональними. Результати цистотометрії свідчать, що залежно від терміну дослідження та використаної експериментальної сполуки МЦЄ становить від 70 до 150 см³, а МДТ – 7,36–38,25 мм вод. ст. При застосуванні препаратів з проконтракtilьною активністю спостерігалися явища термінальної детрузорної гіперактивності.

Скринінг констрикторних властивостей нових хімічних сполук продемонстрував перспективність вивчення і найбільшу ефективність дії трьох хімічних сполук: феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ФДГК); N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (ДББ) і 4- (dimethylamino) benzaldehyde N, N-dimethylcarbamylhydrazone (4DCh). Найбільш виражений стимулювальний вплив відзначався при концентраціях вище 10⁻³ М.

Скринінг спазмолітичних властивостей досліджуваних сполук також продемонстрував їх наявність у сполуках: 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ДФДГК) та 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (ДДББ). Визначений спазмолітичний ефект був дозозалежним, максимальні значення були притаманні для концентрацій вище 10⁻² М.

Результати наших досліджень показали, що формування артифіціального сечового міхура в експериментальних тварин фрагментом клубової кишки змінює склад клітин слизової сечового осаду. Ці зміни полягають у збільшенні

вмісту еритроцитів, зниженні кількості лімфоцитів і нейтрофілів, зміні кількості епітеліоцитів.

Зі збільшенням тривалості післяопераційного періоду відбувається зміна клітинного складу осаду. Це виявляється в зменшенні і навіть зникненні еритроцитів у мазках. Кількість лімфоцитів і нейтрофілів наближається до показників, які спостерігаються в інтактних тварин. Вміст і співвідношення епітеліоцитів також наближаються до таких в інтактних тварин. Оскільки структура органа та його функція тісно пов'язані, ми вважаємо, що відбувається пристосування тканин кишкової стінки до нових умов.

Описані зміни супроводжувалися зменшенням вмісту аденілових нуклеотидів, що можна вважати проявом дисбалансу в системі АТФ-АДФ-АМФ, як наслідок ішемії тканини та вичерпання резервів макроергів, які використовуються для забезпечення контрактильної активності детрузора. Для корекції виявлених порушень в активності макроергічних аденілових сполук доцільно використовувати хімічні субстанції, здатні впливати на скоротливу активність неоцисту, в тому числі похідні гідразонів.

Створена експериментальна модель артіфіціального сечового міхура на свинях є адекватною для дослідження морфофункціональних змін неоцисту в динаміці адаптації трансплантата до функціонування як складової сечовивідної системи, в тому числі для забезпечення мікційного рефлексу. При формуванні неоцисту його стінка під дією агресивного середовища проходить поступовий морфогенез, спрямований на формування епітелію, подібного за своїми властивостями до перехідного. Зберігається можливість фармакологічної регуляції скоротливої функції й адаптації неоцисту в динаміці, для якої розроблені та впроваджені в експериментальне дослідження нові хімічні сполуки – похідні гідразонів.

Через 3 міс. після створення неоцисту застосування досліджуваної групи хімічних сполук практично не впливало на активність макроергічних сполук у

різних шарах необладера. Через 6 міс. концентрація АТФ зросла з $(0,95 \pm 0,06)$ до $(1,03 \pm 0,07)$ нмоль/г, а через 12 міс. – до $(1,08 \pm 0,06)$ нмоль/г ($p < 0,05$). Отримані експериментальні дані свідчать про досить глибокі структурні і морфофункціональні зміни епітелію ділянки кишки, трансплантованої при створенні АСМ. Протягом року після втручання відбувається ремоделювання епітеліальних елементів.

При вивченні характеру впливу досліджуваних нами нових хімічних сполук на процеси енергетичного метаболізму та гіпоксії неоцисту в тварин з артифіціальним сечовим міхуром встановлено, що проконтриктивні властивості мають феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ФДГК) та N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (ДББ), які в концентрації 10^{-3} М збільшують скоротливу активність на (53 ± 5) і (54 ± 4) % відповідно, амплітуду скорочень – на (59 ± 12) і (49 ± 14) %, частоту скорочень – на (48 ± 6) і (31 ± 5) % відповідно. З досліджуваних нових хімічних сполук спазмолітичні властивості з тропністю до клубової кишки можна виділити у двох субстанцій: феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ФДГК) і 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно) бензиліден) бензгідразид (ДДББ), що знижують гіпертонус на (50 ± 4) та (40 ± 3) % відповідно.

Максимальна цистотонометрична ємність становила від 70 до 150 см³, а максимальний детрузорний тиск – від 10 до 52 см вод. ст. При застосуванні нових хімічних сполук у тварин було виявлено зниження комплаєнтності сечового міхура на тлі нормальної рефлекторності. Максимальна детрузорна ємність була на рівні (120 ± 12) см³, а максимальний детрузорний тиск сягав $(38,25 \pm 2,14)$ мм вод. ст.

Розроблені теоретичні основи можливого фармакологічного впливу на формування необладера, що ґрунтуються на врахуванні стадії його адаптації, функціонального стану м'язів, епітелію й особливостей впливу оригінальних хімічних сполук, застосованих для корекції контрактильної функції. Рекомендовано продовжити розробку хімічних сполук для можливого

впровадження в клінічну практику результатів подальших доклінічних досліджень профілю їхньої безпеки.

Ключові слова: артифіціальний сечовий міхур, експериментальне моделювання, детрузор, контрактильна функція, фармакологічний моніторинг.

Список публікацій здобувача

1. Савчук Р. В., Костев Ф. І., Шостак М. В., Жуковський Д. О. Моніторинг запобігання рецидиву поверхневого раку сечового міхура. *Здоров'я людини*. 2016. №1 (56). С. 146–149.

2. Савчук Р. В., Жуковський Д. О., Філіппов П. С. Оцінка мікробіоценозу ортотопічних і гетеротопічних сечових резервуарів та стратегія лікувальної тактики. *Урологія*. Т. 21. № 2'2017 (81). С. 21–26.

3. Savchuk R. V., Kostyev F. I., Zhukovskij D. A., Nasibullin B. A. Structural and functional transformation of the small intestine wall in the conditions of the functioning of the artificial urinary reservoir in the experiment. *Reports of Morphology*. 2018. Vol. 24, N 1. P. 28–33.

4. Energy homeostasis of the artificial bladder in experimental conditions / Savchuk R. V., Kostyev F. I., Dekhtiar Y. M., Zhukovsky D. A., Nasibulin B. A., Kuznietsov D. A. *Eureka: Health Sciencer*. Tallin, Estonia. 2018. P. 42–48.

5. Savchuk R. V., Zhukovsky D. O. Microbiological spectrum of orthotopic urinary reservoirs. *European Association of Urology 17th Central European Meeting (CEM)* (Pilsen, 19–20 oct. 2017).

6. Савчук Р. В., Жуковський Д. О. Модуляція скоротливої активності ізольованого сегменту тонкого кишківника *in vitro* (експериментальне дослідження). «Урологія, андрологія, нефрологія – 2017»: матеріали ювілейної науково-практичної конференції, присвяченої 50-річчю КЗОЗ «Обласний клінічний центр урології і нефрології ім. В. І. Шаповала» (Харків, 5–6 жовт. 2017 р.). Харків, 2017.

7. Савчук Р. В., Костев Ф. І., Філіпов П. С., Жуковський Д. О. Рак сечового міхура: вплив способу деривації сечі на ультраструктурні зміни слизової ileum. *Конгрес Асоціації урологів України: матеріали* (Київ, 14–16 черв. 2018 р.)

ANNOTATION

Zhukovsky D. O. Morphogenesis, function and methods of adaptation of the artificial bladder (experimental study). – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences (Doctor of Philosophy) in the specialty 14.01.06 – Urology (22 – Health Care). – Odessa National Medical University, Odessa; Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the experimental substantiation of the basic strategy in the methods of adaptation of the artificial bladder (AFM) on the basis of the study of morphogenesis and neoladder function under the influence of new chemical compounds that have combined anticholinesterase, nergetic and antihypoxic effects.

The study was performed on the basis of departments of the Department of Urology and Vivarium of ONMedU during 2014–2017. The study used 50 pigs weighing 5–12 kg, which were randomly divided into two study groups: I (control), which included 10 operated animals with experimental ileocystoplasty, which did not receive any chemical compounds, and II (main), which included 40 pigs. , which were administered drugs. The main group, in turn, was randomly divided into 4 subgroups:

- subgroup 1 with the introduction of intraperitoneally synthesized chemical compound phenyl 2,2-dimethylhydrazinecarboxylate ($n = 10$);
- subgroup 2 with the introduction of intraperitoneally synthesized chemical compound N'-(4-(dimethylamino)benzylidene)benzhydrazide ($n = 10$);

- subgroup 3 with the introduction of intraperitoneally synthesized chemical compound 3- (dimethylamino) -phenyl 2,2-dimethylhydrazinecarboxylate (n = 10);
- subgroup 4 with the introduction of intraperitoneally synthesized chemical compound 3- (dimethylamino) -N' - (4- (dimethylamino) benzylidene) benzhydrazide (n = 10).

The selection of chemical compounds for the experiment was performed using LabScribe 2 software (iWorx Systems, Inc., USA).

At the stages of the study, the developed original experimental model of the artificial bladder in pigs was applied, which is performed by radical cystectomy with ileocystoneoplasty. Cystotonometry of the bladder was performed, the contractile activity of the neocyst wall was examined, rheographic assessment of microcirculation was performed, and biochemical and pathohistochemical studies were performed.

Simulation by cystectomy with ileocystoplasty according to Studer was performed on female pigs.

Cystotonometry of the bladder in animals was performed using infusion of the solution into the neocyst. Intravesical pressure was measured through an intraurethral catheter, which was connected via a three-way switch to the pressure sensor, 0.9 % sodium chloride, 0.1–0.15 ml/h, was used as the infusion solution. Maximum cystometric capacity (MCE) and maximum detrusor pressure (MDT) were determined.

Studies of contractile activity of the neocyst wall in vitro were performed by C. Y. Fry (2004).

The test compounds were used in the form of aqueous solutions in the range of molar concentrations of 10^{-1} – 10^{-7} mol / l. They were prepared by diluting working 10–1 M solutions of the corresponding compounds, the initial volume of each of which was 20 ml.

All compounds used in the work were synthesized at the Department of General Chemistry and Polymers of ONU I. I. Mechnikov, their composition and structure are established by a set of physicochemical research methods.

The content of oxidized and reduced forms of nicotinamide coenzymes (NAD) in the homogenate of AFM tissue was determined by the method of N. O. Caplan, M. Giotti (1958).

Succinate dehydrogenase, lactate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase activity were determined by ELISA.

The quantitative content of adenyl nucleotides (AMP, ADP, ATP) in the blood and homogenates of the tissue of the artificial bladder was evaluated using standard reagents Test combination company "Boehringer Mannheim" by the method of T. Bucher in the modification of D. Jaworek (1970).

Evaluated the histological picture of micropreparations from the artificial bladder in the dynamics after 3 and 6 months. with hematoxylin-eosin staining, according to Van Gizon.

After 1 month. after surgery, 6 months. and after 1 year in experimental animals received a portion of urine by catheterization, which was centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes From the formed precipitate were made smears, which were dried in air, then they were fixed in alcohol ether and stained with hematoxylin-eosin. Subsequently, the obtained drugs were examined using a light microscope. In each drug counted 5 fields of view (a total of at least 150 cells). Evaluated the number of lymphocytes, neutrophils, erythrocytes, as well as the number of epitheliocytes – superficial, intermediate and basal, which was judged by the manifestations of extracellular nature.

Depending on the results of randomization, experimental animals were injected intraperitoneally with solutions of compounds of the hydrazone group. Withdrawal from the experiment was performed by cervical dislocation.

The study was guided by modern bioethical requirements, adhering to the provisions of the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental or Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986), as well as the Law of Ukraine № 3447-IV "On the Protection of Animals from Cruelty".

Statistical processing of experimental studies and their graphical representation are performed using the standard application package Statistica 10.0 (Dell StatSoft Inc., USA). Nonparametric methods of analysis of variance and correlation were used. The null hypothesis was accepted at $p > 0,05$.

The experiment showed that morphological changes in the wall of the small bowel graft occur over several months and lead to the approximation of the histological structure of the layers of the neocyst wall to the structure of the autotopic urine bladder (AUB).

Thus, three months after the formation of AUB, changes begin, which consist of moderate hypertrophy of the muscular layer, compaction of the submucosal layer, deformation of lymphoid follicles of preserved Peyer's patches, degenerative changes in the epitheliocytes of the villi. These changes, due to the aggressive effects of urine, deepen over time, so after 6 months both macroscopically and at the microscopic level AUB was similar to autotopic in intact pigs. Under microscopy, the serous membrane was slightly thickened due to a significant number of fibrous bundles, there were hypertrophic changes in myocytes, while maintaining the bilayer of the muscle layer.

After 12 months, after the formation of the AUB, significant changes in its structure were determined. The changes described above are deepening. There is plethora of blood vessels, there is fibrosis. Peyer's patches disappear, a small number of small, deformed lymphoid follicles with a thin torn periphery and a small loose center are identified. At this stage of the study there is no fold, characteristic of the original intestine. The villi were transformed into papillary formations, the crypts were completely absent. In general, the AUB epithelium resembled a normal urothelium in structure. These results indicate a fairly deep structural and

morphofunctional changes in the epithelium of the intestinal graft. Term of full adaptation of AUB – 6 months.

The described morphological changes are accompanied by functional ones. The results of cystotometry show that, depending on the duration of the study and the experimental compound used, the MCE is from 70 to 150 cm³, and the MDT is 7.36–38.25 cm water Art. When using drugs with procontractile activity, the phenomena of terminal detrusor hyperactivity were observed.

Screening of the constrictive properties of new chemical compounds demonstrated the feasibility of studying and the greatest effectiveness of three chemical compounds: phenyl 2,2-dimethylhydrazinecarboxylate (PDHC); N'- (4-(dimethylamino) benzylidene) benzhydrazide (DBBh), N-dimethylcarbamyldiazide (4DCh) The most pronounced stimulating effect was observed at concentrations above 10⁻³ M.

Screening of the antispasmodic properties of the test compounds also demonstrated their presence in 3- (dimethylamino) -phenyl 2,2-dimethylhydrazinecarboxylate (DPDHC) and 3- (dimethylamino) -N'- (4-(dimethylamino) benzylidene) benzhydrazide (DDBBh). The determined antispasmodic effect was dose-dependent, maximum values were inherent in concentrations above 10⁻² M.

The results of our studies showed that the formation of an artificial bladder in experimental animals by a fragment of the ileum changes the composition of the cells of the mucous membrane of the urine. These changes are an increase in the content of erythrocytes, a decrease in the number of lymphocytes and neutrophils, a change in the number of epitheliocytes.

With increasing duration of the postoperative period there is a change in the cellular composition of the sediment. This is manifested in the reduction and even disappearance of erythrocytes in smears. The number of lymphocytes and neutrophils is close to that observed in intact animals. The content and ratio of epithelial cells also

approach that of intact animals. Because the structure of the organ and its function are closely linked, we believe that the tissues of the intestinal wall adapt to new conditions.

The described changes were accompanied by a decrease in the content of adenyl nucleotides, which can be considered a manifestation of an imbalance in the ATP-ADP-AMP system as a consequence of tissue ischemia and depletion of macroerg reserves used to ensure contractile activity of the detrusor. To correct the detected disorders in the activity of macroergic adenyl compounds, it is advisable to use chemicals that can affect the contractile activity of neocysts, including hydrazone derivatives.

The created experimental model of the artificial bladder in pigs is adequate to study the morphofunctional changes of the neocyst in the dynamics of adaptation of the graft to function as a component of the urinary system, including to provide a micturition reflex. During the formation of a neocyst, its wall under the action of an aggressive environment undergoes a gradual morphogenesis aimed at the formation of an epithelium similar in its properties to the transitional one. The possibility of pharmacological regulation of contractile function and adaptation of neocysts in the dynamics, for which new chemical compounds – hydrazone derivatives – have been developed and introduced into experimental research, remains.

After 3 months. after the creation of a neocyst, the use of the studied group of chemical compounds had practically no effect on the activity of macroergic compounds in different layers of the neoloader. After 6 months. the concentration of ATP increased from (0.95 ± 0.06) to (1.03 ± 0.07) nmol / g, and after 12 months. – up to (1.08 ± 0.06) nmol / g ($p < 0.05$). The obtained experimental data testify to rather deep structural and morphofunctional changes of an epithelium of the site of a gut transplanted at creation of AFM. During the year after the intervention, the epithelial elements are remodeled.

When studying the nature of the influence of the new chemical compounds studied by us on the processes of energy metabolism and hypoxia of neocyst in animals with artificial bladder, it was found that phenyl 2,2-dimethylhydrazinecarboxylate (PDHC) and N'- (4- (dimethylamino) benzylidene) benzhydrazide (DBBh), which at a concentration of 10^{-3} M increase the contractile activity by (53 ± 5) and (54 ± 4) %, respectively, the amplitude of contractions – by (59 ± 12) and (49 ± 14) %, the frequency of contractions – by (48 ± 6) and (31 ± 5) %, respectively. Of the studied new chemical compounds, antispasmodic properties with tropism to the ileum can be distinguished in two substances: 3- (dimethylamino) -phenyl 2,2-dimethylhydrazinecarboxylate (DPDHC) and 3- (dimethylamino) -N'- (4- (dimethylamino) benzylidene) benzhydrazide (DDBBh), which reduce hypertension by (50 ± 4) and (40 ± 3) % respectively.

The maximum cystotonometric capacity was from 70 to 150 cm³, and the maximum detrusor pressure was from 10 to 52 cm of water. Art. The use of new chemical compounds in animals revealed a decrease in bladder compliance against the background of normal reflexivity. The maximum detrusor capacity was at the level of (120 ± 12) cm³, and the maximum detrusor pressure reached (38.25 ± 2.14) cm water Art.

Theoretical bases of possible pharmacological influence on the formation of neoplader are developed, based on the stage of its adaptation, functional state of muscles, epithelium and features of influence of original chemical compounds used for correction of contractile function. It is recommended to continue the development of chemical compounds for possible implementation in clinical practice of the results of further preclinical studies of their safety profile.

Key words: artificial bladder, experimental modeling, detrusor, contractile function, pharmacological monitoring.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ.....	19
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН РОЗВИТКУ ПРОБЛЕМИ.....	27
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ	62
2.1 Програма дослідження	62
2.2 Експериментальне моделювання ортотопічного сечового міхура	63
2.3 Інструментальні методи дослідження.....	64
2.4 Біохімічні дослідження.....	68
2.5 Морфологічні дослідження.....	73
2.6.Цитологічні методи дослідження осаду сечі	74
2.7 Статистична обробка	74
РОЗДІЛ 3 ПРОЦЕСИ АДАПТАЦІЇ СТІНКИ АРТИФІЦІАЛЬНОГО СЕЧОВОГО МІХУРА В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ.....	75
3.1 Ілеоцистопластика в експерименті.....	75
3.2 Морфогенез стінки тонкокишкового неоцисту в ролі сечового резервуара.....	79
3.3 Цитологічний профіль ортотопічного сечового	
міхура в динаміці	96
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА НОВИХ ХІМІЧНИХ СПОЛУК – ПОХІДНИХ ГІДРАЗОНІВ ТА ОЦІНКА ЇХ ЦИСТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ	104
4.1 Розробка нових хімічних сполук – похідних гідразонів та оцінка їх впливу на функціональні властивості необладера.	104

4.2 Експериментальна оцінка активності синтезованих хімічних сполук на біологічних тканинах тонкокишкового неоцисту ...	107
--	-----

РОЗДІЛ 5 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ЦИСТОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ХІМІЧНИХ СПОЛУК – ПОХІДНИХ ГІДРАЗОНІВ.....	125
5.1 Метаболічний профіль тканин тонкокишкового неоцисту на етапах формування властивостей сечового резервуара в експерименті	125
5.2 Цистопротекторна активність нових хімічних сполук – похідних гідразонів.....	127
РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	134
ВИСНОВКИ.....	145
ВИКОРИСТАНІ ІНФОРМАЦІЙНІ ДЖЕРЕЛА.....	147

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

АДФ	– аденозиндифосфат
АМФ	– аденозинмонофосфат
АСМ	– артифіціальний сечовий міхур
АСР	– артифіціальний сечовий резервуар
АТФ	– аденозинтрифосфат
БЦЖ	– вакцина Кальмета – Герена
ГДГ	– глутаматдегідрогеназа
ІЧ	– інфрачервоний
КУДД	– комплексне уродинамічне дослідження
ЛДГ	– лактатдегідрогеназа
МДС	– максимальна детрузорна ємність
МДТ	– максимальний детрузорний тиск
МЦЄ	– максимальна цистометрична ємність
НАДН	– нікотинаміддинуклеотид
ОІЦП	– ортотопічна ілеоцистопластика
ПМР	– протонний магнітний резонанс
РСМ	– рак сечового міхура
РЦЕ	– радикальна цистектомія
СДГ	– сукцинатдегідрогеназа
СМ	– сечовий міхур
ХНН	– хронічна ниркова недостатність
ЦЕ	– цистектомія
ШКТ	– шлунково-кишковий тракт

- CD – cluster of differentiation
- SAR – structural architecture relationships
- SERCA – sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Рак сечового міхура (PCM) залишається актуальною проблемою, у зв'язку з неухильним ростом захворюваності та смертності [18, 19, 93, 114, 133]. В Україні кожного року реєструється близько 5 тис. нових випадків та 2,3 тис. смертей від даної патології [93].

На момент звернення у 75–80 % хворих на PCM пухлина локалізована в межах слизового або підслизового шару (Ta, T1, CIS). Серед хворих, яким виконана радикальна цистектомія (РЦЕ), у 57 % є первинна м'язова інвазія, а у 43 % відбувається прогресування хвороби після органозберігаючого лікування початково діагностованих м'язово-неінвазивних форм PCM. Майже 30 % пацієнтів з м'язово-інвазивним PCM на момент встановлення діагнозу мають невиявлені віддалені метастази, 25 % хворих піддаються радикальному оперативному лікуванню при вже наявному ураженні лімфатичних вузлів [14, 19, 61, 191].

У лікуванні інвазивного і поверхневого раку сечового міхура провідне значення мають хірургічні методи [114, 122]. Радикальна цистектомія є стандартом лікування м'язово-інвазивного раку сечового міхура [8, 19, 22, 32, 70, 121, 130, 145]. Показаннями до проведення цистектомії є: інвазивний PCM T_{2a}–T_{4a}, N₀–N_x, M₀, T₁G₃, поверхневі пухлини високого ризику та рецидиви поверхневих пухлин, рак *in situ*, резистентний до БЦЖ-терапії, а також поширені папілярні пухлини, невідкладні контролю за допомогою трансуретральної резекції та внутрішньоміхурової терапії [98, 102, 112, 141]. Радикальна цистектомія з ортотопічною ілеоцистопластиком є «золотим

стандартом» деривації сечі, на початок ХХІ ст. запропоновано понад 60 методик формування кондуїту [1, 11, 27, 35, 36]. Сьогодні з цією метою широко застосовують різні відділи шлунково-кишкового тракту (ШКТ): клубову, товсту кишку і навіть частину шлунка [171]. Для конструювання резервуара з кишки сегмент останньої детубуляризують, а далі зшивають у вигляді анастомозів, перетворюючи на ємність у формі кулі. При цьому досягається збільшення ємності, а також зниження внутрішньопорожнинного тиску.

Вивчення змін внутрішньоміхурового тиску та об'єму резервуарів, створюваних із інтактного (недетубуляризованого) ілеоцекального сегмента та детубуляризованої клубової кишки, виявило, що з часом ємність резервуарів збільшилася на 79 і 109 % відповідно [13, 14]. Детубуляризований резервуар передбачає не тільки велику ємність, низький тиск і здатність зберігати низький тиск при наповненні, а й здатність до зростання цих характеристик з часом [1, 2, 20, 52].

У міру накопичення досвіду операцій зі створення артифіціального сечового міхура (АСМ) закономірно виникав інтерес до характеру морфологічних змін його стінки при постійному контакті її з сечею [6, 10, 23, 46–49, 116]. У літературі є ряд згадок про можливий вплив сечі на слизову кишки. При цьому одні автори приділяють велику увагу вивченню метаболічних порушень після пластики сечового міхура (СМ) та їх корекції, а інші – морфологічній адаптації стінки використовуваної кишки [24].

Втім, у доступній літературі міститься обмаль відомостей про морфогенез неоцисту, функціональну пристосованість, залежність метаболічних порушень від морфологічної перебудови стінки штучного СМ, а його адаптація до впливу сечі взагалі не досліджувалась. Це зумовлено невеликою кількістю робіт з дослідження будови стінки ортотопічного сечового резервуара, особливо у віддаленому періоді [1, 5].

Однією з основних проблем післяопераційного періоду є нестабільність скоротливої здатності артифіціального сечового міхура, яку усувають застосуванням антихолінестеразних препаратів, що мають значну кількість побічних ефектів. Відсутність достатньої інформації про будову і функцію неоцисту, роль лікарських засобів в ефективній адаптації його функції визначила інтерес до даної проблеми та її новизну.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконано у відповідності з планом програми науково-дослідних робіт кафедри урології Одеського національного медичного університету «Феноменологія, топічна діагностика та лікування дисфункціональних больових синдромів тазових органів і нейрогенних порушень сечовипускання», № державної реєстрації 0112U00538. Здобувач є співвиконавцем науково-дослідної роботи.

Мета дослідження – експериментальне обґрунтування принципової стратегії в способах адаптації артифіціального сечового міхура на підставі вивчення морфогенеза та його функції під впливом нових хімічних сполук, які мають поєднаний антихолінестеразний, енерготропний та антигіпоксичний ефект.

Завдання дослідження:

1 Створити оригінальну експериментальну модель ілеоцистопластики на свинях і вивчити характерні морфофункціональні зміни артифіціального сечового міхура в динаміці.

2 Вивчити *in vitro* та *in vivo* особливості регуляції скоротливої функції та адаптації артифіціального сечового міхура в динаміці під дією нових хімічних сполук.

3 Вивчити характер впливу нових хімічних сполук на процеси енергетичного метаболізму та гіпоксії в тканинах артифіціального сечового міхура.

4 Розробити теоретичні основи метаболітної фармакорегуляції функції артифіціального сечового міхура й оцінити можливості її подальшого впровадження в клінічну практику.

Об'єкт дослідження: сечовий міхур, детубуляризована резектована ділянка.

Предмет дослідження: ортотопічна ілеоцистопластика, морфогенез та функція артифіціального сечового міхура, вплив хімічних агентів – похідних гідразонів на процеси ремоделювання й адаптація неоцисту в експериментальних умовах.

Методи дослідження: експериментальні (моделювання артифіціального сечового міхура), клініко-інструментальні та функціональні (цистотонетрія), дослідження скоротливої активності стінки неоцисту *in vitro*, клініко-лабораторні та біохімічні, морфологічні, статистичні, фармакологічний моніторинг.

Наукова новизна отриманих результатів. Доповнені та розширені існуючі уявлення про сутність морфологічних змін у стінці тонкокишкового трансплантата в якості артифіціального сечового міхура в динаміці спостереження, розкриті досить глибокі структурні та морфофункціональні зміни епітелію ділянки кишкового трансплантата, що підтверджує закономірність структурно-функціональної перебудови кишкового трансплантата в часі при ілеоцистопластичі за оригінальною методикою. Вперше проведено комплексне дослідження функції, структури кишкового трансплантата, *in vivo* розкриті характеристики основних біохімічних і нейрофізіологічних процесів, що забезпечують біоенергетичний обмін, процесів тканинного дихання та нейронної провідності у тварин з експериментальною ілеоцистопластикою. Сформульовано наукову концепцію щодо комплексної оцінки динаміки змін на етапах трансформації кишкового імплантанта в сечовий міхур.

На моделі створеного артифіціального сечового міхура у свиней експериментально обґрунтовані результати застосування нових хімічних сполук групи гідразонів, здатних впливати на скоротливі властивості м'язових волокон,

що можуть в подальшому розглядатись як приклад щодо доцільності створення нових лікарських засобів.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено експериментальну модель артіфіціального сечового міхура та вивчено динаміку патогенетичних змін при формуванні штучного детрузора з кишечника, що може служити базою для скринінгу лікарських засобів та розробки нових хімічних сполук, для подальшого впровадження їх у клінічну практику по створенню нових лікарських форм. Експериментально встановлено, що на ранніх стадіях післяопераційного спостереження у тварин відмічається превалювання дистрофічно-дегенеративних змін трансплантованого епітелію, що дає підставу припустити недоцільність застосування необґрунтованих доз уросептиків та протизапальних засобів у післяопераційному періоді в клінічній практиці.

Впровадження результатів дослідження в практику. Результати дисертаційного дослідження впроваджено у практику роботи науково-дослідних підрозділів Одеського національного медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського.

Особистий внесок здобувача. Разом з науковим керівником визначено мету і завдання дослідження, розроблено методичні підходи щодо їх реалізації. Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук, аналіз літератури за темою дисертації, виконав усі етапи експериментальних досліджень, провів аналіз і статистичну обробку отриманих результатів, написав усі розділи дисертації. Самостійно зробив висновки. Дослідження проведені на базі експериментально-біологічної клініки Одеського національного медичного університету. Цілеспрямований синтез хімічних сполук групи гідразонів виконано на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Співавтори опублікованих робіт надавали

консультативну допомогу.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та висновки дисертаційної роботи було оприлюднено та обговорено на міжнародній конференції СЕМ (Відень, 7–8 жовтня 2016 р.; Пльзень, 19–20 жовтня 2017 р.); науково-практичній конференції «X Ювілейний українсько-польський симпозіум «Урологія ХХІ століття» (Львів, 3–5 червня 2017 р.); науково-практичній конференції «Урологія, андрологія, нефрологія – 2017», присвяченій 50-річчю КУОЗ «Обласний клінічний центр урології і нефрології ім. В. І. Шаповала» (Харків, 5–6 жовтня 2017 р.); Конгресі Асоціації урологів України (Київ, 14–16 черв. 2018); «Актуальні питання наукових досліджень в умовах євроінтеграції» (Чернівці, 29–30 червня 2017 року).

Публікації. Результати дослідження опубліковані у 6 статтях у фахових виданнях, 5 тезах матеріалів науково-практичних форумів. За результатами дослідження отримано два патенти на винахід і один на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 170 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків.

Перелік використаних джерел складається з 202 найменувань: 78 латиницею та 124 кирилицею. Дисертація містить 8 таблиць, 3 схеми і 41 рисунок.

РОЗДІЛ I

СУЧАСНИЙ СТАН РОЗВИТКУ ПРОБЛЕМИ

Рак сечового міхура (PCM) є одним з найбільш поширених онкологічних захворювань [112]. За даними сучасних епідеміологічних досліджень, його частота у загальній структурі онкологічних захворювань становить не менше 3 %, а серед онкоурологічних хворих цю патологію має половина пацієнтів [38]. За оцінками Національного канцер-реєстру, у 2015 р. в Україні захворюваність на PCM становила 6,4, а смертність – 2,2 випадка на 100 тис. населення (світовий стандарт) [32]. На жаль, 20 % хворих гине впродовж року після виявлення PCM, а у 0,7 % захворілих діагноз виставляється лише посмертно. Найвищі рівні захворюваності притаманні чоловікам – в нашій країні хворих на PCM чоловічої статі у 7 разів більше, ніж жіночої (відповідно 13,5 та 1,9 випадка на 100 тис. населення). Вельми тривожними є дані щодо територіального розподілу PCM – найвищі рівні захворюваності реєструються в Одеській області (9,8 випадка на 100 тис. населення). У 2016 р. 75,1 % хворих на PCM в Україні мали I–II стадії хвороби, 14,5 % – III стадію, 6,8 % – IV стадію, а у 3,4 % визначити стадію захворювання було неможливо [32].

Світова статистика щодо PCM характеризується драматичністю [112]. Щороку реєструється близько 400 тис. нових випадків PCM, більше 130 тис. хворих помирає. Стійку тенденцію до зростання частоти PCM демонструють національні канцер-реєстри Китаю, США, Японії, ПАР, Австралії та деяких інших країн [109]. Причинами такого зростання є антропогенне забруднення довкілля, поширеність тютюнопаління, загальне постаріння населення [112, 137, 154]. У США в 2014 р. реєструвалося в середньому 19,8 випадка PCM на

100 тис. населення, а рівень смертності – 4,4 випадка на 100 тис. населення. Шанс захворіти на РСМ має кожний сороковий американець [112].

Незважаючи на значний прогрес у розробці ефективних засобів неoad'ювантної терапії [24], найбільш радикальним методом лікування РСМ залишається радикальна цистектомія [38], з подальшим формуванням на місці видаленого сечового міхура нового сечового резервуара зі збереженням керованого сечовипускання. Крім РСМ, існують й інші показання до радикальної цистектомії [36, 50, 77, 79–81, 95]. Це вроджені вади розвитку, стан після уретеросигмостомії, інкурабельні випадки нейрогенного гіперрефлекторного сечового міхура, наприклад при мієлодисплазії, мікроцистис внаслідок тяжкого інтерстиціального циститу, сечових норниць і травм, евісцерація органів малого таза при пухлинах кишечника, туберкульоз сечового міхура і пострадіаційний цистит та інші захворювання, що призводять до незворотної втрати резервуарно-евакуаторної функції СМ [106].

Хірургічні втручання, що супроводжувалися видаленням СМ, раніше розглядалися як тяжкі інвалідизуючі операції, пов'язані з високими показниками летальності, частим виникненням тяжких післяопераційних ускладнень і подальшим несприятливим прогнозом щодо якості та тривалості життя хворих. Це значною мірою було зумовлено як недосконалістю техніки виконання даних втручань, так і методів деривації сечі. Сучасні технології виконання великих втручань на органах малого таза, що супроводжуються цистектомією (ЦЕ), і методики реконструкції СМ принципово змінили ставлення до даних втручань і сприяли їхній популяризації. Ортотопічне заміщення СМ стало стандартною формою його реконструкції не тільки після ізольованих ЦЕ, виконаних з приводу РСМ, але і після евісцерації малого таза, виконаної у зв'язку з місцевопоширеним розповсюдженням пухлин інших

органів. Обґрунтуванням до вибору ортотопічної цистопластики є відпрацьована хірургічна техніка, низький ризик розвитку ускладнень і задовільні віддалені функціональні результати. Мета створення ортотопічних сечових резервуарів – максимальна медична і соціальна реабілітація хворих, яким виконана цистектомія. Це досягається формуванням необладера з достатньою ємністю, низьким внутрішньопросвітним тиском і адекватним захистом верхніх сечових шляхів [106, 114, 139].

Для ортотопічної реконструкції СМ використовують різні відділи шлунково-кишкового тракту: сегменти клубової кишки, висхідний, поперечний, низхідний і сигмоподібний відділи ободової кишки, іноді стінку шлунка. Найбільш поширеними методиками ортотопічної цистопластики у світі є техніки Camey, Hemi Kock, Hautmann і Studer [148].

Camey в 1958 р. вперше сформулював концепцію використання збереженого сфінктера уретри для регуляції утримання сечі після радикальної цистектомії [159]. Описана пізніше техніка ортотопічної ілеоцистопластики стала стимулом в бурхливому розвитку технологій ортотопічної клубово-кишкової пластики СМ [11, 14, 27, 28]. Запропонована ще наприкінці 50-х років ХХ ст. операція Camey I є технічно простою, але не дає задовільних функціональних результатів, тож нині являє, головним чином, суто історичний інтерес. Важливою подальшою модифікацією є операція Camey II, яка передбачає детубуляризацію і реконструкцію кишкового сегмента. Це дозволяє знизити перистальтичну скоротливість стінок резервуара та зменшити тиск в його просвіті, що суттєво поліпшує функціональні результати операції [59–65].

При ортотопічній ілеоцистопластиці за Hautmann створюється більш сферичний, ніж при операції Camey II, резервуар шляхом W-подібної техніки його формування. Це дозволяє досягти більшої ємності резервуара [59, 71], тому

багато дослідників вважає методику Hautmann найкращою серед способів ортотопічної ілеоцистопластики (ОІЦП).

Існує велика кількість способів континентної гетеротопічної інтестинопластики (Kock-pouch, Mainz-pouch, Le Bag та ін.), адаптованих до ортотопічної реконструкції. Так, континентна гетеротопічна сечова деривація, запропонована Kock, була адаптована автором і пізніше вдосконалена Ghoneim як ортотопічна методика [59, 80–84].

У 1988 р. Studer [88, 89] запропонував ортотопічне заміщення СМ тонкокишковим резервуаром низького тиску, який є вдосконаленим варіантом ортотопічної цистопластики Kock [59]. Відмінність даного методу полягає в тому, що у привідному тубулярному сегменті не формується клапан. Збережений привідний сегмент клубової кишки завдовжки 20 см запобігає виникненню рефлюксу в АСМ [91]. Втім, функціональні результати описаних методик ОІЦП мають як переваги, так і недоліки, що спонукає фахівців до пошуку нових підходів [194].

Сьогодні стало можливим обрати саме той метод сечової деривації, який дозволить виконати операцію з найменшим ризиком розвитку ускладнень і забезпечити найкращу якість життя пацієнта після операції з урахуванням конкретних умов та максимальною індивідуалізацією оперативного лікування [6, 69, 158]. Протягом останніх десятиліть перевагу віддають методикам Studer і Hautmann. Це зумовлено хорошою відтворюваністю хірургічної техніки і низькою частотою розвитку ускладнень. Проте і ці технології не позбавлені недоліків. Вони пов'язані з початково великою реабсорбційною площею кишкової слизової сформованих резервуарів, а також феноменом абдомінальної гіпертензії, зумовленої натягінням тканин, при формуванні резервуар-уретрального анастомозу, внаслідок надто короткої брижі тонкої кишки [199].

На сучасному етапі розвитку пластичної хірургії створення артифіціального неоцисту є «золотим стандартом» надміхурової деривації сечі, після радикальних операцій з приводу раку і хронічних декомпенсованих інкурабельних захворювань сечовивідних шляхів [164, 170].

Наприкінці ХХ ст. були сформульовані основні вимоги до артифіціальних сечових резервуарів. Це низький внутрішньопросвітний тиск, що не перевищує 20 мм вод. ст., ємність не менше 400–500 мл, відсутність ретроградної течії сечі, перистальтичних скорочень, надійне утримання сечі, функціональна і морфологічна адаптація, захист верхніх сечовивідних шляхів за допомогою адекватного антирефлюксного механізму, мінімальний ризик пухлинної інвазії. Таким вимогам відповідає створення сечових резервуарів з детубуляризованих сегментів товстої або тонкої кишки [1, 2, 5, 6, 132].

Найчастіше з цією метою використовується клубова кишка, але відомі й інші технічні підходи. В літературі опубліковано низку робіт, присвячених вивченню результатів використання сегмента шлунка для створення АСМ, в яких підкреслюється оптимальна динаміка його морфофункціональної адаптації з найменш вираженою тканинною і клітинною перебудовою [3, 60, 62, 96].

За час, що минув з моменту початку виконання операцій з формування АСМ, вдалося істотно поліпшити результати лікування. Так, летальність зменшилася з 30 до 4 %, вдалося значно покращити якість життя оперованих хворих [36]. Проте, ймовірність розвитку післяопераційних ускладнень після даного втручання, особливо у пацієнтів похилого та старечого віку, все ще істотна [187].

Ортотопічне заміщення сечового міхура обґрунтовано вважається найкращим на сьогоднішній день. Даний метод не тільки має більш низьку частоту ускладнень і гарні функціональні результати, але й забезпечує хворим

найкращу якість життя. Ортотопічне заміщення сечового міхура сприяє досягненню достатньої соціальної, психологічної адаптації та високої самооцінки [133, 191].

Для того, щоб поліпшити регенеративні властивості тканин, були запропоновані синтетичні і природні полімери, досліджені як замітники сечового міхура. Ці полімери можуть бути кон'юговані з функціональними молекулами, фортифіковані наночастками або пов'язані з екзогенними клітинами [6, 199].

Щодо біологічної функціональності існуючих моделей неоцисту, то вона потребує вдосконалення. У більшості досліджень автори досягли повної регенерації сечового міхура на моделях невеликих тварин із задовільним рівнем функціональності. Водночас, результати моделей на великих тваринах і клінічних випробувань людини не такі однозначні. Це зокрема стосується проблеми стандартизації технологій, які використовують для виготовлення біоматеріалу, введення до складу біополімерів включень біологічно активних сполук, плюрипотентних клітинних елементів та наночасток [1, 2, 6, 113, 199].

Ентероцистопластика при дефектах СМ не є оптимальною, тому що не дозволяє уникнути потенційних ускладнень, пов'язаних з патологічними змінами трансплантата, включаючи порушення метаболізму, збільшення вироблення слизу, утворення каменів, хронічні інфекції та розвиток злоякісних новоутворень [113]. Щоб звести до мінімуму або уникнути цих ускладнень, проводять дослідження альтернативних біоматеріалів для збільшення об'єму або заміни уражених патологічним процесом СМ [133, 191]. Біоінженерні каркаси для цистопластики повинні бути біосумісними для підтримки міграції, росту і диференціювання клітин, мати особливі механічні властивості щодо

резистентності до повторної багаторазової екстензії та дистензії стінок, не викликати запалення при імплантації [113, 160].

Під час регенерації сечового міхура відбувається ремоделювання морфологічних структур з повною та функціональною репопуляцією клітинних елементів [13, 16, 25]. Внаслідок міграції уротелію на біоматеріал та його диференціювання утворюється непроникний бар'єр для сечі, обмежується виток сечі, що в деяких випадках є причиною запалення та змін структури трансплантата [155].

Біотехнологічні каркаси (біоматриці та біодеградуючі полімери) для реконструкції СМ мають забезпечувати адекватний ангиогенез та регенерацію гладком'язових клітин. З цією метою розроблено кілька класів біоматеріалів, які використовують як трансплантати для реконструкції СМ. Це природні біоматеріали (підслизовий шар тонкої кишки свині [6], безклітинна матриця СМ [133, 191], амніотична мембрана [114] тощо), а також напівсинтетичні біополімери. Для зменшення ризику виникнення несприятливих реакцій імунної відповіді, пов'язаних з наявністю гетерологічних або ксеногенних компонентів трансплантата, застосовують спеціальні методи обробки, в тому числі децелюляризацію. Втім, навіть децелюляризовані біоматеріали зазвичай містять фактори росту, властиві тканинам, з яких вони отримані [6, 113]. Безклітинні екстрацелюлярні матриці також містять структурні молекули, включаючи колаген, фібронектин, еластин, фактори росту та ін. [113]. Всі ці молекули здатні керувати клітинною адгезією, процесами проліферації, міграції та диференціювання уротеліальних клітин, гладком'язових клітин, ендотеліоцитів та нейронів. Ці характеристики важливі для ремоделювання тканин і регенерації функціонального міхура після хірургічної реконструкції.

Проблеми імуногенного конфлікту змушують уникнути застосування синтетичних полімерів, які можуть мати задані властивості (мікроструктура, щільність, швидкість деградації) [6, 113]. До них належать синтетичні поліефіри, такі як полі(ε)-капролактон, полілактид, полігліколід, похідні полібутирату та гліколевої кислоти, поліуретан [133, 191]. Втім, фахівці вказують на такі недоліки синтетичних матеріалів, як структурна нестабільність, а також здатність індукувати запалення при вивільненні продуктів біодеградації [1, 2, 6].

На відміну від синтетичних полімерів, природні полімери, отримані з компонентів екстрацелюлярної матриці, мають природну біологічну активність та є більш стійкими. Найбільш дослідженими є матриці на основі глікозаміногліканів та колагену [133, 191]. Крім того, як біоматеріали для каркасів при моделюванні сечового міхура різні автори використовували альгінати, хітозан, желатин (денатурований колаген), фібрин і шовк [6]. Однак всім цим матеріалам притаманні такі недоліки, як недостатня стійкість до деформації, а також стимулювання клітинної проліферації [113].

В доступній літературі активно обговорюються перспективи застосування біоінженерних конструкцій на основі препаратів колагену із включеннями стовбурових клітин [133, 191]. Описані результати експериментів на дрібних ссавцях [191]. Але ці дані стосуються замісної цистопластики після резекції СМ, про АСМ не йдеться [1, 113].

Комплексна клініко-морфологічна оцінка різних варіантів артіфіціального сечового резервуара (АСР) на різних термінах функціонування показує, що оскільки адаптація до нових умов при всіх видах АСР є доброю і тенденції його слизової до пухлинної трансформації не виявлено, методом вибору при його створенні залишається ілеоцистопластика [7], а

альтернативними варіантами – гастроцистоластика і сигмоцистоластика [23, 37, 70].

В роботі [117] проведено порівняння традиційного і двоетапного формування ортотопічного сечового резервуара після радикальних цистектомій і уретерокутанеостомії. Автори вивчали умови та особливості виконання операції за наявності причин, що ускладнюють виконання одномоментних операцій (тяжкий стан хворого, операція за екстремими показаннями при вираженій анемії і гіпоальбумінемії, полілімфаденопатії, недостатність оперативного досвіду в хірургів). Оперативне втручання проводили в два етапи, етап формування ортотопічного неоцисту був відстрочений у 8 випадках до 6 міс., в 2 – до 9 міс. Всім 10 хворим виконували операцію за методикою Studer. На думку авторів, хворі з уретерокутанеостомією після радикальної цистектомії можуть бути піддані пластичній операції, а саме – відведенню сечі в континентний ортотопічний резервуар. Подібне втручання потребує дотримання певних технічних умов, а спектр ускладнень при цьому менше, ніж у хворих після одноетапного хірургічного втручання.

Як показав В. А. Фадєєв [58, 62, 115], для формування ортотопічного неоцисту з точки зору уродинаміки, метаболічних наслідків найбільш виправдане виконання операції з використанням спеціально оброблених відділів шлунково-кишкового тракту: шлунок, ділянка клубової кишки, ілеоцекальний відділ кишечника, сигмоподібна або пряма кишка. Так, при хронічній нирковій недостатності з рівнем креатиніну вище 160–200 мкмоль/л для профілактики метаболічного ацидозу доцільно використовувати сегмент шлунка. Сигмоцистоластика показана тільки при початково нормальній кислотно-лужній рівновазі і наявності доліхосигми [76].

Найбільш адекватне функціонування АСМ досягається до кінця першого року після операції [60]. За даний період неоцист набуває оптимальних уродинамічних характеристик. У віддалені терміни (6–10 років) достовірних змін показників функціональної активності штучного сечового міхура не спостерігається [72, 133].

Існують певні гендерні відмінності при створенні АСМ [76, 152, 183]. Ортотопічна цистопластика у жінок виконується лише друге десятиріччя [24, 76], тобто наявного досвіду недостатньо, щоб детально дослідити причини і виявити фактори ризику розвитку ускладнень, до яких належать хронічна затримка сечовипускання, нетримання сечі, формування резервуарно-вагінальної нориці [114, 133].

Найближчі та віддалені результати радикальної цистектомії у жінок виявилися дещо кращими, ніж у чоловіків. Так, ранні післяопераційні ускладнення розвинулися у 23,9 % жінок і у 31,4 % чоловіків, пізні – у 36,0 і 41,3 % відповідно. Летальних випадків в ранньому післяопераційному періоді у жінок не було. Для досягнення оптимальної функції нижніх сечовивідних шляхів у жінок рекомендовано виконання ортотопічної цистопластики сегментом клубової кишки [76].

Критеріями відбору пацієнток для ортотопічної цистопластики поряд з онкологічними аспектами є також результати комплексного уродинамічного дослідження (КУДД), що дозволяє розглядати стресове нетримання сечі III типу з явищами недостатності сфінктера і пролапс тазових органів III–IV ступеня як протипоказання до виконання даної операції [24, 76, 152]. Нервозберігаюча радикальна цистектомія зі збереженням внутрішніх геніталій у жінок дозволяє досягти кращого функціонування нижніх сечових шляхів. Це пов'язано з відсутністю зміщення резервуара дорсально і каудально по відношенню до

резервуарно-уретрального анастомозу, незначністю резервуарно-уретральної ангуляції, а також збереженням автономних нервів передньої стінки піхви. Показники уродинаміки неоцисту, зокрема утримання сечі, у жінок і чоловіків є порівнюваними і мають загальні тенденції до поліпшення протягом найближчого року після операції [152].

Як показала Н. В. Бодарева [11, 13, 14], тонкокишковий АСМ характеризує рання і виражена перебудова архітекtonіки слизової оболонки, пов'язана з прогресуючою атрофією і редукцією ворсинчастих структур з послідовним формуванням безворсинчастої поверхні. Для морфогенезу неоцисту є характерним випереджаюче заміщення спеціалізованих облямованих ентероцитів келихоподібними клітинами, з секрецією сіаломуцинів, які мають захисну функцію. При цьому кількість крипт та їхні морфологічні характеристики тривалий час не змінюються, на фоні переважання келихоподібних клітин зберігаються характерні для цього відділу ШКТ нейроендокринні клітини [13]. Товстокишковий і шлунковий АСМ, на відміну від тонкокишкового, характеризує стійке збереження типової архітекtonіки слизової оболонки і залоз [13, 14].

Для всіх варіантів АСМ, незалежно від термінів функціонування, характерна відсутність морфологічних проявів запалення. При цьому завжди переважає інфільтрація строми клітинами лімфоїдного ряду, експресуючими маркери CD8⁺ і CD20⁺ з найбільш високими проявами в тонкокишковій АСМ, менш вираженими при сигмоцистопластиці, вогнищевими – при гастроцистопластиці. Показники стромальної лімфоїдної інфільтрації поєднуються з постійною наявністю клітин Кахаля і їх кореляцією з робочою гіпертрофією м'язового шару АСМ [133, 191].

Це теж відображає захисно-пристосувальну сутність процесів ремоделювання АСМ. При дослідженні адаптації неоцисту протягом післяопераційного періоду не виявлено ознак аденоматозної гіперплазії, дисплазії та/або морфогенезу ранніх етапів пухлинної трансформації [133, 191].

В кишковому сечовому міхурі, при збереженні його органної організації, в ранні терміни (3–6 міс.) виникає атрофія ворсинчастих структур з наростанням їх редукції до пізніх термінів в переважній більшості описаних випадків. Атрофічний процес супроводжує гіперплазія келихоподібних клітин з витісненням облямованих ентероцитів і утворенням одношарової вистилки келихоподібними клітинами в терміни 36–84 міс. після операції. Келихоподібні клітини продукують значну кількість сіаломуцинів, що відрізняє келихоподібну перебудову в АСМ від товстокишкової метаплазії [133, 191].

Крипти тонкокишкового резервуара характеризуються значною морфофункціональною стійкістю. В ранні терміни спостерігається гіперплазія крипт, а у пізні – їхня атрофія різного ступеня без вираженої редукції об'єму тканини зі збереженням клітин Панета і переважанням келихоподібних клітин [133, 191]. При імуногістохімічному дослідженні АСМ встановлено, що незалежно від варіанта і термінів функціонування в його стінках спостерігається високий рівень експресії маркерів проліферації (Ki67), апоптозу (p53, BAX, Bcl-2), визначаються біомаркери явищ епітеліоцитарного і нейроендокринного диференціювання (цитокератин, хромогранін А, синаптофізин), ознак кооперації імунокомпетентних клітин строми Т- і В-лімфоцитів (CD8+, CD20+), що відображає захисні біологічні особливості адаптаційної перебудови АСМ [133, 191].

Визначено також, що у ранні терміни після операції спостерігається висока активність апоптозу, яка знижується через 5–6 років. При

ілеоцистопластиці виявлена пряма залежність метаболічних змін від тривалості післяопераційного періоду, що корелює зі ступенем морфологічних змін. Збільшення процентної кількості келихоподібних клітин протягом першого року після операції спричинює створення захисної поверхні від шкідливої дії компонентів сечі і зменшення метаболічних ускладнень за рахунок зниження всмоктуваності [133, 191].

До нинішнього часу накопичений певний хірургічний досвід використання сегмента клубової кишки для заміщення сечового міхура. Однак у переважній більшості опублікованих робіт клінічні спостереження з паралельним морфологічним дослідженням проведені тільки в ранні терміни після втручання. Мало публікацій дають інформацію про морфологічну перебудову у віддаленому післяопераційному періоді [133, 191]. Крім того, часто фактичний матеріал публікацій про морфологію кишкового резервуара є неоднорідним і суперечливим.

Донині неясно, яким чином слизова клубової кишки протистоїть гіперосмолярності сечі, її кислому середовищу. Лише дуже небагато досліджень деякою мірою висвітлюють це питання. Ймовірно, речовини, що містяться в сечі, а також кисле середовище сечі пошкоджують епітеліальні клітини, які потім втрачають мікрроворсинки в результаті прямої токсичної дії [133, 191].

Одні дослідники розглядають морфологічні зміни епітеліальних структур неоцисту як метапластичний процес [133, 191], інші – як морфофункціональну адаптацію в нових умовах. На користь адаптивної сутності процесу свідчать електронно-мікроскопічні дані про збільшення кількості десмосом в «примітивних» ентероцитах при збереженні їх фенотипічних ознак, які корелюють зі зниженням абсорбційної функції, редукцією глікокаліксу, зниженням секреторної функції [133, 191]. При цьому автори відзначили

відсутність морфологічних проявів метаплазії і дисплазії як в ранньому, так і в пізньому післяопераційному періоді.

М. Carini et al. [136] виділяють два періоди перебудови стінки резервуара: ранній – пов’язаний з контактним впливом сечі і розвитком гострого запалення, і пізній – характеризується зниженням диференціювання ентероцитів, редукцією апікального глікокаліксу, збільшенням міжклітинних просторів. Морфофункціональні особливості пізньої стадії вважають проявом збільшення протективної і зниження абсорбційної функцій слизової АСМ.

Найбільш виражені зміни спостерігалися наприкінці першого року після операції. Через півроку після операції виявлено редукування покривних клітин, кількості і висоти ворсин, а через 12 міс. спостерігається відсутність глікокаліксу, зниження слизоутворення. Однак цитоплазматичні органели ще зберігають архітектурні риси ентероцитів. Кишковий фенотип в неоцисті зберігається, зменшуються кількість і висота ворсинок. Згодом відбувається сплюснення слизової з тенденцією до тотальної атрофії, є можливість розвитку вогнищевих сосочкових структур [133, 191]. Ці зміни були відзначені авторами через 4 роки після заміщення сечового міхура.

Встановлено ряд типових змін слизової сегмента тонкої кишки в складі неоцисту. До них належать зміни одношарового епітелію, зміна співвідношення келихоподібних клітин і ентероцитів, виразна гіперплазія келихоподібних клітин в перші 2 роки, зміна висоти ворсин і глибини крипт зі сплюсненням слизової до 2–3 років, з вираженою редукцією слизової і секреторною функцією в пізні терміни [133, 191]. Через 3 міс. після цистопластики в складі епітелію відзначається переважання епітелію покривно-ямкового типу з циліндричними і келихоподібними клітинами, кількість яких чітко збільшується. В термін до 6 міс. відбувається добре помітне скорочення і стовщення ворсин, їх

згладжування, розширення і нерівномірний розподіл крипт, зменшення слизоутворення, а також стовщення власної м'язової пластинки. У більш пізні терміни вже формується «примітивний» епітелій, подібний до уротелію з наявністю невеликої кількості келихоподібних клітин, які підтверджують залозистий тип епітелію. На підставі цих даних з вивченням морфології ортотопічного резервуара в терміни 1–96 міс. автори виділяють 2 різні періоди за характером морфологічних процесів: 1–24 міс. – фаза запалення, 24–48 міс. і пізніше – фаза атрофії зі зниженням абсорбції.

Багато авторів пропонують ранній період вважати запальним, або контактним, пов'язаним із впливом і транспортом сечі [133, 191]. Однак підтвердженням цього є лише клітинна, стромальна інфільтрація без кількісної та якісної її оцінки в сукупності з властивим запаленню комплексом судинних і дистрофічних порушень на тканинному рівні. Роботи з порівняльним вивченням і аналізом стромальної клітинної реакції і морфофункціональної перебудови епітеліальних структур в ранньому і пізньому періоді еволюції АСМ практично відсутні.

У доступній вітчизняній літературі недостатньо даних про морфологічні зміни в стінці шлунка, використовуваного для пластики СМ. Морфологічна характеристика сечового резервуара з сегмента шлунка дається лише в поодиноких опублікованих роботах [133, 191]. Адаптаційні властивості слизової шлункового неоцисту значно вище, ніж у клубової і сигмоподібної кишки. Пристосовні процеси в сегменті шлунка характеризуються збереженням нормальної архітектоніки навіть через 8–10 років після втручання, значно підвищеною проліферативною активністю і зниженням рівня апоптозу, що зумовлює схильність до гіперпластичних процесів [133, 191]. Морфофункціональні особливості адаптаційного процесу характеризуються:

постійністю збереження органної будови сегмента, з наявністю камбіальних відділів, клітинним відтворенням (епітеліоцитів, нейроендокринних елементів, клітин Панета), збереженням лімфоїдного апарату слизової оболонки, незмінним переважанням в стромальному клітинному інфільтраті клітин лімфоїдного ряду, робочою гіпертрофією м'язового шару АСМ.

Шлунковий сечовий резервуар відрізняється від тонкокишкового також більш вираженими адаптаційними властивостями в усі терміни дослідження. Такі негативні явища, як вогнищева атрофія, аденоматозна гіперплазія епітелію і кишкова неповна метаплазія були виявлені лише в 20 % випадків. Патоморфологічні зміни слизової шлунка в різні терміни після гастроцистопластики характеризуються збереженням нормальної архітектоніки стінки резервуара. Клітинний склад власних залоз шлунка навіть через 2 роки залишався практично незмінним, відзначалася вогнищева гіперплазія залозистого епітелію, причому морфологічні прояви метаплазії були відсутні [133, 191]. У камбіальних зонах шлункового резервуара встановлена однотипна тенденція до експресії білків-регуляторів апоптозу Bcl-2, p-53 і проліферації Ki-67: сталість високої активності апоптозу в ранні терміни, зниження кількісних показників апоптозу і підвищення експресії маркера проліферації через 3,5 року [95, 96].

Ортотопічний тонкокишковий і шлунковий сечовий резервуар характеризуються розвитком комплексу морфофункціональних процесів адаптаційного, захисного, компенсаторно-пристосувального характеру, що відображає як відсутність стимулів для типового функціонування, так і нові умови середовища з його ушкоджуючими факторами [133, 191].

Для визначення оптимальної ділянки кишечника для пластики сечового міхура практичне значення має врахування особливостей скоротливої функції

різних відділів шлунково-кишкового тракту. При експериментальному дослідженні з'ясовано, що в разі субтотальної резекції сечового міхура доцільне використання сегмента товстої кишки через його хорошу резервуарну функцію й особливість низькоамплітудних скорочень, а для тотального заміщення сечового міхура необхідний ізольований сегмент тонкої кишки, з огляду на його велику скоротливу здатність і вираженість фазних і тонічних реакцій [133, 191].

За даними літератури, кожен третій пацієнт після ЦЕ помирає через недосконалість методів деривації сечі. Крім пієлонефриту і ниркової недостатності, причинами загибелі і великої кількості ускладнень у пацієнтів після інтестиноцистопластики є неспроможність кишкових анастомозів, перитоніт, кишкова непрохідність, некроз трансплантатів, спонтанний розрив кишкового резервуара, стенози анастомозів. З огляду на технічну складність оперативних втручань, існує ризик і таких періопераційних ускладнень, як стриктура та/або обструкція (закупорка) сечоводів, нетримання сечі, формування конкрементів (каменів) у порожнині резервуара. Особливого значення набуває своєчасна діагностика ранніх і пізніх ускладнень цистопластики, в тому числі таких рідкісних, як розрив неоцисту, формування резервуарно-шкірних і резервуарно-вагінальних нориць. Серед ускладнень після операції цистектомії зустрічаються кровотеча, інфекційні ускладнення, розвиток стриктур сечоводів. Крім того, втручання на шлунково-кишковому тракті можуть супроводжуватися специфічними для них ускладненнями: неспроможністю анастомозу, його звуженням тощо. Профілактика, своєчасне виявлення ускладнень, їхня ефективна корекція є важливими умовами реабілітації таких хворих [6, 62].

Специфічним ускладненням радикальної цистектомії у жінок є резервуарно-вагінальна фістула, яка формується тільки у пацієнток з

видаленням внутрішніх геніталій та резекцією стінки піхви, і розцінюється, на відміну від усіх вагінальних нориць, не як наслідок ятрогенних ушкоджень, а як ускладнення виконаної операції. Її утворенню сприяє також порушення спорожнення резервуара [11, 45, 62].

Після операції можуть виникати різні розлади сечовипускання, порушення сексуальної функції, механічна і динамічна кишкова непрохідність, синдром мальабсорбції [62, 81, 88]. Для оптимальної реабілітації хворих з досягненням хорошої якості життя важливі нормальна функція утримання сечі, довільне сечовипускання і здатність до статевого життя.

Оцінка результатів різних варіантів цистопластики визначається сукупністю клініко-морфологічних показників: частотою і характером ускладнень, порушенням гомеостазу, якістю уродинаміки, розвитком запалення, ризиком пухлинної трансформації [104, 110, 151]. Важливою проблемою переважно ранніх етапів цистопластики є порушення гомеостазу з розвитком метаболічних ускладнень: гіперкаліємії, гіпернатріємії, гіперхлоремії, порушенням кислотно-лужного стану та електролітного балансу крові. Ризик розвитку метаболічних порушень найбільш характерний для тонкокишкової цистопластики, у зв'язку зі специфічною функцією тонкої кишки (всмоктування, секреція, пристінкове травлення) з додатковим ушкодженням неоцисту сечею [7, 13, 133]. Рідше вони спостерігаються при товстокишковій цистопластиці і ще більш рідкісними вони є при гастроцистопластиці [13, 14, 35, 46, 166].

Потенційними побічними ефектами використання сегмента шлунка для заміщення сечового міхура є дефіцит вітаміну B₁₂, зниження секреції соляної кислоти, гіпергастринемія, синдром гематурії-дизурії і метаболічний алкалоз [27, 74, 185, 200]. В шлунковому резервуарі незалежно від функції нирок

відбувається зниження рівня хлоридів у крові з одночасним підвищенням концентрації бікарбонатів [27, 74, 79]. При вираженій хронічній нирковій недостатності (ХНН) порушення секреції бікарбонатів на фоні триваючої втрати хлоридів може досягти критичного рівня і призвести до розвитку тяжкого гіпокаліємічно-гіпохлоремічного метаболічного алкалозу [88, 176].

У зв'язку зі шкідливою дією сечі і стійкою бактеріурією в літературі постійно обговорюється питання про біологічну суть стромальної клітинної інфільтрації, яку розглядають як прояв гострого і хронічного запалення з виділенням в АСМ ранньої запальної стадії [6, 27, 30, 57].

Проведене дослідження з порівнянням клініко-морфологічних, імуногістохімічних, бактеріологічних показників дозволяє вважати стромальні зміни одним із проявів адаптаційного, захисно-приспосувального процесу в нових умовах функціонування неоцисту незалежно від його варіанта. Це підтверджується встановленою постійністю переважання кооперації імунокомпетентних клітин в стромальному інфільтраті (кількість Т- і В-лімфоцитів, що експресують CD8+ і CD20+, плазматичних, тучних клітин варіює в ранні та пізні терміни, їх співвідношення змінюється, але вони завжди переважають незалежно від варіанта АСМ). Нейтрофільні й еозинофільні лейкоцити непостійні, нечисленні, осередки гнійної деструкції відсутні. При сталості стромальної клітинної інфільтрації характерна відсутність тенденцій до склерозу, склеротична деформація відсутня, незалежно від варіанта цистопластики і термінів функціонування АСМ [58, 59, 64, 109].

При радикальній цистектомії і ортотопічній неоцистопластиці у 80 % пацієнтів спостерігаються ускладнення в перші 12 тиж. після операції, при цьому в 35 % випадків – це серйозні ускладнення. Летальність, пов'язана з ускладненнями кишкової пластики сечового міхура в ранньому

післяопераційному періоді, вдалося останніми роками знизити до 1–4 %, рівень післяопераційної смертності в межах 5 % донині вважається прийнятним. Водночас при розвитку пізніх ускладнень рівень летальності становить, за даними різних авторів, від 10 % і більше. За результатами одинадцятирічного спостереження, частота розвитку пізніх післяопераційних ускладнень, пов'язаних зі штучним сечовим міхуром, сягає 23,4 % [13].

За даними інших авторів, пізні післяопераційні ускладнення становлять 11–70 %. Найчастіше зустрічається пієлонефрит – до 10 %, в поєднанні з гідронефрозом або окремо, що призводить до розвитку хронічної ниркової недостатності [110].

У ранньому періоді після радикальної цистектомії з ортотопічною цистопластиком превалюють загальнохірургічні і серцево-судинні ускладнення (15,2 %), тоді як у віддаленому періоді домінують специфічні наслідки деривації сечі. Розрив артифіціального сечового міхура може спостерігатися у віддаленому періоді менш ніж у 2 % хворих. Причини його розвитку полягають у відсутності нормального позиву на сечовипускання у пацієнтів з ортотопічним неоцистом, перерозтягненні й ішемізації його стінки в результаті переповнення [27].

Використання клубової кишки для створення штучного сечового міхура пов'язане з більш високим ризиком розвитку порушень кислотно-основного та електролітного балансу, при цьому простежується чітка залежність метаболічних розладів від ступеня морфологічної перебудови слизової обраного сегмента в післяопераційному періоді. Розвиток порушень метаболізму є найбільш імовірним в перший рік після операції, особливо за наявності порушення спорожнення неоцисту. При гастроцистопластиці вплив на кислотно-лужний стан незначний, не залежить від тривалості післяопераційного

періоду. У жінок більш виражений негативний вплив стандартної радикальної цистектомії на уретральну уродинаміку у вигляді значного зниження максимального уретрального тиску і зменшення функціональної довжини уретри. Розроблені нервозберігаючі методики в поєднанні з ортотопічною цистопластикою дозволяють поліпшити ці показники, що позитивно позначається на післяопераційному утриманні сечі, отже, на якості життя пацієнток. У жінок частіше зустрічається хронічна затримка сечовипускання (24,6 %), особливо після виконання класичної радикальної цистектомії з видаленням внутрішніх геніталій. Важливу роль при цьому відіграє вихідне опущення передньої стінки піхви [202].

В. В. Рогачиков запропонував алгоритм оцінки функціональної здатності АСМ, який, об'єднуючи різноманіття отриманих в результаті дослідницької роботи суб'єктивних і об'єктивних параметрів, дозволяє достовірно визначити придатність використовуваних для реконструкції сегментів товстої і тонкої кишки, а також ефективність застосованих нами методик формування ортотопічного резервуара [99]. Вивчення уродинамічних показників дозволило оцінити функціональні можливості тонко- і товстокишкового резервуарів з точки зору динаміки змін накопичувальної, евакуаторної функцій, а також відновлення функції механізму утримання сечі. Цистометричний об'єм резервуарів збільшується до 12 міс. спостереження в середньому в 2,5 разу, що поряд зі зниженням внутрішньоміхурового тиску забезпечує поліпшення функції утримання сечі у більшості пацієнтів і низьку ймовірність пошкодження верхніх сечових шляхів. Якісні функціональні характеристики АСМ найбільш динамічно відновлюються у пацієнтів зі збереженим механізмом утримання сечі [99, 140].

Нормалізація діяльності механізму утримання сечі у більшості пацієнтів відбувається протягом 1 року після операції. Пластичний матеріал і методика формування ортотопічного резервуара практично не впливають на швидкість і ступінь відновлення функції утримання сечі [9, 13].

Деякі автори вважають методику ілеоцистопластики за Hautmann оптимальною, бо вона дозволяє конструювати резервуар сферичної форми, який забезпечує більший об'єм при низькому внутрішньопросвітному тиску, що впливає на поліпшення накопичувальної функції і зниження ймовірності розвитку нетримання сечі в післяопераційному періоді. Функціональні результати операції багато в чому залежать від техніки формування резервуара, а в подальшому – від його анатомічних характеристик [13, 27, 36, 57, 133, 191].

Виявлені закономірності морфологічної перебудови кишкового епітелію АСМ надали можливість визначити її фазовий характер і оцінити ступінь вираженості змін секреторно-абсорбційної та бар'єрної функцій, а також тривалість і швидкість адаптації до агресивного впливу сечі. Відмінною особливістю досліджуваних типів резервуарів є наявність вираженої запальної реакції епітелію тонкої кишки і відсутність атрофічної трансформації у більшості пацієнтів після сигмоцистопластики [56–59, 64, 90].

Порівняльний аналіз протективної, евакуаторної та накопичувальної функцій створених резервуарів довів найбільшу перевагу використання клубової кишки як пластичного матеріалу для формування АСМ. Показано, що уродинамічна адаптація АСМ закінчується до 12 міс. післяопераційного періоду. Терміни морфологічної адаптації залежать від швидкості атрофічної перебудови епітелію, яка закінчується через 3 роки після тонкокишкової реконструкції і в більш пізні терміни при використанні як пластичного матеріалу товстої кишки. Збереження абсорбційних властивостей

товстокишкової слизової оболонки забезпечує можливість розвитку метаболічних порушень, особливо у пацієнтів з наявністю хронічної ниркової недостатності [13, 23, 90, 151].

Щодо колоноцистопластики, то цей метод також має власні переваги: більший діаметр, анатомічна близькість і спільність іннервації з сечовим міхуром (зокрема сигмоподібна кишка), менша реабсорбція і найкраща адаптація до тривалого контакту з сечею, більша скоротлива здатність [57, 191].

За даними японських авторів, функціональна ємність АСМ не залежить від відділу кишки, що використовується, а найкращі уродинамічні показники реєструють у пацієнтів зі сформованим резервуаром із сегмента сигмоподібної кишки [149, 197].

Цікаві результати наводить у своїй роботі Г. О. Аганесов (2011). Запропонований ним підхід передбачає використання вільного реваскуляризованого реіннервованого торакодорсального аутотрансплантата, який має достатні розміри для формування з нього сечового резервуара достатнього об'єму. Максимальна ємність АСМ на його основі в середньому становить до 340 мл [5]

Добре кровопостачання вільного торакодорсального аутотрансплантата і можливість його реіннервації дозволяють створити АСР з можливістю довільного спорожнення. На основі запропонованого підходу можливе створення сечового резервуара низького тиску. Його стінки зберігають свою еластичність до досягнення внутрішньорезервуарного об'єму вище 200 мл, а при наповненні до 300 мл внутрішньорезервуарний тиск не перевищує в середньому 30 см вод. ст. [23].

Даний АСМ має достатній запас міцності (максимальний внутрішньорезервуарний тиск до 86 см вод. ст.), що важливо при майбутньому

впровадженні даної методики в клінічну практику, де, крім тиску, створюваного внутрішнім об'ємом сечі, на АСМ чинитиметься тиск, що створюється довільним скороченням його м'язової основи в сукупності з внутрішньочеревним тиском. Автором доведено, що розміри АСМ на основі торакодорсального аутотрансплантата, наповненого до об'єму 200 мл рідини, дозволяють вільно розмістити його в порожнині малого таза. Діаметр шийки АСМ достатній для накладення адекватного анастомозу з уретрою, а запропонована конфігурація АСМ та його положення в порожнині малого таза дозволяють адекватно і герметично імплантувати сечоводи за антирефлюксною методикою [10, 13, 14, 27].

Остаточне вирішення питання щодо методики відведення сечі найчастіше приймається під час операції, тому що при виборі сегмента кишечника слід враховувати варіабельність довжини і мобільності брижі, супровідні захворювання кишечника (дивертикульоз, спайкова хвороба), анатомічні особливості й інтраопераційні обставини [27, 35, 42, 96, 158, 159]. Проблема вибору конкретного сегмента кишки при тонкокишковій цистопластиці в цілому вирішена: використання тонкої кишки визнано доцільним, а збереження термінального відділу клубової кишки – обов'язковим [13, 159]. Досі відсутні об'єктивні критерії вибору товстокишкового сегмента, які враховували б індивідуальні особливості пацієнта.

За даними російських авторів, найоптимальнішим методом заміщення сечового міхура з позицій адекватного функціонування нижніх сечовивідних шляхів як у чоловіків, так і у жінок, є використання ділянки клубової кишки [27]. Повністю утримували сечу в денний час більше 90,0 % оперованих пацієнтів, у нічний – близько половини, об'єм залишкової сечі не перевищує в середньому 80–90 мл, а об'єм неоцисту через рік після формування становить в

середньому ($575,2 \pm 22,6$) мл. Розроблений метод ортотопічної цистопластики з шлункового шматка сферичної конфігурації у пацієнтів з хронічною нирковою недостатністю та метаболічним ацидозом (рівень креатиніну більше 160–200 мкмоль/л), яким протипоказано використання клубової кишки, дозволяє значно збільшити об'єм неоцисту (в середньому до $(509,2 \pm 15,5)$ мл) і поліпшити показники денної континенції після гастрочистопластики до 81,8 %, нічної – до 40,0 % [27, 90].

Порушення спорожнення АСМ може бути зумовлено різними причинами, як механічними (стриктура уретри й уретрально-резервуарного анастомозу, резервуароцеле і пролапс, ангуляція уретри), так і динамічними (відносна інфрарезервуарна обструкція при низькому тиску і ємності неоцисту більше 800 мл). Велика кількість залишкової сечі (понад 250–300 мл) є важливим патофізіологічним фактором розвитку резервуарно-вагінальної фістули, каменів і розривів неоцисту, метаболічних розладів, вторинного пієлонефриту і нетримання сечі [95, 97, 158].

Запропоновано принцип зменшення післяопераційних ускладнень у хворих після РЦЕ з ілеонеоцистопластикой, суть якого полягає у своєчасній, раціонально підібраній корекції електролітно-водного балансу, моніторингу уродинаміки й якості життя [27, 161].

Описано взаємовідносини між відновленням функції артифіціального сечового міхура і самостійним сечовипусканням, визначено їхній вплив на якість життя хворих, терміни медичної, соціальної, трудової реадaptaції після операції. Подальший розвиток отримали положення медичної та соціальної адаптації хворих після радикальної цистектомії (РЦЕ), комплексний характер якої персоніфікований завдяки запропонованому підходу до навчання пацієнтів з відновлення функціональної здатності АСМ в мінімальні терміни й

узгодження дій різних фахівців на окремих етапах диспансерного обслуговування [7, 66].

Чимало наукових публікацій присвячено пошуку оптимальної лабораторної моделі, яка б дозволила в умовах експерименту оцінити патоморфогенез АСМ, а також визначити особливості уродинаміки після втручання [1, 2, 5, 6, 26, 34]. З огляду на анатомо-морфологічні особливості, одним з найпопулярніших лабораторних об'єктів є свині-самиці [34, 165].

Слизова оболонка сечового міхура свині вистелена, як і в сечоводі, перехідним епітелієм; у стадії спорожнення міхура зібрана в складки. На дорсальній стінці міхура недалеко від шийки розташовані отвори сечоводів. Краніальніше отворів помітні два валики сечоводів, а каудальніше – непарний сечовипускальний гребінь, що сягає у самців сім'яного горбка. Валики і гребінь формують міхурцевий трикутник. М'язова оболонка сечового міхура складається з гладкої м'язової тканини. В ділянці шийки круговий шар м'язової оболонки утворює сфінктер. Зовні вершина і тіло сечового міхура вкриті серозною оболонкою. Вентрально з тіла міхура вона переходить на тазову і черевну стінки як серединна зв'язка міхура. У плодів в ній проходить сечовий хід – *urachus* до сечового мішка. Парні пупкові артерії, що йдуть в плаценту, в дорослих тварин перетворюються на дві круглі зв'язки міхура, розташовані в його бічних зв'язках, що закріплюються по краях таза [34].

Спорожнений сечовий міхур лежить на дні тазової порожнини, а в наповненому стані частково звисає в черевну порожнину. Іннервується сечовий міхур підчеревним і тазовими нервами, кровопостачається з внутрішньої клубової артерії [34].

У хряків (кнурів) сечовипускальний канал довгий, тонкий, з численними стенозами (звуженнями), а у самок він відносно короткий і широкий.

Внутрішнім кінцем уретра розпочинається від шийки сечового міхура, а зовнішнім отвором відкривається у самців на голівці статевго члена, а у самок – на межі між піхвою та її вестибулярною частиною. У свині уретра перед впаданням в піхву має невеликий сечостатевий клапан. Більша частина довгої уретри самців входить до складу статевго члена, і тому, крім сечі, вона виводить статеві продукти [34, 88].

Залежно від типу годівлі та питного режиму, за добу доросла свиня виділяє 2–4 л (максимум 6 л) сечі слабокислої реакції (pH 5,0–7,0) [34].

Окремо стоїть питання впливу різноманітних чинників на контрактильність м'язів неоцисту [95]. L. K. Jakobsen et al. (2017) показали, що аденозин 5'-трифосфат впливає на м'язові скорочення стінки сечового міхура у ссавців [191]. Y. S. Suh et al. (2017) показали, що рівень експресії аденозинтрифосфату (АТФ) підвищується при гіперактивному СМ [190]. В умовах експерименту показано, що АТФ діє на м'язову тканину через холінергічні структури; АТФ посилює продукцію ацетилхоліну уротелієм, що призводить до пуринергічної контрактильної відповіді. При запально-дистрофічних процесах утворення АТФ порушується, що веде до дисфункції детрузора [193]. K. J. Cho et al. (2017) показали зниження концентрації АТФ та аденозиндифосфату (АДФ) в уротелії чоловіків, що страждають на цистит [140].

Відомо, що уротелій містить механорецептори, які відповідають на різні стимули, в тому числі механічне розтягнення та запалення, продукцією таких трансмітерів, як АТФ, ацетилхолін та оксид азоту [193]. Найбільше значення має АТФ, який виступає в ролі основного медіатора мікційного рефлексу [133, 191]. Gevaert et al. показали, що генетично модифіковані миші з вимкнутим геном TRPV4, в яких утворення АТФ є зниженим, мають суттєву гіпорексію СМ [133]. АТФ-залежні сигнальні шляхи розглядаються сьогодні як потенційні

мішені для таргетної терапії дисфункції детрузора. Перспективною здається також штучна активація метаболізму АТФ. Швидкий метаболізм АТФ може лімітувати вплив цього трансмітера на рецептори P2X2 та P2X3, а відтоді й на контрактильні властивості м'язів детрузора [198].

Велика увага приділяється дослідниками збільшенню вмісту в саркоплазмі іонів кальцію, кількість яких зростає від 50–100 нмоль на початку скорочення м'язів детрузора до 1 ммоль на піку скорочення [197, 198]. Кальцій надходить як з екстрацелюлярних джерел (через кальцієві канали L- та T-типу), так і з інтрацелюлярних депо, в тому числі шляхом активації IP3 рецепторів. Підвищення вмісту іонів кальцію є тимчасовим, надлишок кальцію видаляється або шляхом $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обміну через АТФ-залежні механізми, шляхом реаккумуляції за допомогою SERCA насосу. Білки, що мають контрактильні властивості, активуються фосфорилюванням міозину за допомогою кінази легких ланцюгів міозину (myosin light chain kinase, MLCK), яка, в свою чергу, активується комплексом Ca^{2+} -кальмодулін. Дефосфорилювання міозину відбувається за допомогою ферменту фосфатази легких ланцюгів міозину (myosin light chain phosphatase, MLCP). Таким чином, реакції фосфорилювання-дефосфорилювання є ключовими у забезпеченні нормальної контрактильності детрузора [155].

Нині триває пошук ефективних засобів, які б впливали на скоротливу функцію сечового міхура. Поряд з холіноблокаторами, холіноміметиками, в тому числі антихолінестеразними засобами, адреноміметиками, інгібіторами фосфодіестерази пропонується використовувати з цією метою гідразони. Інтерес до гідразонів знову зріс [12, 101], що пов'язано з широким спектром їхніх біологічних властивостей. Гідразони нині застосовують в медичній практиці та сільському господарстві, серед них знайдені гербіциди,

інсектициди, нематоциди, фунгіциди, ратициди і регулятори росту рослин [12, 134]. Похідні гідразонів широко використовують у хіміотерапії туберкульозу [12]. Є дані про потенційну активність щодо гладкої м'язової тканини, причому залежно від хімічної будови гідразони можуть виявляти як проконтракtilьну, так і спазмолітичну дію. Втім, досліджень такого плану дуже мало і вони є переважно пілотними [12, 52].

В цілому медикаментозне лікування нейрогенного сечового міхура має виражену симптоматичну спрямованість, і вибір того чи іншого медикаменту традиційно ґрунтується на діагностованому порушенні евакуаторної або резервуарної функції сечового міхура [133, 191]. Ці ж підходи застосовуються і щодо неоцисту. При порушенні евакуаторної функції сечового міхура застосовують антихолінестеразні речовини, препарати, які посилюють біоенергетику гладких м'язів, альфа-блокатори [16, 29]. Антихолінестеразні препарати (м-холіноміметики) чинять стимулювальний вплив на парасимпатичну нервову систему, отже, і стимулювальну функцію детрузора, і підсилюють його рефлексорну активність. Тривалість застосування названих препаратів обмежена їх вираженим токсичним ефектом [16, 62, 88].

Низка публікацій розглядає питання морфогенезу АСМ залежно від вихідного анатомічного утворення, яке було використано для пластики [13, 24, 27, 90, 133]. Так, тонка кишка складається з чотирьох оболонок: слизової з м'язовими пластинками, підслизової основи, м'язової і серозної. Слизова оболонка утворює спіральні або циркулярні складки, найвищі (1–1,5 см) в дванадцятипалій кишці і в початковому відділі тонкої кишки, висота їх поступово зменшується, в середній і дистальній третинах клубової кишки вони зникають. За рахунок складок поверхня слизової оболонки збільшується в 2–3 рази, що дозволяє покращити всмоктування нутрієнтів. На поверхні

слизової оболонки розташовано багато ворсинок, представлених випинаннями власної пластинки, вкритими стовпчастим епітелієм і келихоподібними клітинами. Висота ворсинок найбільш варіабельна в проксимальному відділі. У клубовій кишці вона коливається від 245 до 385 мкм. Ширина ворсинок становить 110–300 мкм. Вони вкриті одношаровим облямованим епітелієм, 90 % його – це ентероцити з покресленою ШИК-позитивною облямівкою, утвореною мікрворсинками. На поверхні кожного ентероцита розташовані 1500–2000 мікрворсинок завдовжки 1–1,5 мкм і завширшки близько 0,1 мкм, які збільшують всмоктувальну поверхню тонкої кишки в 30–40 разів [12, 13, 133].

Щіткова облямівка відрізняється високою активністю лужної фосфатази. На мікрворсинках лежить шар, утворений мережею з тонких ниток, що дістав назву «глікокалікс». При одночасному забарвленні альціановим синім і проведенні ШИК-реакції можна побачити, що зовнішня поверхня щіткової облямівки синя, внутрішня – рожево-червона [4, 10, 13, 14].

Серед облямованого епітелію розташовуються келихоподібні клітини з тонкою основою і широким дистальним відділом, який майже весь займає кругла або овальна вакуоль. У деяких клітин ця вакуоль відкривається в межворсинчастий простір, келихоподібні клітини в нормі ніколи не лежать групами, їх завжди розділяє облямований епітелій, секрет келихоподібних клітин містить переважно сіаломуцин. Цим клітинам притаманні слабка метакромазія з толуюдиновим синім у кислому середовищі (при рН 3,5) і слабе забарвлення альціановим синім при рН 1,0. Крім того, в келихоподібних клітинах міститься невелика кількість сульфатованих глікозаміногліканів. У дистальній третині ворсинок келихоподібні клітини невеликі. У криптах дистальних відділів товстої кишки, особливо в нижній третині крипт,

келихоподібні клітини містять сульфомуцин, у верхніх її відділах і поверхневому епітелії визначаються сіаломуцини [10, 13, 27].

Епітеліальні клітини, що вкривають ділянки кишки, зайняті лімфоїдними вузликами (песровими бляшками), що помітно відрізняються і за будовою, і за своєю функцією від інших видів ентероцитів, хоча і зберігають загальні для ентероцитів принципи структурної організації [41].

На апікальній поверхні їх розташовані мікроворсинки, але вони значно коротші і ширші, ніж мікроворсинки абсорбованих ентероцитів, і виглядають вони як «мікрополя», що і визначило їх назву – М-клітини. Вони знаходяться в тісному контакті з лімфоцитами, що інвагінують в їхню цитоплазму, а також з макрофагами і плазматичними клітинами. Основна їхня функція – захоплення і транспорт антигену з просвіту кишки до лімфоїдної тканини [13, 14, 41, 56].

В основі крипт тонкої кишки розташовані поодинокі трапецієподібні клітини з великими еозинофільними гранулами в апікальній частині – це клітини Панета. У клітинах Панета виявлено цинк, селен, а також лізоцим, імуноглобуліни IgA, IgG, що свідчить про їхню бактерицидну функцію. Ендокринні клітини, розташовані між епітеліоцитами, переважно в нижній третині крипт на всьому протязі тонкої і товстої кишки, становлять 0,5–1 % пропопуляції клітин [13, 56, 59].

Глибина крипт тонкої кишки – $(166,48 \pm 6,00)$ мкм, відношення висоти до висоти ворсинок – 1:3,5. У товстій кишці кишечника крипти глибші (430 мкм). У криптах, розташованих по всій поверхні вистилання товстої кишки, як правило, відсутні клітини Панета, проте в них більше келихоподібних клітин, кількість яких збільшується в напрямку до прямої кишки. Кількість слизопродукуючих клітин товстої кишки відноситься до кількості всмоктуючих клітин як 4:1. Власна пластинка слизової оболонки тонкої кишки являє собою

типову ретикулярну тканину, утворену мережею ретикулінових волокон, в якій розташовані клітинні елементи. Тут же лежать кровоносні і лімфатичні судини. Між криптами ретикулум переривчастий, містить дещо більше колагенових волокон. В нормі у власній пластинці товстої кишки близько 50 % клітин утворюють плазмоцити, 20 % – фібробласти, решта – макрофаги, еозинофіли і лімфоцити [4].

М'язова оболонка представлена двома шарами гладком'язової тканини. У внутрішньому шарі волокна розташовані циркулярно, в зовнішньому – поздовжньо. Серозна оболонка, яка вкриває на великій відстані тонку кишку, представлена тонким шаром пухкої сполучної тканини з великою кількістю судин. Зовнішня її поверхня вистелена мезотелієм. Структурно-функціональною одиницею слизової оболонки тонкої кишки є комплекс крипта-ворсинка. У цій системі є певні динамічні взаємини між проліферуючими, диференційованими, функціонуючими та екструзованими клітинами. Зміна взаємовідносин між цими популяціями клітин, а також темпів оновлення в системі тягне за собою зміну архітектоніки слизової оболонки кишки, викликає порушення функції. У тонкій кишці пул проліферуючих та диференційованих клітин зосереджений у криптах, а функціонуючих та екструзованих – на поверхні ворсинок. На відміну від тонкої кишки, проліферативний і функціонуючий компартменти товстої кишки не мають чіткої межі прискорення проліферації компартментів крипт, в товстій – припиняється перебіг клітинного циклу [4, 13, 27].

Клубова кишка вважається найкращим субстратом для утворення АСМ. Це пов'язано з тим, що у ній реабсорбція електролітів є мінімальною [133, 191].

Для резервуара з шлунка характерні такі специфічні ускладнення, як дизурія / гематурія і метаболічний алкалоз. Цей резервуар слід, швидше за все,

використовувати, якщо, наприклад, кишечник «замурований» і технічно недоступний для створення резервуара [13, 14, 27, 47, 56, 58, 74].

Для АСР із сигмоподібної кишки і шлунка характерний більш високий внутрішньорезервуарний тиск [56, 74], що може спричинити розвиток нетримання сечі. При використанні клубової кишки для створення АСМ не розвиваються метаболічний ацидоз і гіпокаліємія за рахунок швидкої адаптації слизової оболонки стінки кишкового резервуара та зниження секреції й абсорбції [70, 72, 84, 103].

Абсорбційна спроможність слизової тонкої і товстої кишки по відношенню до іонів натрію не відрізняється, а абсорбція іонів хлору вище в товстокишковому резервуарі [13, 14, 133]. В ілеальному сегменті абсорбується натрію більше, ніж хлоридів. У хворих з ілеоцекальним артифіціальним сечовим міхуром, порівняно з ідеальним, вище вірогідність розвитку гіперхлоремічного ацидозу, тому тонка кишка є найкращим матеріалом за наявності ХНН. Частота метаболічного ацидозу в хворих після ентероцистопластики значно нижча, ніж у пацієнтів після колоноцистопластики. Це є однією з причин вибору ділянки саме тонкої кишки для формування сечового резервуара [103, 140].

Одним з основних і найскладніших питань діагностики у післяопераційному періоді після утворення АСМ є раннє визначення малігнізації. Практично відсутній ризик розвитку аденокарциноми тонкокишкового резервуара [13, 14, 56, 84]; ймовірність розвитку пухлини товстої кишки у хворих з товстокишковим резервуаром або у осіб, які перенесли уретеросигмостомію, підвищується в кілька разів [57, 133]. При цьому в літературі описані поодинокі випадки тубулярної аденоми й

аденокарциноми, що виникла в слизовій оболонці імплантата клубової кишки [88, 98].

З моменту потрапляння сечі в кишковий резервуар його стінки, як зазначалося вище, підлягають суттєвим змінам [104]. Виділяють три основні етапи ремоделювання. В I фазі, яка триває до 1–2 років, переважають запальні зміни слизової оболонки кишки. В II фазу, що триває до 4 років, переважають атрофічні зміни слизової оболонки. Ця фаза змінюється на фазу метапластичної трансформації, коли на зміну кишковому епітелію утворюється характерний перехідний епітелій, притаманний сечовим шляхам [13, 14, 133].

Втім, незважаючи на успіхи у дослідженні питань морфогенезу, функціональну адаптацію й особливості гомеостазу при створенні АСМ, багато в чому проблема функціонування артифіціального сечового міхура залишається недостатньо дослідженою. Це робить напрямок експериментального обґрунтування способів адаптації неоцисту до впливу агресивних чинників сечі одним з найактуальніших для сучасної урології [110, 126].

Експериментальні моделі використовують як дрібних ссавців, так і більших тварин. Основними завданнями застосування таких моделей є дослідження фундаментальних біологічних механізмів та описання нормальних чи патологічно змінених функцій того чи іншого органа. Гомологічні експериментальні моделі є найбільш близькими до умов, які виникають в організмі людини [133, 191]. Ізоморфні моделі використовують відмінні від існуючих в організмі людини шляхи утворення патологічного субстрату, однак вони дозволяють дослідити окремі механізми дисфункції. Предиктивні моделі дозволяють оцінити найближчі та віддалені результати патологічного процесу, а також визначити біомаркери прогнозу. Сьогодні при експериментальних дослідженнях використовують як патоморфологічні, так і інструментальні методи, здатні *in vivo* визначити особливості перебігу того чи іншого

патологічного процесу [34, 136]. До таких методів належать, зокрема, цистотонетрія та інші компоненти комплексного уродинамічного дослідження (КУДД).

Втім, наявний досвід вивчення в умовах експерименту процесів морфогенезу й адаптації АСМ є недостатнім [133, 191]. Зокрема, бракує досліджень особливостей ремоделювання тканинних структур нецисту під впливом нових хімічних сполук, які мають поєднаний антихолінестеразний, енерготропний та антигіпоксичний ефекти [6, 14]. В перспективі такі дослідження мають неабияке значення для розвитку онкоурології та реконструктивно-відновної медицини в цілому.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

2.1 Програма дослідження

Дослідження виконане на базі підрозділів кафедри урології та нефрології, а також експериментальної клініки ОНМедУ протягом 2014–2017 рр.

У дослідженні було використано 50 свиней-самиць (Göttingen mini-pig), масою 5–12 кг, яких було розподілено на дві групи дослідження: I (контрольна), до якої увійшли 10 оперованих тварин, що не отримували ніяких хімічних сполук, та II (основна), до якої були включені 40 свиней з експериментальною ілеоцистопластикою. Основна група, у свою чергу, була рандомізовано розподілена на 4 підгрупи:

- підгрупа 1 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ФДГК) (n=10);
- підгрупа 2 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (ДББ) (n=10);
- підгрупа 3 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ДФДГК) (n=10);
- підгрупа 4 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно) бензиліден) бензгідразид (ДДББ) (n=10).

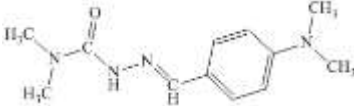
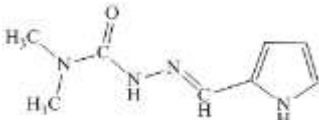
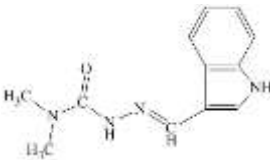
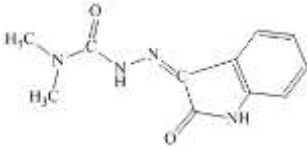
Вибір хімічних сполук для проведення експерименту виконували шляхом визначення ефективності їх впливу на ізольовані смужки тонкого кишечника

свиней за допомогою програмного забезпечення LabScribe 2 (iWorx Systems, Inc., США 2014 р.).

В табл. 2.1 наведена загальна інформація про використані у дослідженні хімічні сполуки.

Таблиця 2.1

Перелік сполук, використаних під час дослідження

Структура сполуки	Назва
 $M = 234$ г/моль, $C_{12}H_{18}N_4O$	феніл 2,2- диметилгідазинкарбоксилат
 $M = 180$ г/моль, $C_8H_{12}N_4O$	N'-(4- (диметиламіно)бензиліден) бензгідазид
 $M = 230$ г/моль, $C_{12}H_{14}N_4O$	3-(диметиламіно)-феніл 2,2- диметилгідазинкарбоксилат
 $M = 232$ г/моль, $C_{11}H_{12}N_4O_2$	3-(диметиламіно)-N'-(4- (диметиламіно) бензиліден) бензгідазид

Загальною рисою всіх перерахованих сполук є виражені відновні властивості та можливість реакції з макроергічними сполуками *in vivo* [34].

2.2 Експериментальне моделювання ортотопічного сечового міхура

На етапах дослідження застосована розроблена оригінальна експериментальна модель артіфіціального сечового міхура у свиней, яка виконується шляхом радикальної цистектомії з ілеоцистонеопластиком (патент

на корисну модель №122281 від 26.12.2017). Проводили цистотонетрію сечового міхура, досліджували скоротливу активність стінки неоцисту, виконували біохімічні та патогістохімічні дослідження.

2.3 Інструментальні методи дослідження

Цистотонетрія сечового міхура у тварин (n=40) виконувалася за стандартною методикою із застосуванням інфузії розчину в неоцист [101]. Внутрішньоміхуровий тиск вимірювали через інтрауретральний катетер, який був підключений через триходовий перемикач до датчика тиску. Як розчин для інфузії використовували 0,9%-й хлорид натрію, об'ємом 0,1–15 мл/год. Цистотонетричне дослідження виконували за допомогою прилада Pico 3000 (Memfis BioMedica, США 2013).

Визначали максимальну цистометричну ємність (МЦЄ) та максимальний детрузорний тиск (МДТ). Чутливість сечового міхура оцінювали за об'ємом введеної в сечовий міхур рідини до моменту мимовільного сечовипускання. Скоротливу активність сечового міхура у фазі наповнення оцінювали за наявністю мимовільних скорочень детрузора. Ємність сечового міхура оцінювали на основі значення МЦЄ. У фазу спорожнення сечового міхура, крім везикального й абдомінального тиску, вимірювали також швидкість струму сечі (Q) і фіксували МДТ [133, 191].

Дослідження скоротливої активності стінки неоцисту *in vitro* проводили на основі методу С. У. Fry (2004) [133, 191] на базі лабораторії НДІ фармакології та токсикології НАМНУ, матеріал доставляли в замороженому стані при температурі -20°C.

Ізольований СМ звільняли від залишків жирової та сполучної тканини. В подальшому орган розтинали на поздовжні смужки до 3 мм завтовшки, які

розташовували в камері з розчином Кребса при температурі 35 °С. Всі смужки розтягували з навантаженням $F_0=0,001$ Н. Скоротливу активність смужок досліджували в ізометричному режимі за допомогою п'єзодатчиків FTK-0.1 (Україна), адаптера LabTrax 4-CDA (WPL, США), програмного забезпечення LabTrax 2 (США).

Вимірювання проводили після стабілізації скоротливої активності смужок впродовж години. Як референсну величину враховували максимальну відповідь окремих смужок під дією 120 М розчину калію хлориду у розчині Кребса. Вираженість скорочення оцінювали в абсолютних метричних одиницях та у відносних – відповідно до референсних значень спонтанних скорочень.

Для проведення досліджень використовували установку для вивчення скоротливої активності ізольованих смужок неоцисту, яка складалася з термостата, робочої камери для розміщення тканини, тензодатчика, підсилювача, самописця. Дослідження проводили на ізольованих смужках тонкого кишечника свиней-самиць, прикріплених у робочій камері з одної сторони до стаціонарного гачка, а з другої – до штока тензодатчика (С. D. Foster, 1989). Досліджувані частини неоцисту видаляли у свині, забитої шляхом цервікальної дислокації, і розміщували в препарувальній чашці зі стандартним буферним розчином Кребса – Хенсліта при кімнатній температурі.

Смужки, що були виділені неоцисту мали довжину від 10 до 15 мм, ширину 4–5 мм.

Перед дослідженням препарати витримували протягом 30 хв при температурі 37 °С у стандартному буферному розчині Кребса – Хенсліта наступного складу (моль/л): NaCl (118,4); KCl (4,7); CaCl₂ (2,5); MgSO₄ (1,2); KH₂PO₄ (1,2); NaHCO₃ (24,9); глюкоза (11,1); потім ще 90 хв у сольовому розчині з концентрацією хлориду калію 60 ммоль/л. Робочий розчин аерували газовою сумішшю 95 % O₂ і 5 % CO₂. За допомогою автоматичного термостата

температуру розчину в камері підтримували на рівні 37 °С. Всі дослідження проводили в ізометричному режимі, смужки були попередньо розтягнуті під дією пасивного розтягнення 1150 мг, після чого на тлі прекоonstrикції досліджуваної смужки розчином KCl у концентрації 60 ммоль/л до 1300 мг впливали сполукою 2-гідроксибензоїлгідразонпірол-2-карбальдегіду.

Для приготування всіх буферних розчинів Кребса використовували хімічно чисті реактиви компанії «Сінбіас» (Україна), які розчиняли в дистильованій воді. Автоматичний термостат дозволяв підтримувати температуру розчинів в камері (35,0±0,5) °С.

Скоротливу активність досліджували в ізометричному режимі за допомогою датчика сили. Сигнали реєстрували, використовуючи аналого-цифровий перетворювач.

Згідно з науковим завданням, додатково було проведено дослідження фізіологічної активності хімічних сполук з проконтракційною або спазмолітичною активністю, які за структурою є похідними гідразону. Було проведено скринінг із 25 сполук, наведених в табл. 4.1 з потенційною здатністю стимулювати і розслабляти гладку мускулатуру.

Вибір сполук проводився за методикою SAR (Structure Activity Relationship), за принципом найбільшої структурної схожості з відомими блокаторами антихолінестерази і спазмолітичними сполуками, серед основних структурних класів похідних гідразонів.

На першому етапі дослідження були виключені з подальшого розгляду сполуки, які за фізико-хімічними властивостями найменше задовольняли висунутим умовам щодо фізіологічної активності та структурно-конфігураційних характеристик.

Досліджувані хімічні сполуки використовували у вигляді водних розчинів, в інтервалі молярних концентрацій 10^{-1} – 10^{-7} моль/л. Їх готували

розведенням робочих 0,1 М розчинів відповідних сполук, при цьому вихідний об'єм кожного з них становив 20 мл.

Всі використані в роботі сполуки (n=25) були синтезовані на кафедрі загальної хімії та полімерів ОНУ ім. І. І. Мечникова, їхній склад і структура встановлені сукупністю фізико-хімічних методів дослідження [133, 191].

У першій серії дослідів вивчали констрикторні властивості нових похідних гідразонів при впливі на ізольований сегмент клубової кишки в експериментальних тварин *in vitro* (n=13).

Друга серія дослідів полягала у вивченні спазмолітичних властивостей досліджуваних сполук на гладку мускулатуру кишечника *in vitro* на тлі стимуляції KCl (n=12). Об'єм введеного розчину KCl становив 0,1–0,15 мл, з концентрацією 60 ммоль/л до отримання ритмічної, високої амплітуди скорочень.

Реєстрація скоротливої активності ізольованих смужок тонкого кишечника здійснювалася за допомогою ізометричних датчиків напруги.

Для дослідження сполуки *in vitro* використовували її водний розчин в концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л (V=20 мл); концентрацію $1 \cdot 10^{-4}$ готували розведенням 0,1 М розчину. Всі сполуки були стабілізовані твіном-80.

При показаннях тензодатчика нижче 750 мг, які є найбільш повторюваними, судили про достовірне зниження скоротливої активності (в порівнянні з амплітудою скорочень на тлі стимуляції KCl) досліджуваної ізольованої смужки тонкого кишечника свині під впливом сполук 2-гідроксибензоїлгідразонпірол-2-карбальдегіду, N,N-диметилкарбаміл-гідразон 4-(диметиламіно)бензальдегіду. Даний метод є власною розробкою автора та захищений патентним правом (патенти України № 122279, 122280).

Первинній оцінці як хімічні агенти для полегшення адаптації АСМ до нових умов функціонування, таким чином, підлягали 25 сполук. На жаль, більшість з них за результатами скринінгу виявилися неефективними. Це

стосується таких речовин: N,N-диметилкарбамілгідразон 4-(диметиламіно) бензальдегід; N,N-диметилкарбамілгідразон пірол-2-карбальдегід; N,N-диметилкарбамілгідразон індол-3-карбальдегід; N,N-диметилкарбамілгідразон ізатин; N,N-диметилкарбамілгідразон 1-метилізатин; 3-(диметиламіно) бензоїлгідразон 4-(диметиламіно) бензальдегід; 3-(диметиламіно) бензоїлгідразон пірол-2-карбальдегід; 3-(диметиламіно) бензоїлгідразон індол-3-карбальдегід; 3-(диметиламіно) бензоїлгідразон 1-метиліндол-3-карбальдегід; 1-метиліндол-3-карбальдегід 3-(диметиламіно) бензоїлгідразон; 3-(диметиламіно) бензоїлгідразон ізатин; 3-(диметиламіно) бензоїлгідразон метил ізатин; 3-(диметиламіно) бензоїлгідразон 1-метилізатин; бензоїлгідразон 4-(диметиламіно) бензальдегід; бензоїлгідразон ізатин; 2-гідроксибензоїлгідразон 4-(диметиламіно) бензальдегід; 2-гідроксибензоїлгідразон пірол-2-карбальдегід; 2-гідроксибензоїлгідразон ізатин; 2-метоксибензоїлгідразон 4-(диметиламіно) бензальдегід; 2-метоксибензоїлгідразон пірол-2-карбальдегід; 2-метоксибензоїлгідразон ізатин; ізонікотиноїлгідразон 4-(диметиламіно) бензальдегід; ізонікотиноїлгідразон 4-ацетиламінобензальдегід; 2-гідрокси-2-фенілацетилгідразон 4-(диметиламіно) бензальдегід; 2-гідрокси-2-фенілацетилгідразон пірол-2-карбальдегід; 2-гідрокси-2-фенілацетилгідразон ізатин. Основною причиною відмови від подальшого дослідження вищеназваних сполук є їх недостатня фізіологічна активність та хімічна нестійкість в порівнянні з обраними сполуками.

2.4 Біохімічні дослідження

Кількісний вміст аденілових нуклеотидів (АМФ, АДФ, АТФ) в крові (n=20) та гомогенатах тканини (n=20) артифіціального сечового міхура оцінювали за допомогою стандартних реактивів *Test combination* фірми "Boehringer Mannheim" за методом Т. Bucher в модифікації D. Jaworek (1970)

[4]. При взаємодії АТФ з реагентами в тестах відбувається світіння, інтенсивність якого пропорційна вмісту АТФ.

Для визначення вмісту АТФ, АДФ і АМФ у тканинах кишечника та неоцисту свиней ($n=20$) зразки тканини гомогенізували з 3 мл 6%-ї хлорної кислоти в співвідношенні 1:7 (вага:об'єм). Отриманий кислий гомогенат тканини центрифугували при 5 °С 10 хв при 10 тис. об/хв. Отриманий депротейнізований супернатант (надосадова рідина) нейтралізували 1,75 М розчином тризаміщеного фосфату калію (до рН 7,0–7,5). Перемішували й охолоджували 15 хв. Нейтральний екстракт центрифугували при 3 тис. об/хв протягом 10 хв. Для аналізу використовували нейтральний супернатант.

Принцип методу визначення вмісту АДФ ґрунтується на вимірюванні зменшення оптичної густини розчину при довжині хвилі 340 нм при ферментативному відновленні пірувату, який утворюється при взаємодії АДФ з фосфоенолпіруватом за участі піруваткінази.

При взаємодії АМФ з АТФ за участі ферменту міокінази утворюється продукт реакції АДФ. Після реакції з фосфоенолпіруватом за участі піруваткінази утворюється піруват, який ферментативно відновлюється за допомогою нікотинаміддинуклеотиду (НАДН) і лактатдегідрогенази. За зниженням оптичної густини розчину при окисненні НАДН і при довжині хвилі 340 нм розраховували вміст АМФ в досліджуваних пробах.

Хід визначення. У кювету послідовно доливали 2 мл депротейнізованого і нейтралізованого супернатанту, 0,2 мл розчину, що містить фосфоенолпіруват (10 ммоль/л), хлорид калію (1,3 моль/л) і сульфат магнію (0,4 моль/л), 0,2 мл розчину НАДН (2,5 ммоль/л) і 0,02 мл суспензії лактатдегідрогенази (500 Од/мл). Перемішували вміст в кюветі і через 5 хв вимірювали оптичну густину реакційного розчину. Додавали 0,02 мл суспензії піруваткінази (100 Од/мл), перемішували і вимірювали оптичну густину реакційного розчину

після закінчення реакції. У контрольній кюветі супернатант замінювали на відповідний об'єм дистильованої води.

Вимірювання оптичної густини досліджуваного розчину проводили на спектрометрі "Specol-210" в односантиметровій кюветі при температурі $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ і довжині хвилі 340 нм.

Отримані результати використовували для розрахунку вмісту лактату в досліджуваних пробах плазми крові і тканинних екстрактах з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції для НАДН 6,22 і наводили в мкмоль/г тканини.

Коефіцієнт варіації методики – 8,1 %.

Принцип методу визначення вмісту АДФ ґрунтується на вимірюванні зменшення оптичної густини розчину при довжині хвилі 340 нм при ферментативному відновленні пірувату, який утворюється при взаємодії АДФ з фосфоенолпіруватом за участі піруваткінази.

Принцип методу визначення вмісту АМФ полягає в тому, що при взаємодії АМФ з АТФ за участі ферменту міокінази утворюється продукт реакції АДФ. Після реакції з фосфоенолпіруватом за участі піруваткінази утворюється піруват, який ферментативно відновлюється за допомогою НАДН і лактатдегідрогенази. За зниженням оптичної густини розчину при окисненні НАДН і при довжині хвилі 340 нм розраховували вміст АМФ в досліджуваних пробах.

Хід визначення. У кювету послідовно доливали 2 мл депротейнізованого і нейтралізованого супернатанту, 0,2 мл розчину, що містить фосфоенолпіруват (10 ммоль/л), хлорид калію (1,3 моль/л) і сульфат магнію (0,4 моль/л), 0, 2 мл розчину НАДН (2,5 ммоль/л) і 0,02 мл суспензії лактатдегідрогенази (500 Од/мл). Перемішували вміст в кюветі і через 5 хв вимірювали оптичну густину реакційного розчину. Додавали 0,02 мл суспензії піруваткінази (100 Од/мл), перемішували і вимірювали оптичну густину реакційного розчину після закінчення реакції. У контрольній кюветі супернатант замінювали на відповідний об'єм дистильованої води.

Вимірювання оптичної густини досліджуваного розчину проводили на спектрофотометрі "Specol-210" в односантиметровій кюветі при температурі $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ і довжині хвилі 340 нм.

Отримані результати використовували для розрахунку вмісту нуклеотидів в досліджуваних пробах плазми крові і тканинних екстрактах з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції для НАДН 6,22 і виражали в нмоль/г тканини. Коефіцієнт варіації методики – 2,6 %.

Принцип методу визначення вмісту АТФ полягає в тому, що при взаємодії гліцерат-3-фосфату з АТФ за участі ферменту фосфогліцераткінази утворюється гліцерат-1,3-фосфат, який відновлюється НАДН в гліцеральдегідфосфатдегідрогеназній реакції. Зміна оптичної густини розчину пропорційна вмісту АТФ.

Хід визначення. Для визначення вмісту АТФ в кювету послідовно додавали 2 мл 0,5 М триетаноламіновий буфер (рН 7,6), що містить сульфат магнію (4 мМ) і гліцерат-3-фосфат (6 мМ), 0,2 мл 2,5 мМ розчину НАДН і 0,2 мл депротейнізованої і нейтралізованої проби. Перемішували і вимірювали оптичну густину розчину. Потім додавали 0,02 мл суспензії ферментів гліцеральдегідфосфатдегідрогенази (350 Од/мл), фосфогліцераткінази (450 Од/мл). Перемішували, після закінчення змін оптичної густини в реакційному розчині отримані результати використовували для розрахунків. У контрольній кюветі депротейнізовану пробу замінювали на відповідний об'єм дистильованої води.

Вимірювання оптичної густини досліджуваного розчину проводили на спектрофотометрі "Specol-210" в односантиметровій кюветі при температурі $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ і довжині хвилі 340 нм.

Отримані результати використовували для розрахунку вмісту нуклеотидів у досліджуваних пробах плазми крові і тканинних екстрактах з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції для НАДН 6,22 і виражали в нмоль/г тканини.

Коефіцієнт варіації методики – 3,2 %.

Принцип методу визначення ацетилхолінестерази ($n=20$) за методом Елмана полягає у визначенні швидкості зміни кольору реакційного розчину при 412 нм, яка пропорційна активності ферменту.

Хід визначення. Тканину гомогенізували в охолодженій ступці в 0,1 М фосфатному буфері (рН 8). Для визначення активності мембранозв'язаної ацетилхолінестерази гомогенат обробляли 0,1%-м розчином тритону X100 і центрифугували при 20 тис. об/хв протягом 15 хв. Для визначення активності ферменту використовували супернатант.

У кювету вносили 2,7 мл фосфатного буфера (0,1 М, рН 8), 0,2 мл індикатора на тіольну групу – 5,5-дитіо-біс (2-нітробензойну) кислоту (0,33 мМ) і 0,02 мл субстрату ацетилтіохолін-йодиду (1,0 мМ). Реакцію ініціювали додаванням 0,2 мл супернатанту і реєстрували збільшення оптичної густини.

Вимірювання оптичної густини досліджуваного розчину проводили на спектрофотометрі "Spocol-210" в односантиметровій кюветі при температурі $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ і довжині хвилі 412 нм.

Отримані результати використовували для розрахунку активності ферменту і виражали в мкмоль/г·год. Коефіцієнт варіації методики – 2,3 %.

Активність Ca^{2+} -АТФ-ази ($n=20$) визначали за кількістю неорганічного фосфору, що відщеплюється від АТФ в присутності АТФ-ази за певний час інкубації [4]. Кількість неорганічного фосфору реєстрували за допомогою реакції з молібденовою кислотою, в результаті якої утворюється фосфорно-молібденова кислота, що дає при відновленні аскорбінової кислоти комплекс синього кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації неорганічного фосфору. Активність Ca^{2+} -АТФ-ази виражали в мікрокаталах на 1 г тканини сечового міхура [98].

2.5 Морфологічні дослідження

Після утворення неоцисту морфологічне дослідження проводили через 3, 6, 12 міс. Шматочки досліджуваних органів (сечового міхура, стінки тонкої кишки та неоцисту) фіксували у 10%-му нейтральному формаліні протягом 72 год. Після фіксації шматочки органів обробляли за загальноприйнятою методикою з виготовленням целоїдинових блоків. Гістологічні зрізи забарвлювались гематоксиліном і еозином та за Ван Гізоном.

Проводили видалення парафіну зі зрізів у ксилолі та здійснювали проведення зрізу через спирти низхідної міцності до 80%-го етанолу (можливий варіант обробки: ортоксилол – 2 порції по 3–5 хв, 96%-й етанол – 3 хв, 90%-й етанол – 3 хв, 80%-й етанол – 3 хв). Забарвлювали препарат залізним гематоксиліном Вейгерта протягом 3–15 хв, промивали у проточній воді протягом кількох хвилин. Потім промивали дистильованою водою та забарвлювали барвником Ван Гісона (суміш насиченого водного розчину пікринової кислоти і 1%-го розчину кислого фуксину у пропорції 20:1) протягом 5 хв. Потім швидко промивали препарат дистильованою водою (5–15 с) та в двох порціях 96%-го етанолу, одній порції абсолютного етанолу (або карболенксилолу), з наступним просвітленням в двох порціях ортоксилолу. Час перебування зрізів в кожній порції 1–2 хв. Завершували процедуру закріпленням препарату нейтральним бальзамом.

Морфологічні дослідження проводили в гістологічній лабораторії кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії ОНМедУ (сертифікат № 047/14 від 16 грудня 2014 р.).

2.6 Цитологічні методи дослідження осаду сечі

Через 3 міс. після операції ($n=10$), через 6 міс. ($n=10$) і через 1 рік ($n=10$) у експериментальних тварин отримували порцію сечі шляхом катетеризації, яку центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хв. З утвореного осаду виготовляли мазки, які висушували на повітрі, в подальшому їх фіксували в спиртовому ефірі і забарвлювали гематоксилін-еозином. В подальшому отримані препарати досліджували за допомогою світлового мікроскопа при збільшенні $\times 160$. У кожному препараті обраховували 5 полів зору (загалом не менше 150 клітин). Оцінювали кількість лімфоцитів, нейтрофілів, еритроцитів, а також кількість епітеліоцитів – поверхневих, проміжних і базальних, про що свідчили прояви позаклітинного характеру [4].

Оцінку кількості епітеліоцитів проводили, виходячи з уявлення про те, що трансформація кишкової стінки повинна супроводжуватися структурно-функціональною перебудовою епітелію. Як контроль використовували дані, отримані при вивченні цитологічної картини змивів слизової клубової кишки цих же свиней, отриманих до проведення операції по заміщенню сечового міхура фрагментом кишечника, розцінюючи їх як інтактні.

2.8 Статистична обробка

Статистична обробка експериментальних досліджень та їх графічне зображення виконані за допомогою стандартного пакету прикладних програм Statistica 10.0 (Dell StatSoft Inc., США) [133, 191]. Використовували непараметричні методи дисперсійного та кореляційного аналізу. Нульова гіпотеза приймалася при $p > 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ПРОЦЕСИ АДАПТАЦІЇ СТІНКИ АРТИФІЦІАЛЬНОГО СЕЧОВОГО МІХУРА В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ

3.1 Ілеоцистопластика в експерименті

Моделювання шляхом виконання цистектомії з ілеоцистопластиком за Studer проводили на свинях-самицях ($n=50$). Вибір експериментального об'єкту зумовлений анатомічними міркуваннями – у самиці уретра є прямою і в 5–7 разів коротшою, порівняно з самцями [34].

Методика оперативного втручання була наступною. Під внутрішньовенним наркозом у положенні на спині свині віком 4–5 міс. масою 8–10 кг після обробки операційного поля тричі виконували розріз черевної стінки по середній лінії від лобкового симфізу до пупка. Виконували ревізію органів черевної порожнини, заочеревинного простору та розтятого сечового міхура. Тонку кишку переміщували вгору та відмежовували серветкою. Верхівку сечового міхура захоплювали щипцями та підтягували догори. Очеревину розсікали над правим сечоводом разом з навколоміхуровою клітковиною, сечовід відокремлювали до стінки сечового міхура, де перев'язували і відтинали. Аналогічно перев'язували і відтинали лівий сечовід (рис. 3.1).

Двома напівовальними розрізами розтинали очеревину, яка вкриває сечовий міхур, і поступово відокремлювали бокові та задню стінки сечового міхура. Перев'язували всі кровоточиві судини з обох сторін. Відокремлювали передню стінку сечового міхура. Перетинали уретру, сечовий міхур відділяли від прямої кишки. Перетинали міхурово-прямокишкову зв'язку і нижні міхурові артерії. Міхур видаляли.

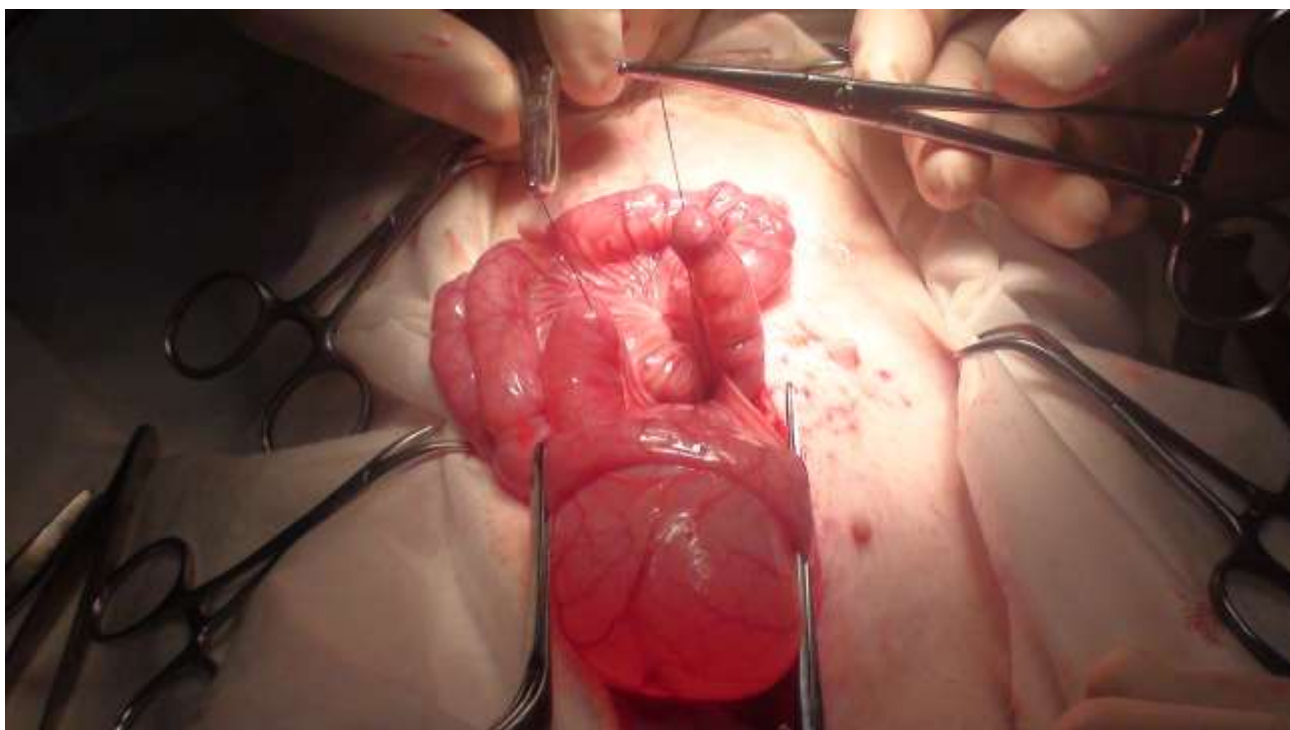


Рис. 3.1 Етап операції. Сечовий міхур, резекція ділянки клубової кишки

Кровотечу зупиняли за допомогою електрокоагуляції, перев'язування судин і тампонами (рис. 3.2, 3.3).

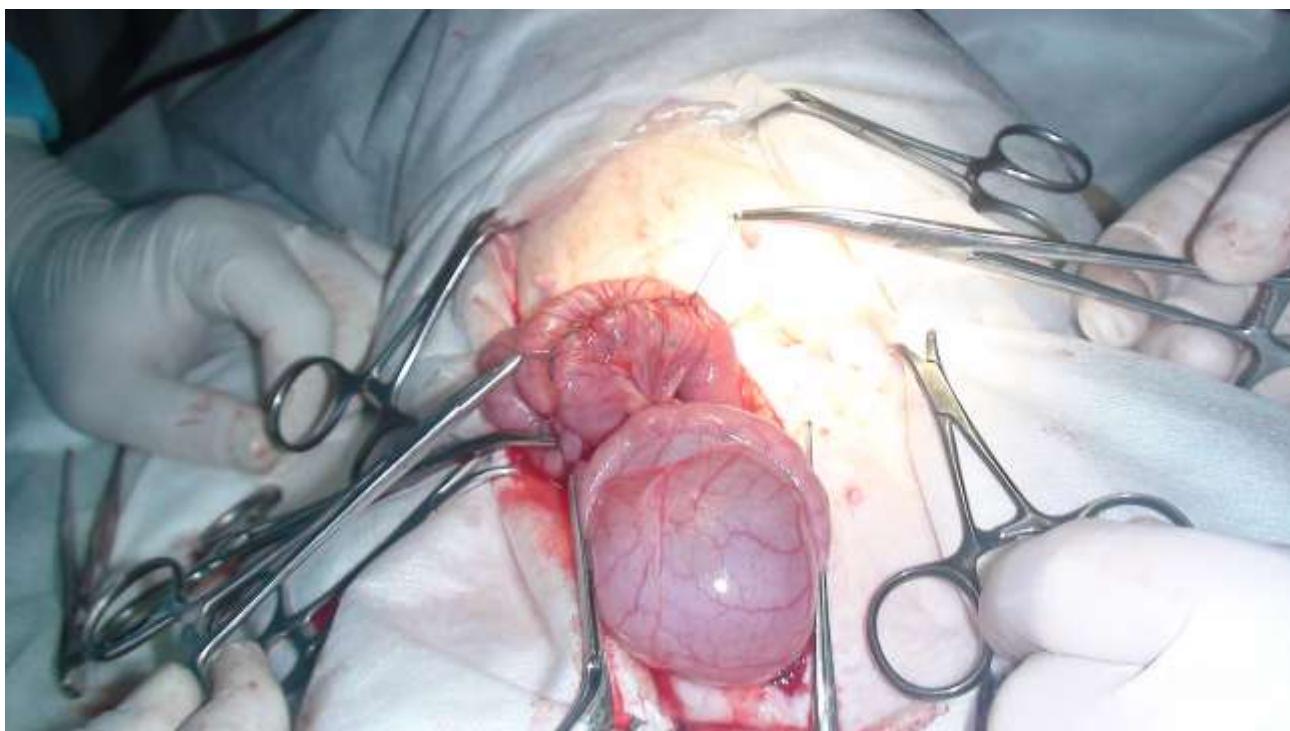


Рис. 3.2 Утворення кишково-кишкового анастомозу «бік в бік» (етап 1)

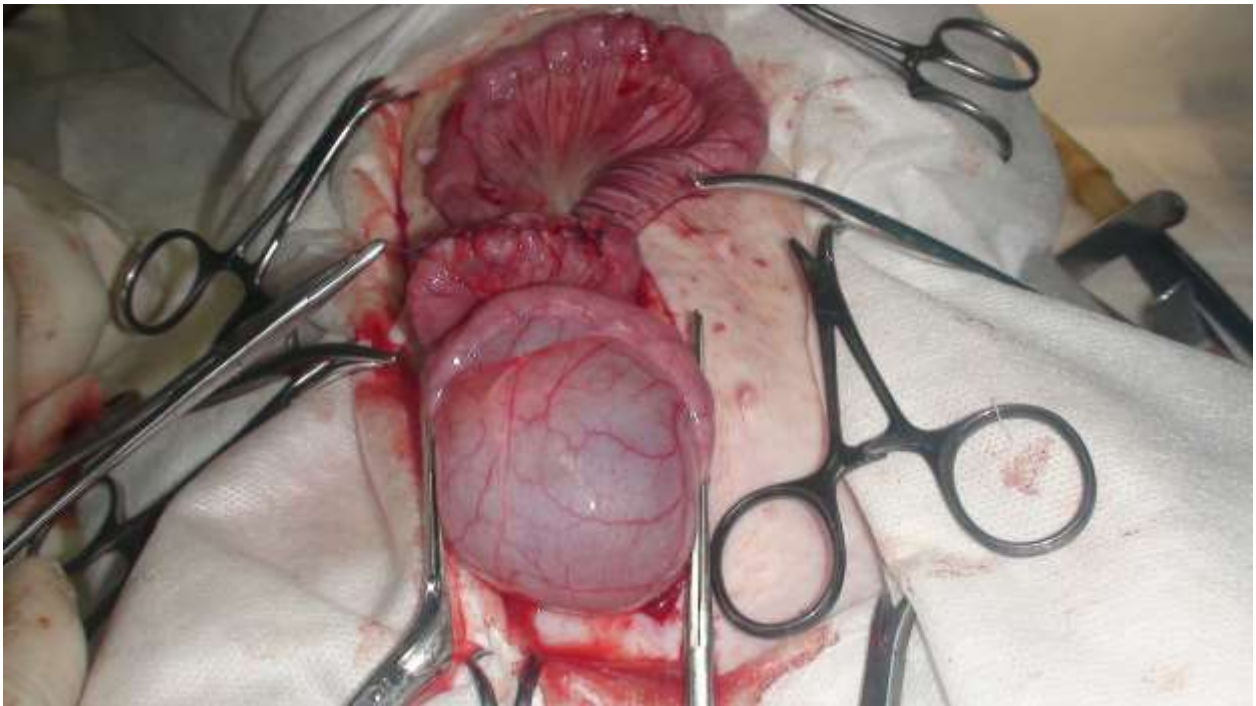


Рис. 3.3 Утворення кишково-кишкового анастомозу «бік в бік» (етап 2)

Відступивши 15 см від ілеоцекального клапана, ушивали кінець ізольованого кишкового сегмента безперервними серозно-м'язовими швами вікрил 4-0. Вдоль протибрижового краю розсікали дистальну частину клубово-кишкового сегмента довжиною приблизно 10 см. Розсічену частину сегмента U-подібно укладали, суміжні краї обох колін зшивали одним рядом безперервних серозно-м'язових швів вікрил 4-0. Нижню частину отриманого U-подібного сегмента укладали поперечно догори. Перед зшиванням вільних країв розсіченого сегмента в приносне коліно клубової кишки встановлювали сечовідні катетери № 3Fr, кінці яких виводили через стінку резервуара. В найбільш каудальній частині резервуара робили отвір, до якого підшивали уретру 6 швами вікрил 4-0. Шви зав'язували після проведення через уретру катетера Фолея № 8Fr. Резервуар дренивали цистостомічною трубкою 12Fr, яку виводили разом із сечовідними стентами через стінку резервуара. Резервуар укладали на місце, формували ізоперистальтичне приносне коліно (рис. 3.4).



Рис. 3.4 Детубуляризована резекована ділянка клубової кишки

Клубову кишку розтинали на рівні пересічених попередньо сечоводів – на 10 см вище клубово-кишкового резервуара. Сечоводи косо зрізали, розтинали уздовж і анастомозували кінець в бік з проксимальною нерозсіченою частиною клубово-кишкового сегмента. Стенти, які розташовані всередині сегмента, проводили в сечоводи. Відновлювали безперервність кишки. Стенти виводили через передню черевну стінку, в малий таз встановлювали дренажі через контрапертури. Рану ушивали вікрилом (рис. 3.5).

В післяопераційному періоді внутрішньом'язово вводили 0,25 г цефтріаксону один раз на день впродовж 10 днів, двічі на день промивали дренажі сечового міхура і сечоводів. Дренажі з малого таза видаляли на 4-ту добу, з сечового міхура і сечоводів – на 11-ту добу.

Таким чином, за рахунок створення оригінальної моделі артифіціального сечового міхура на свині-саміці шляхом виконання цистектомії з ілеоцистопластиком за Studer з'являється можливість вивчення морфофункціональних змін артифіціального сечового міхура на великій експериментальній тварині.



Рис. 3.5 Завершення формування неоцисту

При створенні експериментальної моделі ілеоцистопластики як експериментальні тварини обрано самок свиней, з огляду на подібність будови сечових шляхів та технічну зручність проведення маніпуляцій. Це дозволяє припустити, що виявлені в експерименті характерні морфофункціональні зміни неоцисту в динаміці перебігають максимально наближено до тих, що відбуваються в людини, згідно з відповідністю хімічних та фізичних явищ живої природи.

3.2 Морфогенез стінки тонкокишкового неоцисту в ролі сечового резервуара

При вивченні динаміки морфологічних змін в стінці сечового міхура після створення неоцисту через 3, 6, 12 місяців ($n=15$) нами встановлені деякі закономірності, які свідчать про активне ремоделювання детрузора впродовж

всього спостереження. Макроскопічне дослідження стінки сечового міхура інтактних свинок показало, що його слизова за текстурою нагадує оксамит, має блідо-рожевий колір. Стінка органа пружна, судинна мережа серозної оболонки проглядається на всьому протязі, видимі судини тонкі, помірного кровонаповнення.

Під час гістологічного дослідження встановлено, що стінка сечового міхура інтактної свинки складається з трьох шарів: внутрішнього, який поділяється на слизову та підслизову оболонки, середнього м'язового і зовнішнього, який вкриває сечовий міхур (рис. 3.6).

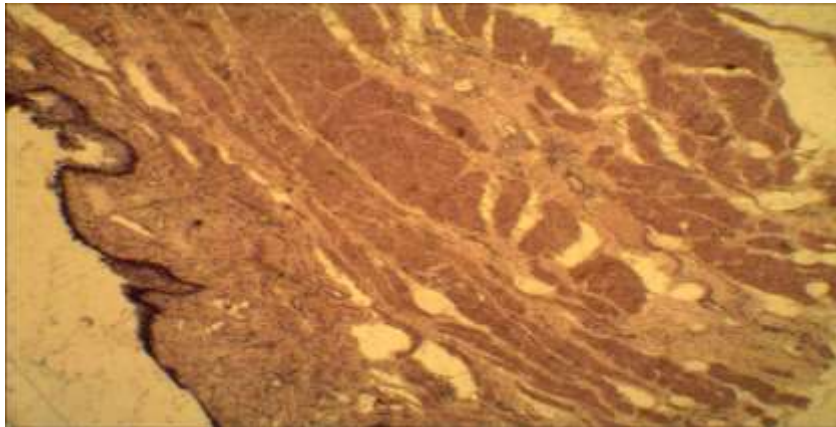


Рис. 3.6 Стінка сечового міхура інтактної свинки. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 40$

Слизова оболонка представлена щільною підслизовою пластиною, складеною з пучків фіброзних волокон, між якими визначається проміжна гомогенна речовина. Судини слизової мають малий діаметр, помірного кровонаповнення, розподілення з невисокою щільністю (рис. 3.7).

Зверху слизова вкрита перехідно-клітинним епітелієм, в якому чітко простежується базальний шар з дрібних, кубічної форми клітин, розташованих на власній базальній мембрані, і поверхневий шар, що складається з хаотично розташованих великих клітин з округлими й овальними ядрами. Зверху на

епітелії місцями проглядається тонка пластина еозинофільних глікозаміногліканів (рис. 3.8).



Рис. 3.7 Слизова оболонка сечового міхура інтактної свинки. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$

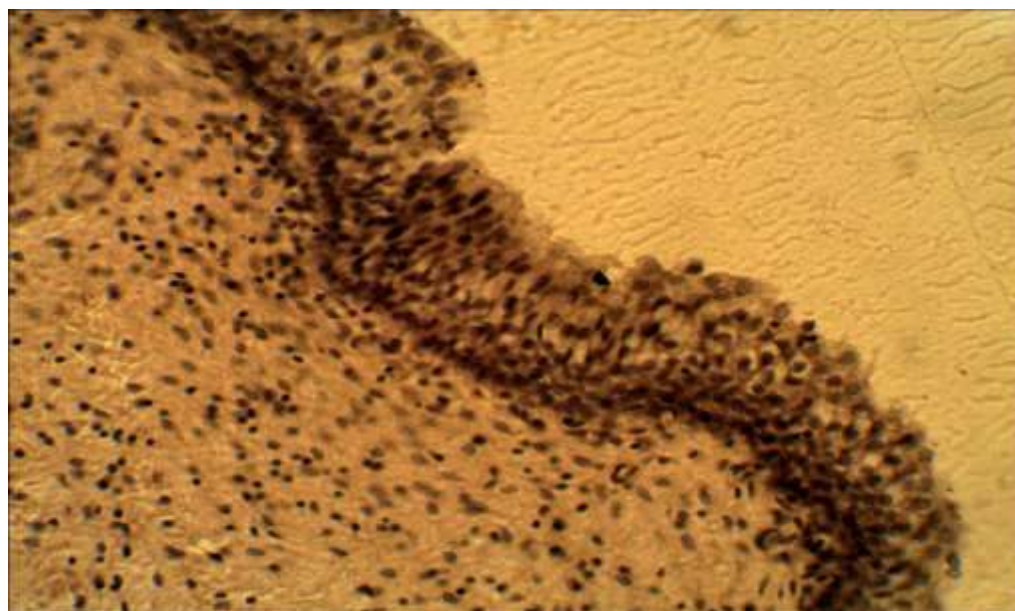


Рис. 3.8 Слизова оболонка сечового міхура інтактної свинки з перехідноклітинним епітелієм. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$

Середня (м'язова) оболонка має чітку тришарову організацію. Шари, зовнішній та внутрішній, розташовані вздовж, середній – циркулярно, розділені досить щільними сполучнотканинними пластинами, фіброзні волокна розподілені з помірною щільністю (рис. 3.9, 3.10).

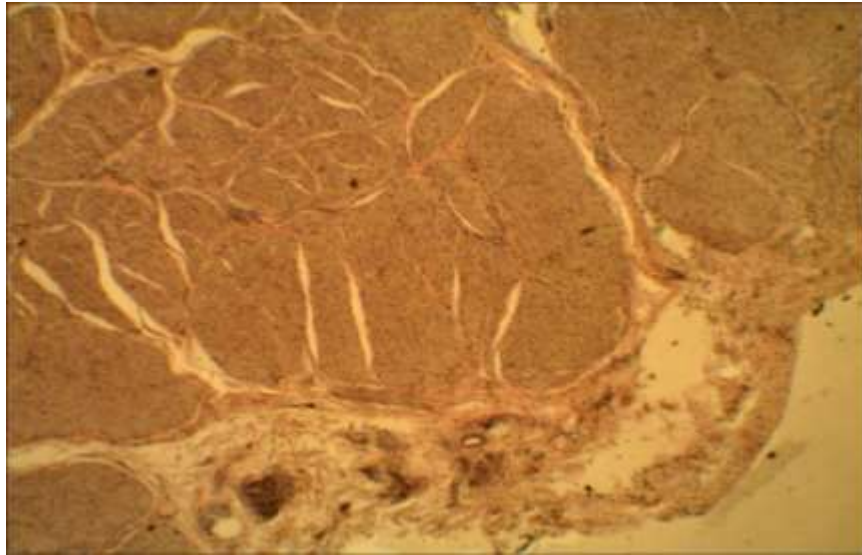


Рис. 3.9 М'язова оболонка сечового міхура інтактної свинки. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 40$

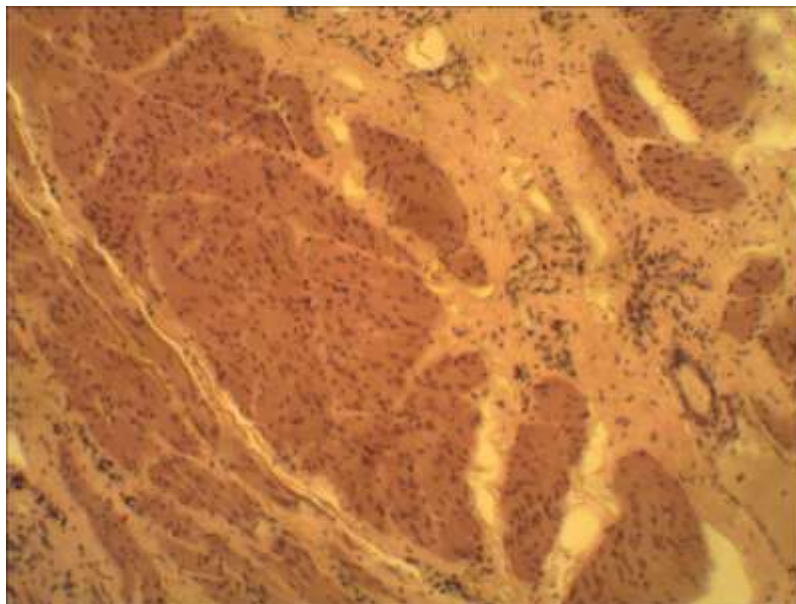


Рис. 3.10 М'язова оболонка сечового міхура інтактної свинки. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 100$

Фібробластів багато, ядра овальні, темні. У цих пластинах спостерігається велика кількість судин малого і середнього діаметра, тонкостінних, слабого кровонаповнення.

Зовнішня оболонка складається з тонкого шару сполучнотканинних волокон, які розташовуються однонаправлено, досить пухко. Задня поверхня органа представлена серозною оболонкою, вкритою мезотелієм. Судини серозної оболонки тонкостінні, помірного кровонаповнення.

Поверхня уротелію сечового міхура виглядає нерівною. Профіль уротелію має хвилястий вигляд. Особливістю поверхневих клітин перехідного епітелію є їхня здатність до реконфігурації у відповідь на зміну натягу стінки сечового міхура. При цьому поверхня клітин може бути гладенькою або складчастою. Ці зміни відбуваються без порушення цілісності епітеліального шару, іншими словами, кількість шарів уротелію зберігається і при зміні товщини епітелію. У розслабленому сечовому міхурі великі поверхневі клітини епітелію мають округлу форму і значні розміри, при розтягуванні сечового міхура вони стають плоскими. Слід зазначити, що при розтягуванні стінки просвіт між клітинами уротелію не утворюється – вони тісно поєднані щільними контактами і десмосомами. Таким чином, сеча не проникає через стінку сечового міхура, навіть незважаючи на суттєві відмінності осмотичного і гідростатичного тиску в інтра- й екстрацелюлярному просторі. Така будова слизової оболонки запобігає альтерації клітинних структур уротелію, незважаючи на досить агресивні властивості сечі.

Поряд із гуморальними факторами неспецифічної резистентності слизова оболонка сечового міхура виступає в ролі досить надійного бар'єру щодо інфекційних агентів – бактерій і вірусів. Пошкодження слизової механічними або агресивними хімічними факторами веде до інфікування й індукції запальної відповіді. В нормі цього не відбувається, отже, відсутність ознак запалення у

проаналізованих препаратах свідчить про конкретність відбору тварин на початку експерименту.

На поверхні клітин перехідноклітинного епітелію СМ (уротелію) міститься шар глікозаміногліканів (так званий глікокалікс). Цей шар являє собою мукополісахаридну субстанцію, що має антиадгезивні властивості та перешкоджає проникненню в стінку сечового міхура води, різних факторів сечі і бактерій. Наявність глікозаміногліканів запобігає адгезії інфектагентів на поверхні уротелію. З огляду на той факт, що стан глікокаліксу визначається гормональним профілем організму, а також наявністю агресивних зовнішніх впливів, будь-які дистрофічні процеси можуть негативно впливати на стан мукополісахаридного шару.

Стінка тонкої кишки інтактної свинки, з якої в подальшому формувався сечовий міхур, складається із слизової, підслизової, м'язової та серозної оболонок (рис. 3.11).

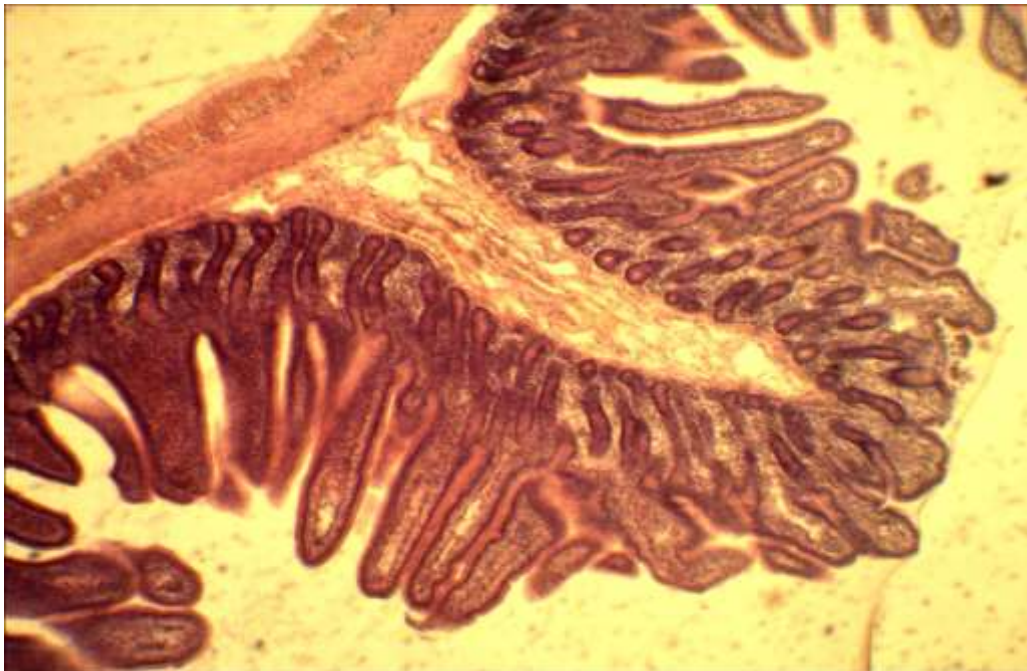


Рис. 3.11 Стінка тонкої кишки інтактної свинки. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 40$

Слизова оболонка тонкої кишки інтактної свинки вкрита одношаровим циліндричним епітелієм, між клітинами якого розташовуються келихоподібні клітини. На слизовій оболонці виявляються численні ворсинки, між якими розташовуються кишкові крипти (рис. 3.12).



Рис. 3.12 Ворсинки слизової оболонки тонкої кишки інтактної свинки. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$

Власна пластинка слизової оболонки утворена пухкою волокнистою сполучною тканиною з великою кількістю фіброblastів, лімфоцитів, лейкоцитів та малодиференційованих клітин. У власному шарі слизової оболонки та у підслизовому шарі розташовуються численні поодинокі лімфоїдні фолікули.

М'язова оболонка тонкої кишки складається з внутрішнього шару циркулярно розташованих м'язових волокон та зовнішнього – вздовж м'язових волокон, що лежать. Серозна оболонка стінки тонкої кишки вкрита мезотелієм.

Значний інтерес являє динаміка морфологічних змін у стінці тонкої кишки на віддалених етапах після формування необладера. При мікроскопічному дослідженні «протеза» сечового міхура через 3 міс. після його формування встановлено, що його стінка на дотик пружна, внутрішня поверхня

досить гладенька, блідо-рожевого кольору. Слизова неоцисту на цьому етапі експерименту рівна, складчастість не проглядається, ворсинки збережені, але вони розширені та згладжені (рис. 3.13)



Рис. 3.13 Розширені та згладжені ворсинки слизової оболонки неоцисту через 3 міс. після його формування. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 100$

Власна речовина з прошарками фіброзних волокон і помірною кількістю лімфоцитів. У слизовій визначаються групи трубчастих залоз. Це відрізняє стінку «протеза» від слизової тонкої кишки, де ці залози розподілені рівномірно. Епітелій залоз звичайний призматичний, ядра клітин невеликі, темні. Що стосується епітелію, який покриває ворсинки, то, на відміну від висхідної кишки, визначаються певні особливості, які полягають в невиразності впорядкованості келихоподібних клітин і хаотичному розташуванні епітеліоцитів циліндричного епітелію.

Подальший аналіз показав, що візуально підслизова пластина неоцисту на даному етапі дослідження є ущільненою за рахунок великої кількості фіброзних волокон. Позафолікулярний розподіл лімфоцитів різко знижений. Відзначаються поодинокі деформовані фолікули з тонкішою розрідженою периферією і щільним лапчастим центром, а також лімфоїдні елементи з

невеликими темними ядрами. Подекуди зустрічаються збережені Песрові бляшки, але фолікули, що входять до їх складу, деформовані, зменшені в розмірах, з нещільним розподілом лімфоїдних елементів (рис. 3.14).

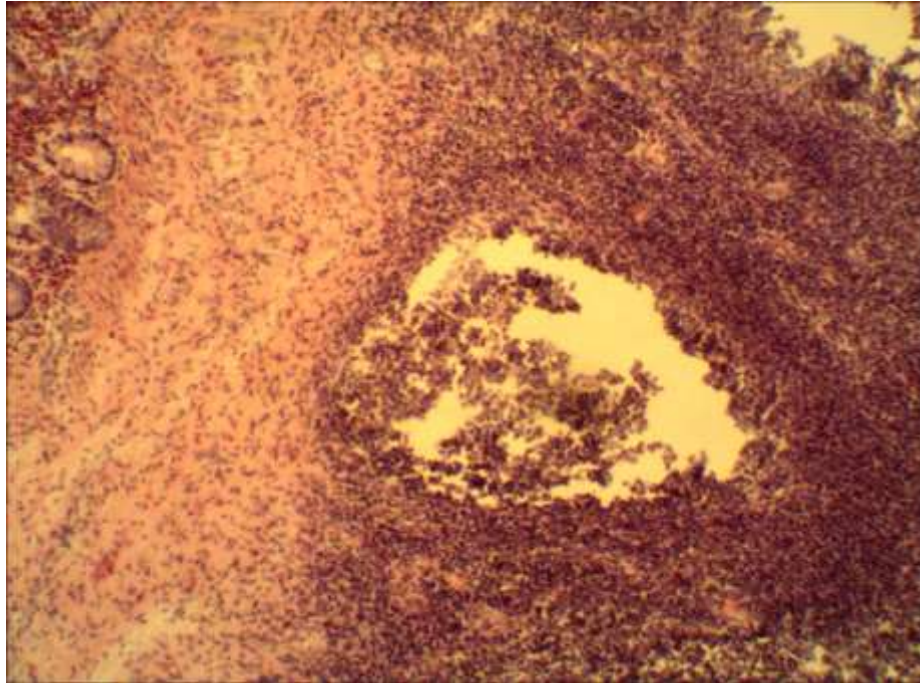


Рис. 3.14 Деформований, зменшений у розмірах лімфоїдний фолікул у слизовій оболонці неоцисту через 3 міс. після його формування. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 100$

М'язова оболонка двошарова, розташування пучків міоцитів у кожному шарі досить неупорядковане. Ядра міоцитів овальні, інтенсивно забарвлені. Міжпучкові прошарки розширені, часто вони складаються з щільно упакованих фіброзних волокон, в окремих випадках фіброзні волокна розподілені досить пухко. Фібробласти в пучках визначаються в помірних кількостях. Шари розділені сполучнотканинною пластиною з пухко розподілених волокон, невеликої кількості інтенсивно забарвлених фіброцитів і численних дрібних судин. Самі міоцити в пучках візуально ширші, ніж у

нормальній кишці. В цілому візуально м'язовий шар виглядає ширшим, ніж в інтактній кишці (рис. 3.15).

В серозній оболонці неоцисту сполучнотканинні волокна стовщені, міжсполучнотканинні прошарки розширені, візуально пухкі. Судини помірного кровонаповнення зі стовщеною стінкою, порівняно з контролем.

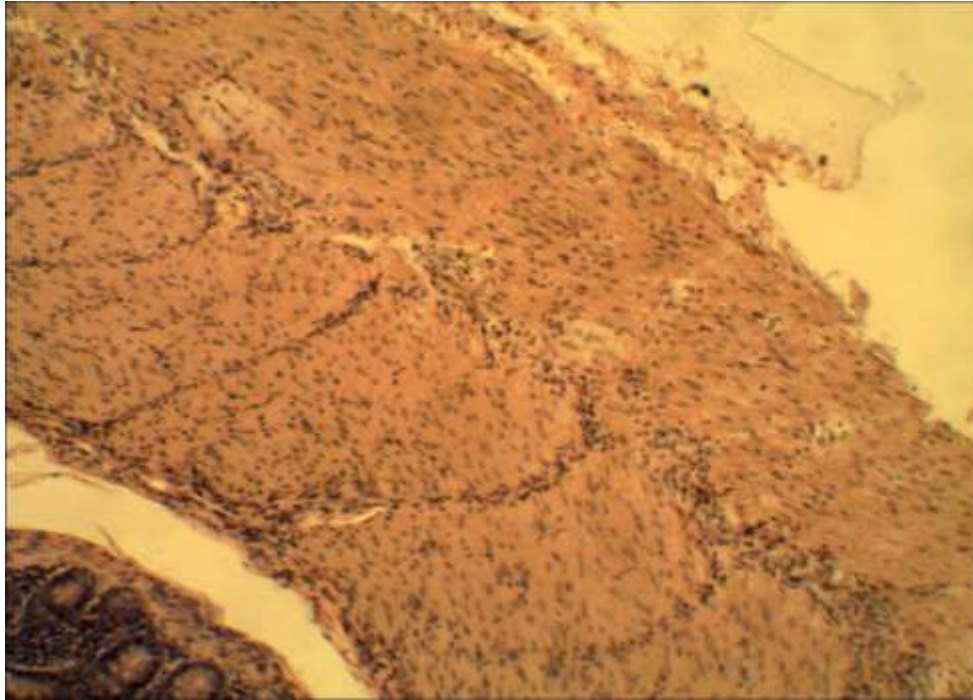


Рис. 3.15 М'язова оболонка неоцисту через 3 міс. після його формування. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 100$

Таким чином, при формуванні неоцисту його стінка під дією агресивного середовища проходить поступовий морфогенез, спрямований на формування епітелію, подібного за своїми властивостями до перехідного. При цьому визначається поступове відновлення епітеліального покриву слизової оболонки кишкового сечового міхура. Особливістю компенсаторної перебудови слизової оболонки на цьому етапі є переважання слизоутворюючих келихоподібних клітин над іншими клітинними елементами слизової оболонки кишкової стінки.

З огляду на той факт, що сеча чинить шкідливу дію на слизову оболонку кишки, наявність слизоутворюючих клітин, з одного боку, оберігає кишку від пошкодження, а з іншого – змінює вектор руху рідини через стінку кишки на протилежний, зумовлений градієнтом осмотичного і гідростатичного тиску, тобто відбувається збільшення виділення слизу при блокуванні всмоктування. Цей перехідний період триває кілька місяців.

Відповідно до наших спостережень, «переламний» момент у формуванні неоуротелію відбувається приблизно через півроку після формування необладера.

При макроскопічному дослідженні «сечового міхура» через 6 міс. після його формування візуальних відмінностей від такого у інтактних свиней, крім невеликого його розміру, не виявлено.

У слизовій оболонці складчастість не визначається. При мікроскопічному дослідженні виявляються «сосочки», які, очевидно, утворились з ворсинок. У власній речовині слизової оболонки зустрічаються невеликі групи трубчастих залоз звичайного вигляду.

Власна пластинка слизової оболонки представлена численними пучками фіброзних волокон.

Слизова зверху вкрита епітелієм. Епітеліоцити невисокі, значно нижчі за кишковий циліндричний епітелій, розташовуються вони дещо хаотично, утворюючи дво-трирядні ділянки. Ядра епітеліоцитів округлі, середніх розмірів, темно забарвлені. В цілому епітеліальне покриття слизової оболонки подібне за структурою до перехідноклітинного епітелію сечового міхура (рис. 3.16).

У підслизовому шарі спостерігається розріджений розподіл лімфоцитарних елементів. Пеєрові бляшки в будь-якому вигляді не визначаються, ближче до слизової зустрічаються поодинокі деформовані (маленький лапчастий центр і тонка нерівномірна периферія) лімфоїдні фолікули.

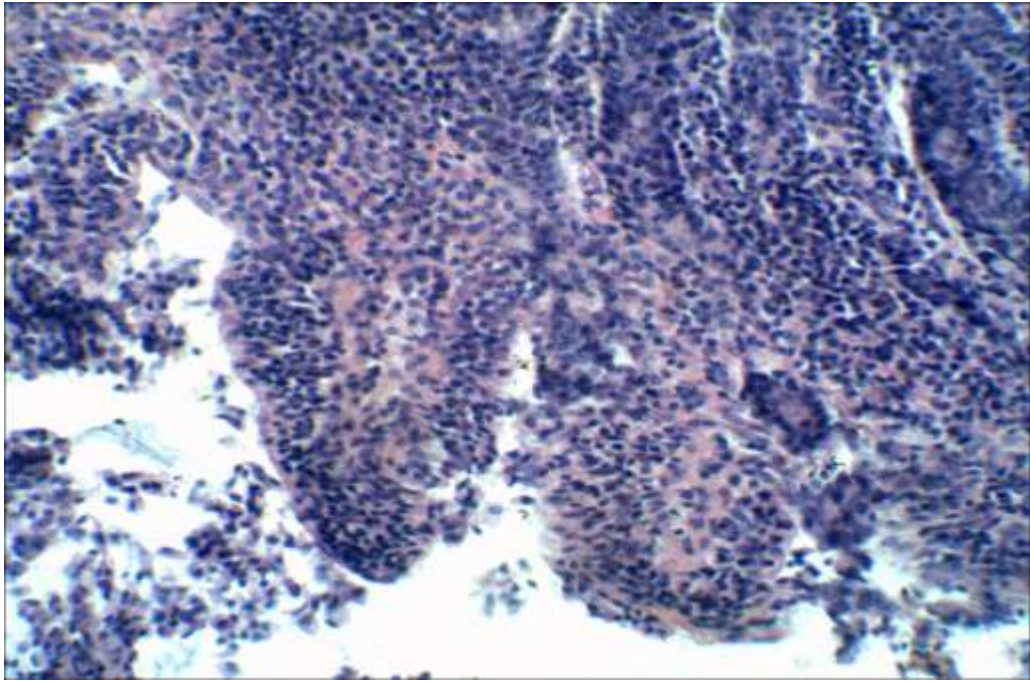


Рис. 3.16 Слизова оболонка неоцисту через 6 міс. після його утворення. Стовщені сосочки вкриті епітелієм, який утворює дво-трирядні ділянки. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$

М'язовий шар візуально стовщений, порівняно з м'язовим шаром кишки, з якої формували «сечовий міхур» (рис. 3.17).

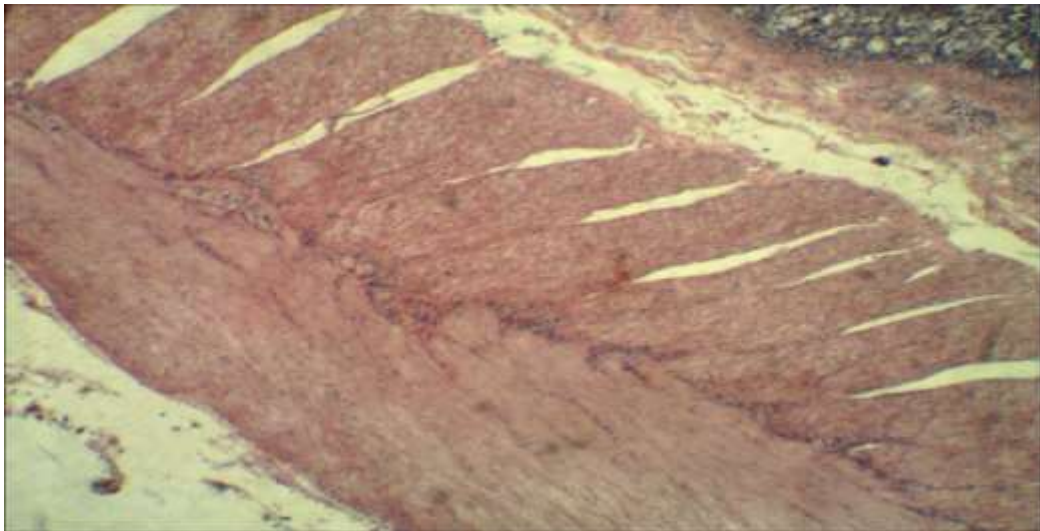


Рис. 3.17 Стовщена м'язова оболонка артифіціального сечового міхура через 6 міс. після його формування. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 40$

Стовщення зумовлене збільшенням ширини кожного з міоцитів. Ядра їх округлі, інтенсивно забарвлені. Міоцити зібрані в досить широкі пучки, інтерстиціальні прошарки розширені, щільні. Зберігається, як і в кишці, двошаровість м'язового шару.

Зовнішня оболонка неoblадера, порівняно з оболонкою інтактної кишки, була стовщена за рахунок більшої кількості і товщини сполучнотканинних волокон. Розташовувалися вони досить пухко, між ними простежувалися фіброцити (рис. 3.18).

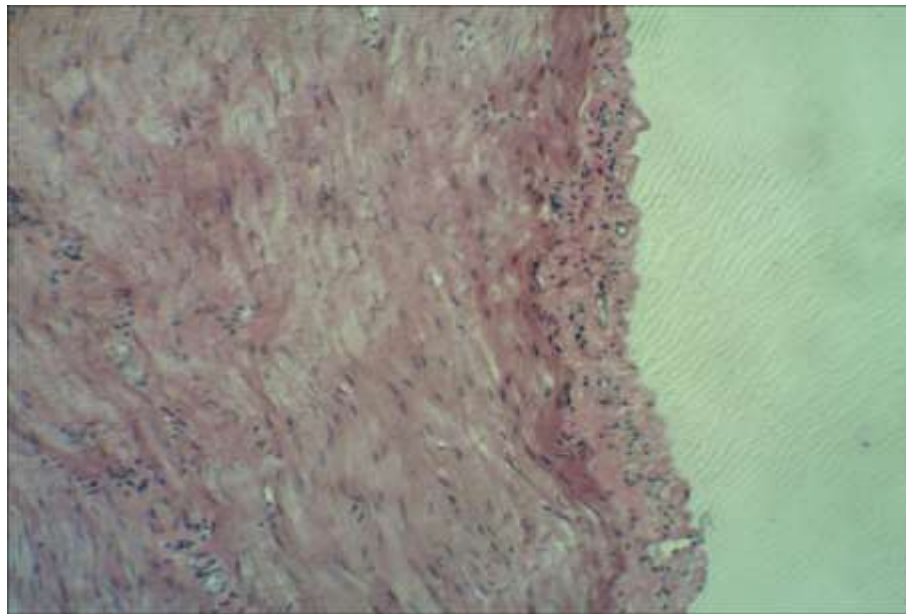


Рис. 3.18 Збільшення товщини зовнішньої оболонки артіфіціального сечового міхура через 6 міс. після його формування. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 100$

Нарешті, через рік після формування неoblадера відбуваються остаточні зміни гістологічної структури, тобто можна вважати, що на цей момент морфогенез є завершеним.

Морфологічні дослідження «сечового міхура» через 12 міс. після його формування показали наступне. Стінка «сечового міхура» макроскопічно без

видимих порушень, пальпаторно пружна, сіро-рожевого кольору. Внутрішня поверхня гладенька, зверху бархатиста.

Що стосується слизової, то слід зазначити відсутність складчастості, характерної для висхідної кишки. Відбувається трансформація ворсинок у сосочкоподібні, досить широкі утворення. Крипти в силу цієї трансформації не простежуються в жодному із зразків. Власна речовина цих утворень представлена пучками фіброзних волокон, проміжною речовиною і поодинокими тонкостінними судинами невеликого діаметра. Зверху сосочкоподібні утворення вкриті епітелієм, зі зниженим за висотою тілом, схожі не на циліндричні, а на широкі пласкі. Епітеліоцити дрібні, розташовуються хаотично, утворюючи дво-трирядну структуру, подібну до структури перехідноклітинного епітелію (рис. 3.19).

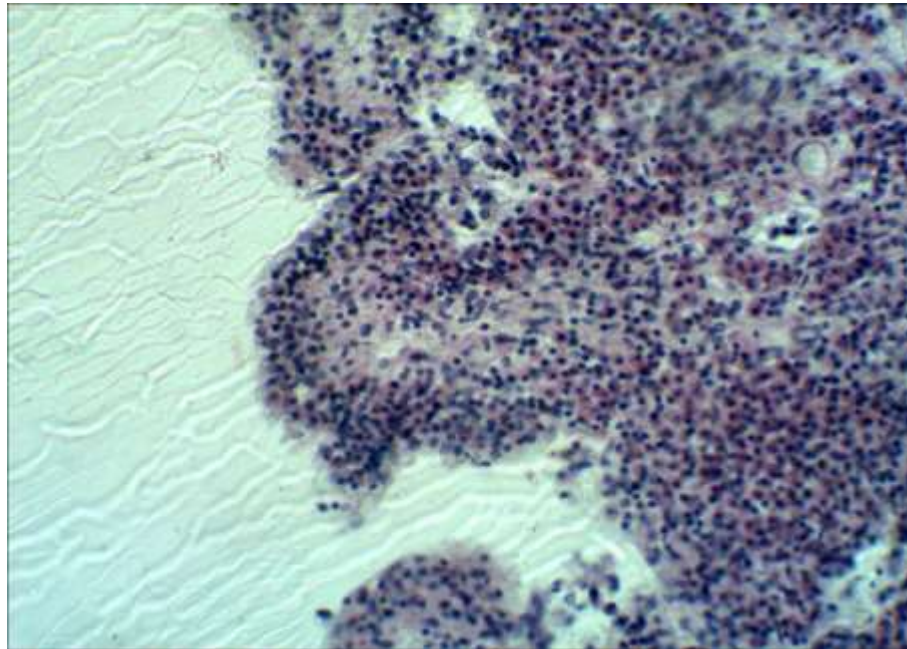


Рис. 3.19 Слизова оболонка неоплазма через 12 міс. після його утворення. Зabarвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$

Підслизова утворена неупорядковано, пухко розташованими сполучнотканинними волокнами. Помітні дифузно розсіяні фіброцити,

лімфоїдні елементи, капіляри. Ширина підслизової пластини неоднакова по протяжності. У більш широких місцях підслизової визначаються невеликі, деформовані лімфоїдні фолікули з тонкою розірваною периферією і невеликим пухким центром.

М'язова оболонка двошарова, як у висхідній кишці, значно стовщена. Міоцити широкі, цитоплазма густо забарвлена, еозинофільна, ядра овальні, соковито забарвлені. Пучки волокон широкі, міоцити щільно упаковані, але не зливаються. Міжпучкові прошарки з фіброзних волокон щільно упаковані, фібробласти поодинокі. Шари м'язової оболонки розділені сполучнотканинною пластиною. Пластина сформована пучками фіброзних волокон, досить широкими і щільно упакованими. Судини повнокровні, частина з них має фіброз стінок (рис. 3.20, 3.21).

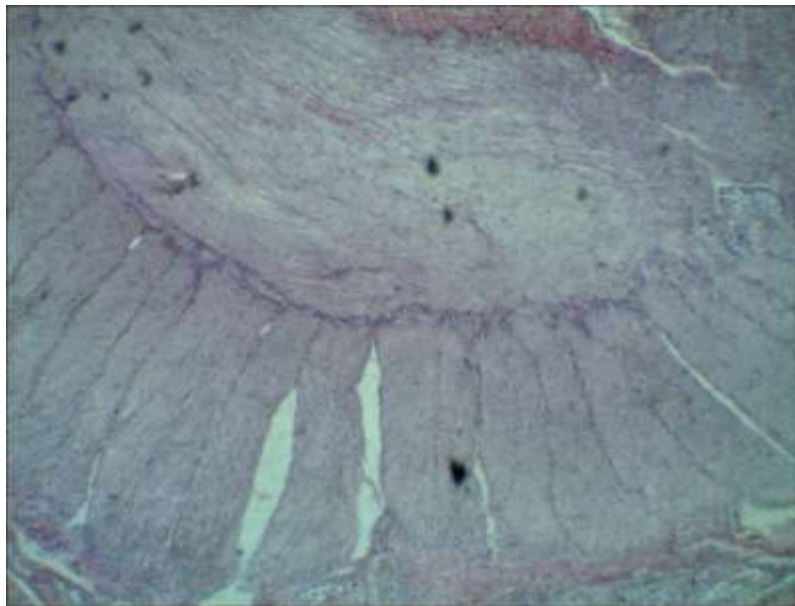


Рис. 3.20 Значно стовщена м'язова оболонка необладера через 12 міс. після його утворення. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 40$

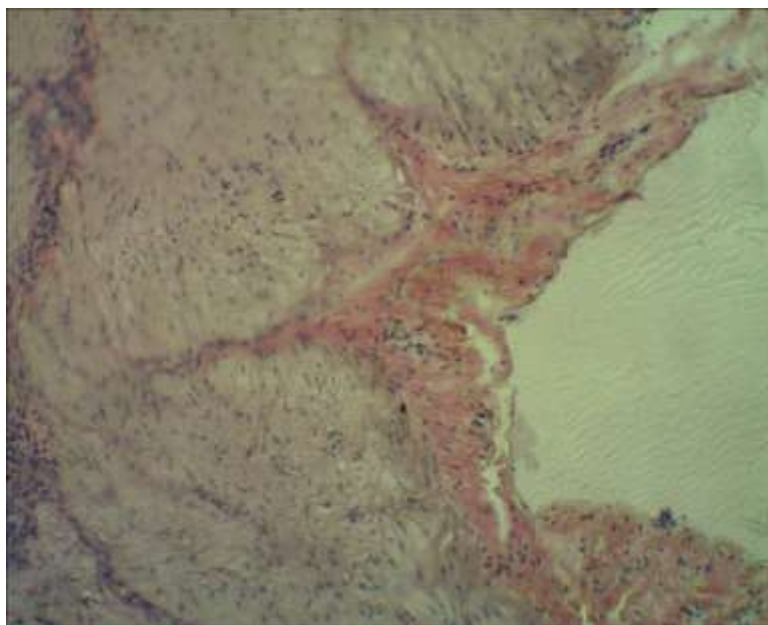


Рис. 3.21 М'язова оболонка неоплазера через 12 міс. після його утворення. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 100$

Серозна оболонка неоплазера значно стовщена, складається з широких переплечених пучків сполучнотканинних волокон і помірної кількості фібробластів. Судини повнокровні, деякі зі стовщеними стінками (рис. 3.22) .



Рис. 3.22 Серозна оболонка неоплазера через 12 міс. після його утворення. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 100$

Таким чином, результати досліджень показали, що формування «сечового міхура» зі стінки клубової кишки супроводжується трансформацією останньої. Це проявляється в стовщенні й ущільненні адвентиції і збільшенні в ній (візуально) кількості дрібних кровоносних судин.

М'язова оболонка зберігає двохшаровість, як в стінці кишки, але кожен з шарів стовщується за рахунок гіпертрофії міоцитів. Фібозна пластина, що розділяє м'язові шари, ущільнюється і дещо стовщується. У ній візуально більше судин. Підслизова пластина також стовщується за рахунок проміжної тканини і фіброзних волокон. Водночас в ній зменшується кількість залоз (але зберігаються їх групи). Структура залоз при цьому не змінюється. До 12 міс. практично зникають Пейєрові бляшки, але зберігаються в невеликій кількості лімфоїдні фолікули, при цьому частина з них деформовані.

У слизовій не визначаються складки і ворсинки, характерні для кишки, їх замінюють сосочкоподібні утворення. Епітелій слизової також трансформується з високого циліндричного на подібний до перехідного епітелію, характерного для інтактного сечового міхура. Таким чином, епітелій слизової втрачає здатність до всмоктування, характерного для кишкового епітелію, і стає досить резистентним до дії агресивного середовища. Водночас, формування глікокаліксу, характерного для уротелію, не відбувається.

Через шкідливу дію сечі і стійку бактеріурію в літературі постійно обговорюється питання про біологічну суть стромальної клітинної інфільтрації, яку розглядають як прояви гострого і хронічного запалення з виділенням ранньої запальної стадії як неодмінного компоненту адаптації трансплантата до нових умов [133, 191]. Однак в цьому дослідженні ми не отримали жодного випадку запальної реакції, натомість на ранніх стадіях превалювали дистрофічно-дегенеративні зміни трансплантованого епітелію. Це свідчить про недоцільність застосування високих доз уросептиків та протизапальних засобів у післяопераційному періоді, які рекомендують деякі дослідники.

3.3 Цитологічний профіль ортотопічного сечового міхура в динаміці

При дослідженні центрифугованого осаду зразків сечі експериментальних тварин з'ясовано, що найбільші відмінності за рівнем мікрогематурії порівняно з контролем спостерігаються через 3 міс. після виконання ілеоцистопластики. При цьому суттєво зростає кількість еритроцитів (як свіжих, так і вилужених) – до $(50,0 \pm 2,1)$ пзр. Водночас кількість лімфоцитів, нейтрофілів та злуценого епітелію є відносно невисокою (табл. 3.1)

Таблиця 3.1

**Динаміка показників аналізу осаду сечі експериментальних тварин
впродовж дослідження, пзр, $M \pm m$, $n=40$**

	Лімфоцити	Нейтрофіли	Еритроцити	Базальний епітелій	Поверхневий епітелій	Інші види епітелію
Контроль	$7,5 \pm 0,3$	$18,2 \pm 0,5$	$0,4 \pm 0,1$	$24,7 \pm 3,9$	$48,3 \pm 2,8$	$0,9 \pm 0,1$
Через 3 міс.	$5,0 \pm 0,8^*$	$6,6 \pm 0,8^{**}$	$50,0 \pm 2,1^{**}$	$28,4 \pm 2,2$	$10,2 \pm 2,1^{**}$	—
Через 6 міс.	$3,9 \pm 0,3^{**}$	$12,4 \pm 0,7^{**}$	$23,2 \pm 1,4^{**}$	$27,9 \pm 0,7$	$28,7 \pm 3,5^{**}$	$3,9 \pm 0,1^{**}$
Через 12 міс.	$9,0 \pm 0,9^*$	$17,8 \pm 0,9$	$19,0 \pm 1,1$	$16,5 \pm 0,6$	$34,7 \pm 2,9^{**}$	$2,6 \pm 0,3^{**}$

Примітки:

1. * – відмінності з контролем є статистично значущими ($p < 0,05$);
2. ** – відмінності з контролем є статистично високозначущими ($p < 0,01$).

Таким чином, впродовж всього періоду спостереження поряд з ремоделюванням стінки неоцисту відбуваються зміни у складі осаду сечі, характерні для дистрофічних процесів. Вони полягають у збільшенні злучення епітелію, як поверхневого, так і базального, а також у збільшенні лімфоцитарної та нейтрофільної інфільтрації, внаслідок чого збільшується екскреція цих клітин – до $(9,0 \pm 0,9)$ та $(7,8 \pm 0,9)$ пзр відповідно.

Через 3 міс. після операції (див. табл. 3.1) співвідношення клітин у новоствореному міхурі відрізнялося від норми, а саме – знижувалася частка лімфоцитів на 33,3 % і нейтрофілів – на 63,7 %, різко підвищувалася частка еритроцитів – майже в 50 разів, знижувалася частка епітеліоцитів – на 79,3 % (рис. 3.23–3.25).

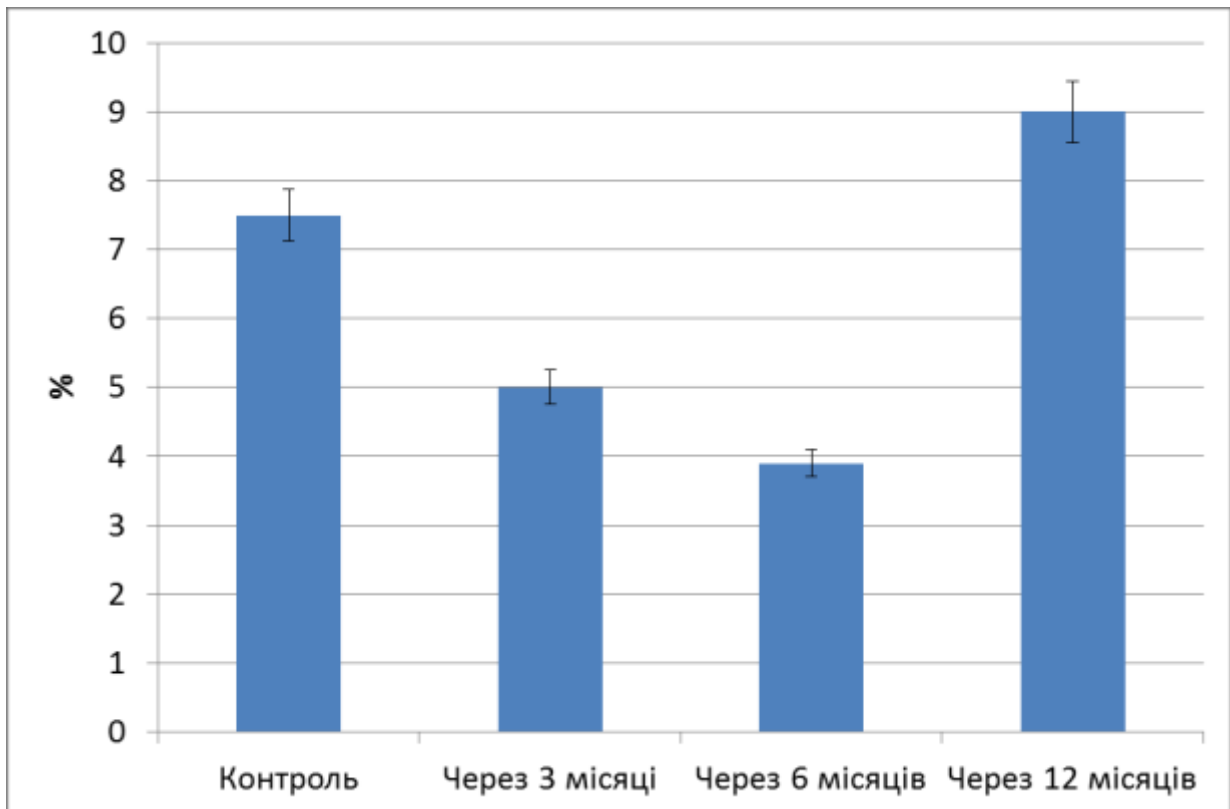


Рис. 3.23 Динаміка вмісту лімфоцитів в осаді сечі, %

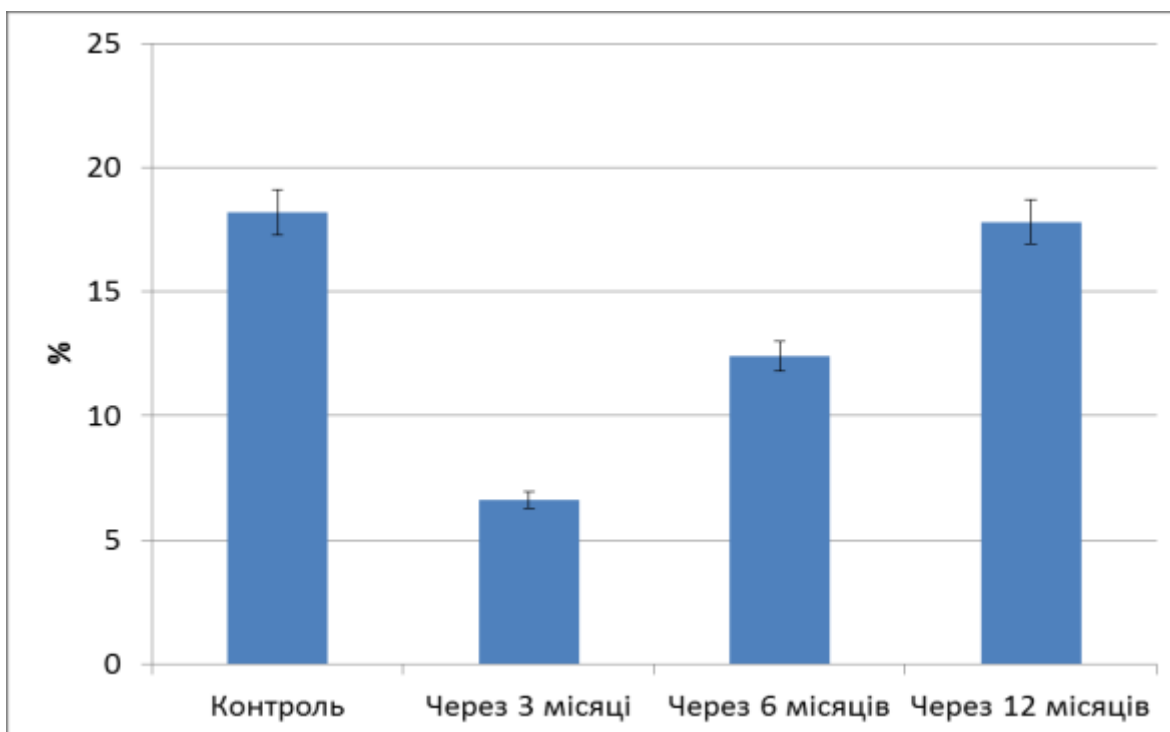


Рис. 3.24 Динаміка вмісту нейтрофілів у осаді сечі, %

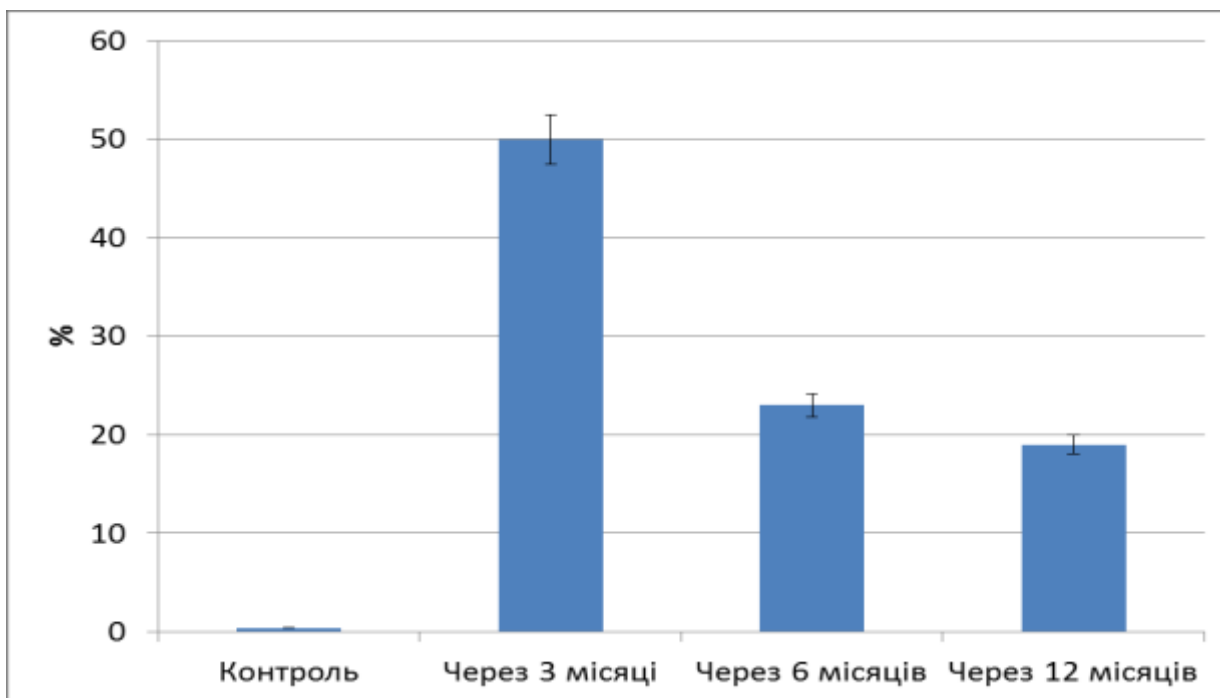


Рис. 3.25 Інтенсивність мікрогематурії на різних етапах експерименту, %

Потребує пояснення тимчасове скорочення екскреції лімфоцитів з сечею у перші 3 міс. після створення АСМ (див. рис. 3.24, 3.25).

Таке положення пов'язане, на наш погляд, з тим, що слизова сформованого з кишечника сечового міхура змінюється, контактуючи з сечею. Поява великої кількості еритроцитів (див. рис. 3.24) – результат мікротравми слизової.

Крім того, в підслизовому шарі наявна безліч лімфоїдних фолікулів, що захищає слизову без створення на її поверхні великої концентрації лімфоцитів і нейтрофілів. Водночас слід вказати на стан епітеліальної вистилки клубової кишки, що представлена призматичним епітелієм. Злущування його відбувається, на нашу думку, за рахунок механічної травми, а не внаслідок природного оновлення. Звертає на себе увагу різке зниження кількості поверхневого епітелію – на 79,3 %, а кількість базального епітелію достовірно не змінюється у тварин при спостереженнях через 1 і 6 міс.

До моменту закінчення експерименту кількість лімфоцитів стабілізується і навіть збільшується на 16,7 %, порівняно з контролем, а рівень нейтрофілів наближається до даних контролю. Можна вважати, що за цей термін відбувається трансформація стінки АСМ: фолікули підслизової деградують, і захист слизової переходить в режим, характерний для типової слизової сечового міхура. Водночас знижується частка еритроцитів на 62 %, порівняно з даними у тварин через 3 міс. Вочевидь, це пов'язано з огрубінням стінки сечового кондуїту й адаптацією до травматизації.

Що стосується складу епітеліоцитів центрифугату, то він наближається до показників інтактних тварин (див. рис. 3.13). Так, кількість поверхневого епітелію через 12 міс. збільшується на 71,2 %, порівняно з показниками у тварин через 1 міс., але все ще знижена на 28,2 %, порівняно з контролем.

Можна вважати, що відбувається трансформація призматичного епітелію, оновлений епітелій набуває властивостей, форми і вигляду уротелію, однак цей

процес потребує тривалого часу, про що свідчить поява нестандартних епітеліоцитів.

Ультраструктурні зміни необладера стосуються не лише адаптації епітелію трансплантованої кишки. Якщо спочатку модифіковані ентероцити завжди впорядковані, то згодом їх лінійний розподіл змінюється. Поступово відбувається зміщення в співвідношенні ентероцитів і келихоподібних клітин, при відносному збереженні конститутивної секреції та типів клітин. Більше того, спостережувані зміни слід приписати фенотипічній адаптації. Йдеться не про справжню метаблазію, що передбачає перепрограмування стовбурових клітин, а саме про адаптацію епітелію до нових умов функціонування (рис. 3.26).

При морфологічному дослідженні осаду сечі експериментальних тварин було визначено значну кількість злущених епітеліоцитів та лейкоцитів (рис. 3.27). Така картина може свідчити про активне запалення слизової необладера.

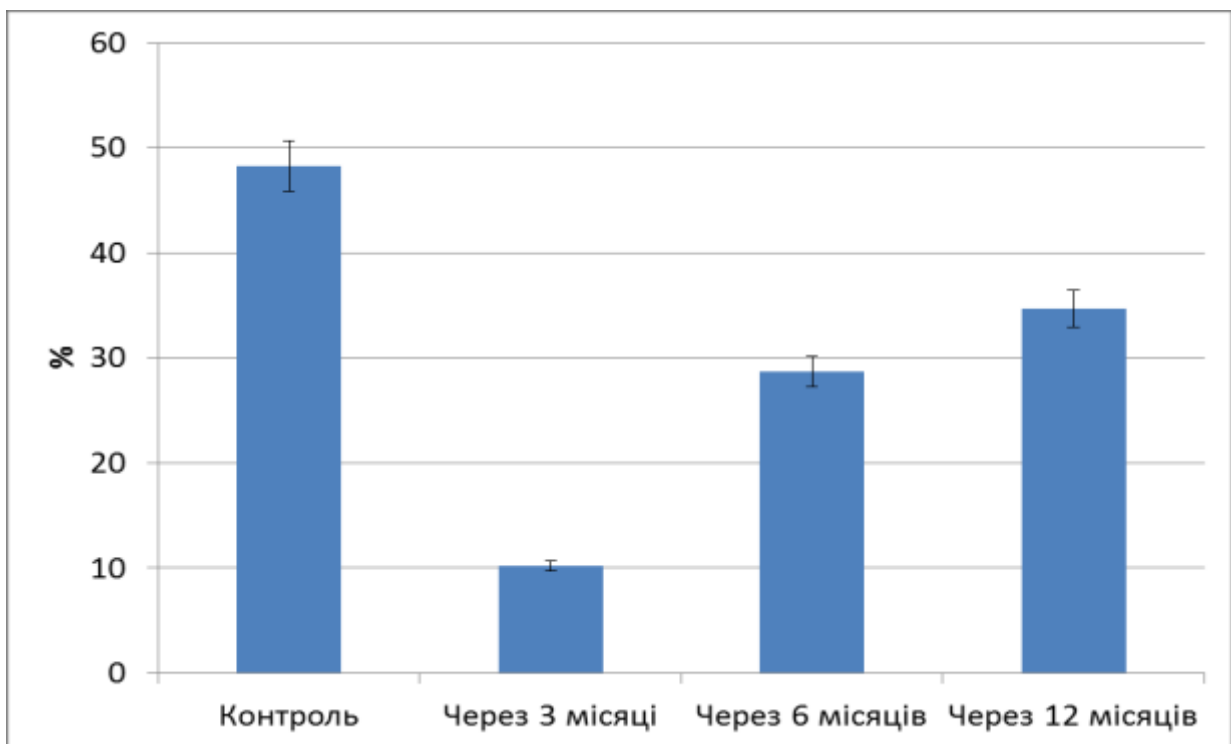


Рис. 3.26 Екскреція клітин поверхневого епітелію з сечею, %

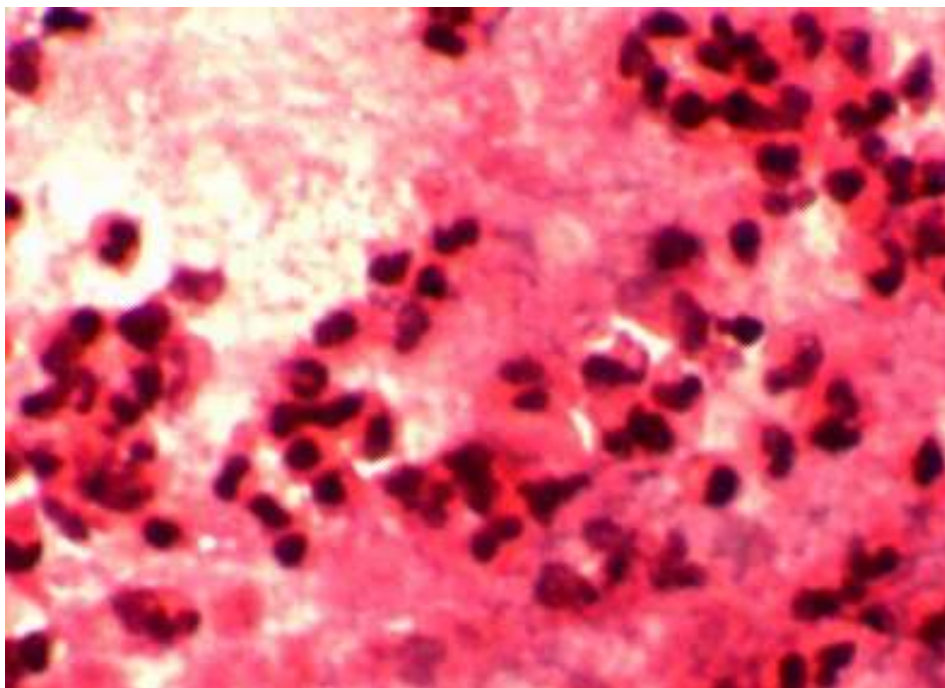


Рис. 3.27 Осад сечі експериментальної тварини № 7. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 100$

Подальші дослідження доводять, що ступінь лейкоцитарної інфільтрації у стінці необладера є настільки високим (рис. 3.28), що у макропрепараті осаду визначаються цілі кластери змінених лейкоцитів.

При патологічних станах створюються умови для більш інтенсивної десквамації епітелію, в зв'язку з чим кількість епітеліоцитів в сечі збільшується. При цьому можуть змінюватися фізико-хімічні властивості сечі, в результаті чого епітелій зазнає дегенеративних змін і втрачає свій нормальний вигляд – розбухає, набуває зернистості, в ньому з'являються крапельки жиру, що часто ускладнює його диференціацію.

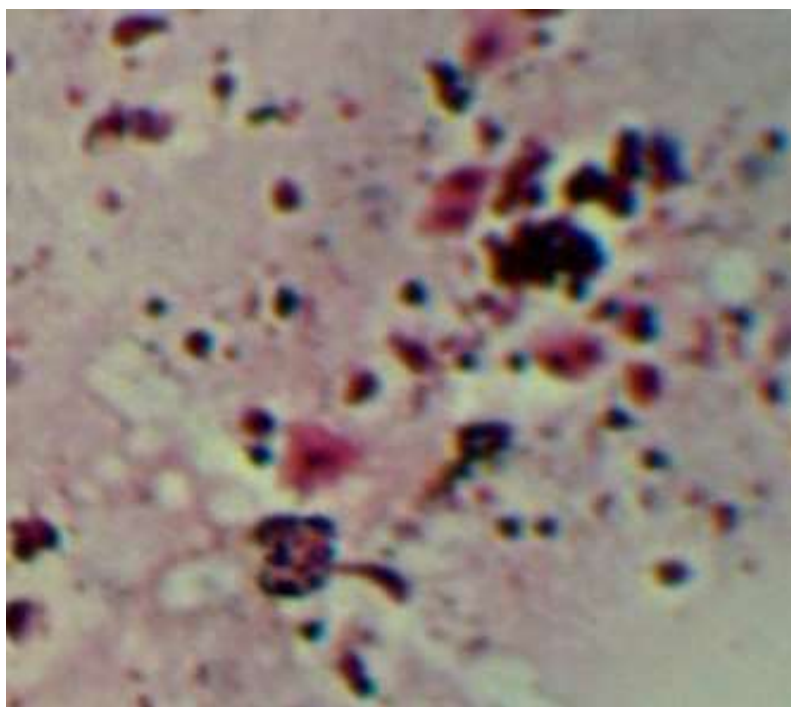


Рис. 3.28 Лейкоцитарна інфільтрація у тварини № 5. Третій місяць після оперативного втручання. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$

Дискусійним є питання, чи зберігається в архітектоніці стінки необладера первинна орієнтація епітеліоцитів як моношару, в якому відсутні «пружні» властивості перехідного епітелію. Від цього залежить залишковий об'єм та сила скорочення. На жаль, використані оптичні інструменти не дозволяють оцінити щільність контакту десмосом, однак модифікація мікроворсинок свідчить про збереження проліферативної активності, необхідної для відновлення клітин, які зазнають впливу агресивного середовища.

Резюме

Процеси неоморфогенезу АСМ полягають у поступовій зміні призматичного епітелію з формуванням шару резистентних до впливу сечі клітин, подібних до уротелію. На всіх етапах дослідження у мікропрепаратах спостерігалися як модифіковані ентероцити, розташовані в моношарі, так і клітини, типові для уротелію – щільні великі парасолькоподібні на периферії,

здатні до екскреції слизу, які забезпечують непроникність більш глибоких шарів для агресивного середовища.

Досліджені закономірності перебігу дистрофічних і трансформаційних процесів, у тому числі шляхом якісного аналізу осаду сечі. Визначений феномен мікрогематурії з тенденцією до зростання її інтенсивності до третього місяця експерименту.

До моменту закінчення експерименту були одержані докази завершення трансформації стінки необладера з деградацією фолікулів підслизової, огрубінням стінки сечового кондуїту й адаптацією до впливу сечі.

Сформований уротелій містить базальний шар клітин, а також проміжний шар грушоподібних клітин. При цьому відбуваються зсуви у співвідношенні ентероцитів і келихоподібних клітин у препаратах, але конститутивні секрети і типи клітин зберігаються. Ймовірно, що для покращання функціональної адаптації АСМ на різних етапах після оперативного втручання можуть бути застосовані медикаментозні засоби, здатні впливати на скоротливі властивості м'язових волокон.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Savchuk R. V., Kostyev F. I., Zhukovskij D. A., Nasibullin B. A. Structural and functional transformation of the small intestine wall in the conditions of the functioning of the artificial urinary reservoir in the experiment. *Reports of Morphology*. 2018. Vol. 24, N 1. P. 28–33.
2. Savchuk R. V., Zhukovsky D. O. Microbiological spectrum of orthotopic urinary reservoirs. *European Association of Urology 17th Central European Meeting (CEM)* (Pilsen, 19–20 oct. 2017).
3. Савчук Р. В., Костев Ф. І., Філіпов П. С., Жуковський Д. О. Рак сечового міхура: вплив способу деривації сечі на ультраструктурні зміни слизової ileum. *Конгрес Асоціації урологів України: матеріали* (Київ, 14–16 черв. 2018 р.)

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА НОВИХ ХІМІЧНИХ СПОЛУК – ПОХІДНИХ ГІДРАЗОНІВ ТА ОЦІНКА ЇХ ЦИСТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Залежно від результатів рандомізації експериментальним тваринам прижиттєво вводили внутрішньочеревно розчини сполук групи гідразонів [133, 185, 192]. В усіх випадках використане дозування 1 мг/кг маси тіла. Виведення з експерименту проводили шляхом цервікальної дислокації [133, 192].

При проведенні дослідження керувалися сучасними біоетичними вимогами, дотримуючись положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів або в інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), а також вимог Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження. Програма дослідження схвалена рішенням комісії з біоетики ОНМедУ (протокол № 19 від 11.09.2020).

4.1 Розробка нових хімічних сполук – похідних гідразонів та оцінка їх впливу на функціональні властивості необладера

У синтетичній практиці застосовують кілька загальноприйнятих способів отримання гідразонів, у тому числі із арильними замісниками [185].

Найбільш застосовуваним загальним методом отримання гідразонів є реакція конденсації гідразинів та карбонільних сполук [185] (схема 4.1).

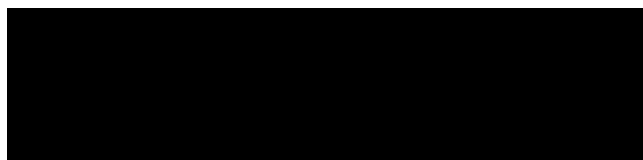


Схема 4.1 Реакція конденсації гідразинів і карбонільних сполук для отримання гіdraзонів

В схемі 4.1 R^1 та R^2 є відповідними радикалами, причому як модифікацію схеми 4.1 для препаративного синтезу використано монозаміщені гідразиди (R^3NH-NH_2 , у яких R^3 – радикал, що входить до складу гідразиду).

Реакції даного типу оборотні, однак рівновага має зсув у бік продуктів реакції, отже, зазвичай навіть видалення води не є необхідним. Як доведено Гамметом [185], максимум кривої при побудові залежності «рН – швидкість отримання продуктів реакції» спостерігається при значенні рН, яке близьке до pK_a гідразину. Вищезначене свідчить: при кислотному каталізі зменшення швидкості отримання продуктів реакції, яке спостерігається, зумовлено зменшенням концентрації реакційноздатного нуклеофілу при збільшенні концентрації кислоти. Арилгідразони утворюються досить швидко, навіть при простому змішуванні розчинів карбонільних сполук і гідразинів. Додавання кількох крапель кислоти прискорює даний процес, впливаючи на дегідратацію [185]. Як розчинники використовують воду, спирт, бензол, ефір та ін. За рекомендаціями Бреді, застосовано метанол у присутності сірчаної кислоти. Більш ефективним визнано використання діетилфосфіту, що приводить до його гідролізу [185] слідовими кількостями вологи, при чому утворюється етилфосфорна кислота $(HO)_2POC_2H_5$, яка є каталізатором реакції утворення гіdraзонів. Як небажані продукти синтезу можна очікувати: циклізацію з утворенням похідних піразоліну (в лужному середовищі) (схема 4.2); утворення озонів у разі надлишку гідразинів у реакційній суміші (схема 4.3).

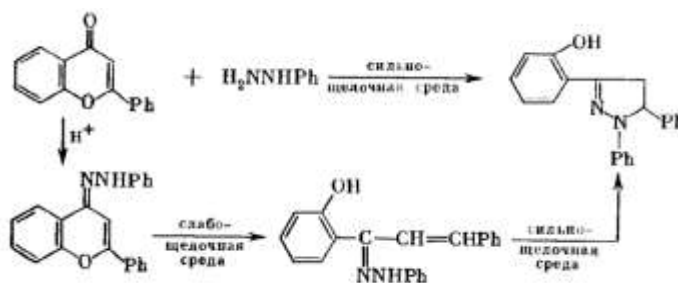


Схема 4.2. Утворення похідних піразоліну

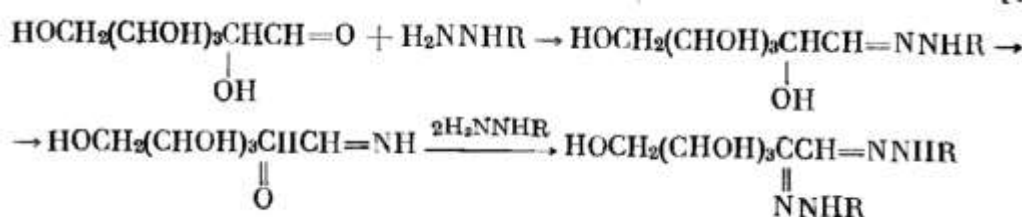


Схема 4.3 Утворення озонів у результаті внутрішньомолекулярного процесу відновлення

Наступними методиками, що застосовуються у практиці синтезу заміщених гідразонів, є: конденсація гідразинів із похідними карбонільних сполук (тіокетонами, азометинами, оксимами, азинами тощо); реакції сполучення солей діазонію та сполук, які містять метильні та метиленові групи; приєднання гідразинів до ненасичених сполук [185]. Однак останні перелічені методи було відхилено за одним або кількома наступними критеріями: відносно більш складні методики проведення синтезу, менша доступність вихідних реагентів, менший вихід продукту, можливість побічних реакцій.

Синтез N,N-диметилкарбамілгідразонів ароматичних альдегідів проходив за методикою 1 (побудована на основі модифікованої схеми 4.1) [185].

Методика 1. Як вихідні речовини були взяті відповідні гідразиди та карбонільні сполуки (ароматичні альдегіди) у стехеометричному співвідношенні, у розрахунку на отримання 0,03 М продукту. Готували насичені при 78,2 °С розчини вихідних гідразидів у етанолі: для синтезу сполуки 4DCh

взято 2,34 г N,N-диметилкарбамілгідрозиду; для синтезу сполуки ДББ взято 2,34 г N,N-диметилкарбамілгідрозиду; для синтезу сполуки ФДГК взято 5,37 г 3-(диметиламіно)бензоїлгідрозиду; для синтезу сполуки ДДББ взято 4,08 г бензоїлгідрозиду; для синтезу сполуки ДФДГК взято 4,08 г 2-гідроксибензоїлгідрозиду. До отриманих розчинів додавали етанову кислоту в каталітичних кількостях. Розчини постійно перемішували, причому до них додавали другий реагент: для отримання сполуки 4DCh взято 4,47 г 4-(диметиламіно)бензальдегіду; для отримання сполуки ДББ взято 4,83 г 4-(диметиламіно)бензальдегіду; для отримання сполуки ФДГК взято 2,85 г пірол-2-карбальдегіду; для отримання сполуки ДДББ взято 4,41 г ізатину; для отримання сполуки ДФДГК взято 4,53 г пірол-2-карбальдегіду. Вміст реактора витримували протягом 30 хв для повноти осадження осаду. Отриманий осад промивали ацетонітрилом на фільтрі Шота та висушували при температурі (75 ± 5) °C. Вихід продуктів у відсотках становив: 69 (4DCh); 81 (ДББ); 78 (ФДГК); 86 (ДДББ); 76 (ДФДГК) відповідно.

Чистоту отриманих сполук контролювали методом тонкошарової хроматографії (пластини Silufol UV-254, система-елюент: $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=5:1$) [185]. Ідентифікацію синтезованих сполук проводили методом інфрачервоної (ІЧ) спектрофотометрії за максимумами характеристичних смуг поглинання у діапазоні хвильових чисел $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$ [192].

4.2 Експериментальна оцінка активності синтезованих хімічних сполук на біологічних тканинах тонкокишкового неоцисту

Скринінг констрикторних властивостей нових хімічних сполук продемонстрував (рис. 4.1) перспективність вивчення і найбільшу ефективність дії лише трьох хімічних сполук: феніл 2,2-диметилгідрозинкарбоксилат (ФДГК);

N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (ДББ) і 4-(dimethylamino) benzaldehyde N , N-dimethylcarbamyldrazone (4DCh).

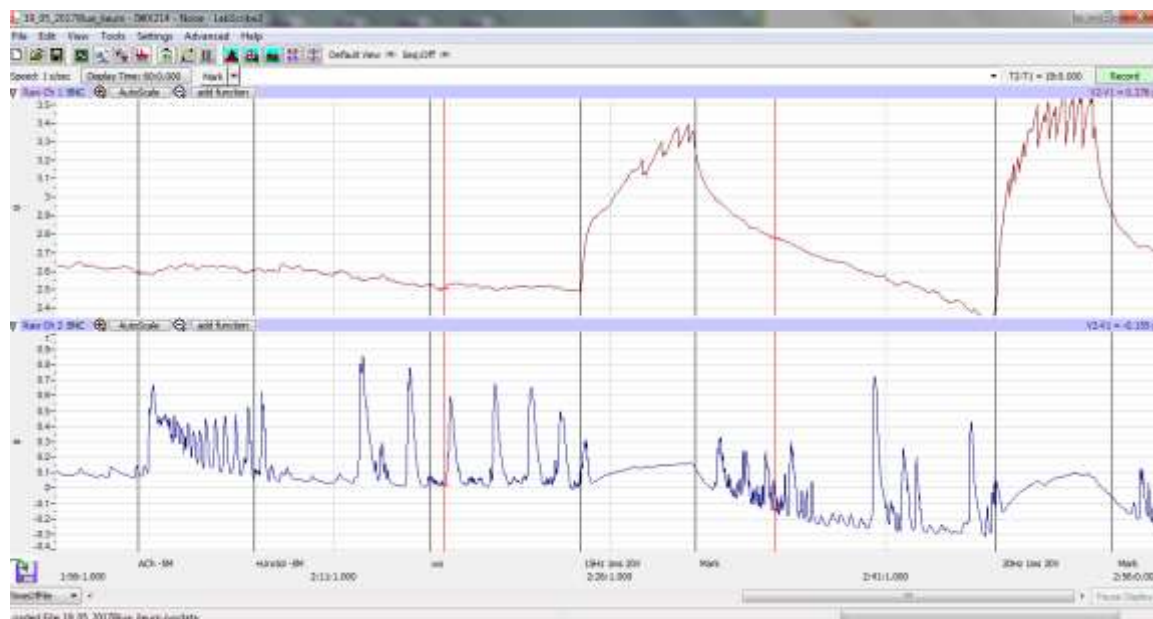


Рис. 4.1 Скоротливі властивості ділянки порожньої кишки (блакитна серія)

Для порівняння наводимо графіки (рис. 4.2–4.4), що відображають активність інших сполук, попередньо синтезованих для потреб даного дослідження (див. табл. 4.1). В усіх випадках або фізіологічна активність нових речовин виявилася недостатньою для застосування в експерименті, або хімічна стійкість синтезованої сполуки була невисокою.

Так, для сполуки 34-М був характерний високоамплітудний осциляційний патерн з екстремумами на рівні 1,1 та 1,2 c_0 , тобто виражені проконтракційні властивості (рис. 4.2).

При цьому значення скоротливої здатності А сягали 88,8 %. Впродовж експерименту частота незначно зменшилась, базовий рівень контрактильної активності також незначно знизився.

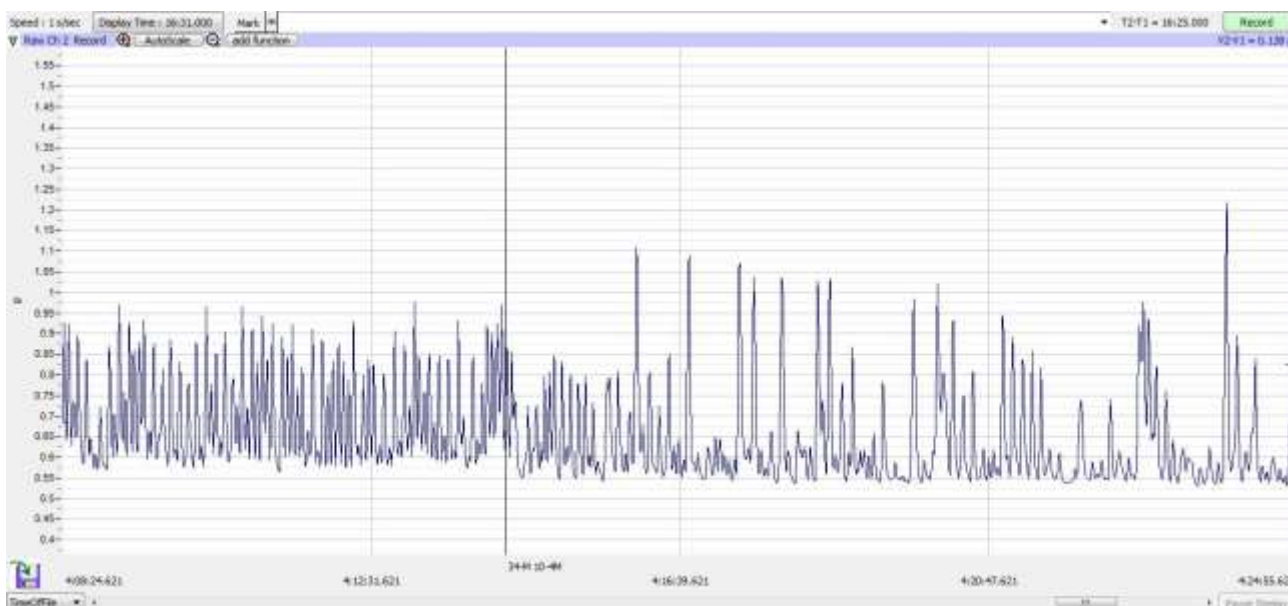


Рис. 4.2 Характеристики впливу сполуки 34-М на скоротливу активність

Натомість для сполуки 1962-М був характерний декремент скоротливої активності зі спайкоподібним розподілом скорочень вже через 5 с з початку експерименту (рис. 4.3). $A=91,7\%$; частота не змінилася на фоні значного зниження базового тону.

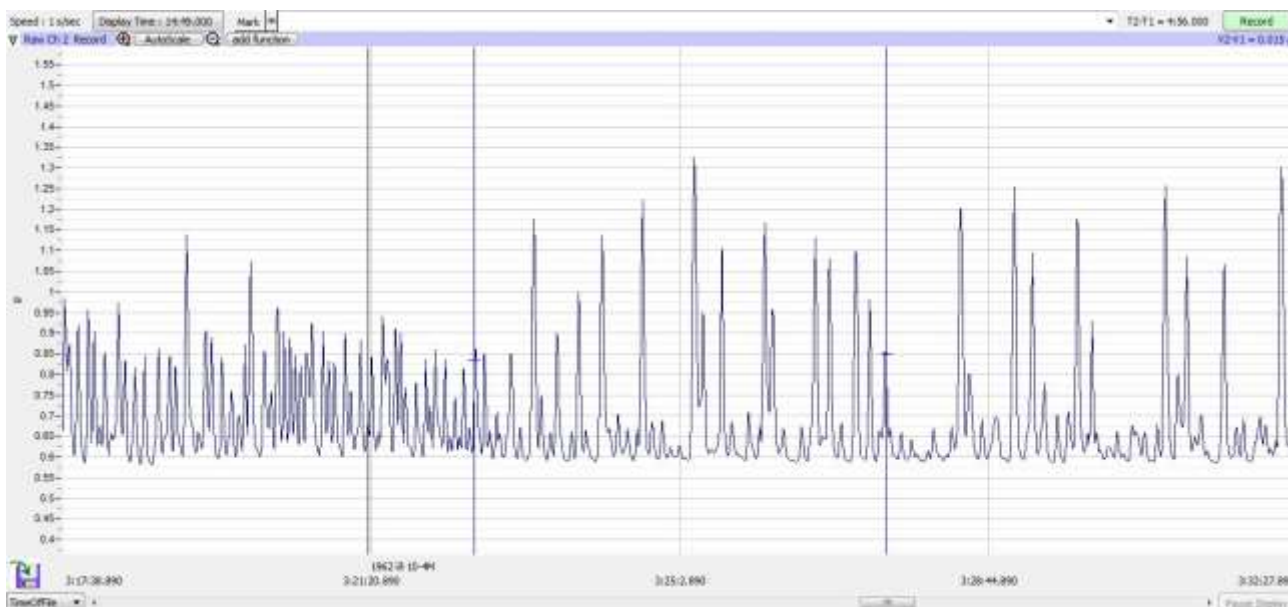


Рис. 4.3 Характеристики впливу сполуки 1962-М на скоротливу активність

Ще один характерний приклад для відкинутих ($n=21$) у процесі селекції перспективних для експериментального дослідження сполук показаний на рис. 4.4. На початку експерименту спостерігалось значне зменшення амплітуди на тоні КСІ прекоонстрикції. В подальшому переважала двофазна реакція, із зростанням тону і сили скорочень, які, втім, швидко вичерпувалися із поверненням на базовий рівень.

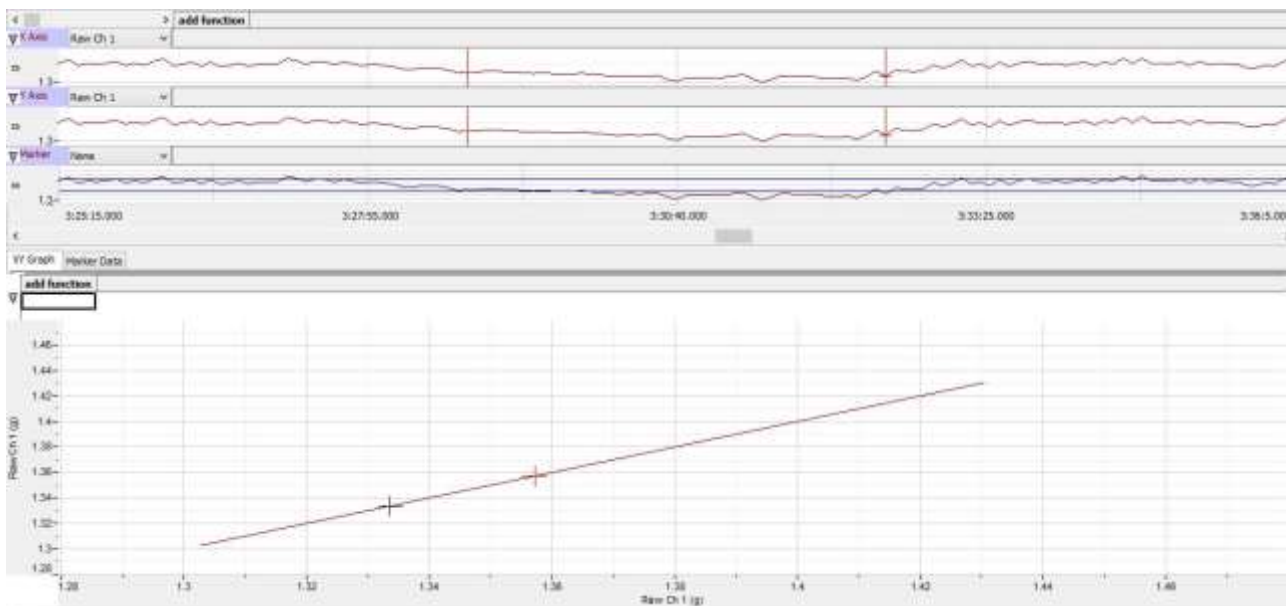


Рис.4.4 Вичерпання контрактильної активності смужки препарату при дії I-11

Причинами феномену вичерпання може бути не лише особливість взаємодії синтезованої сполуки із рецепторами слизової тестованих смужок СМ, але й токсичні впливи *twip* та калію хлориду. Втім, для препаратів тканин тонкого кишечника та СМ ймовірність токсичних впливів є мінімальною [34].

У контрольних смужках клубової кишки реєструвалися (рис. 4.5) спонтанні скорочення м'язових волокон, середня частота яких становила $(0,48 \pm 0,02)$ Гц при амплітуді $(0,61 \pm 0,07)$ см ($n = 16$). Ці значення в подальшому були прийняті як референсні.

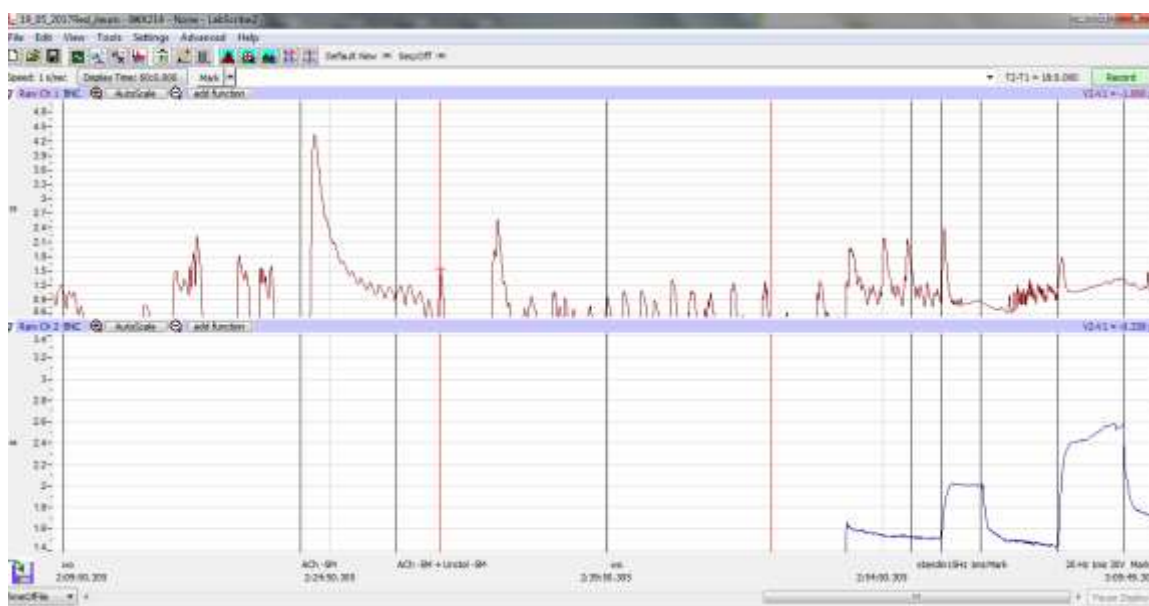
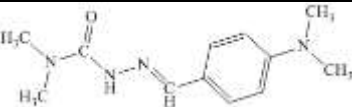
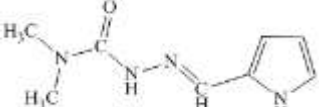


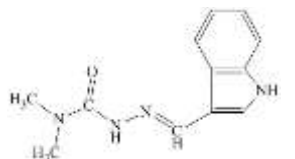
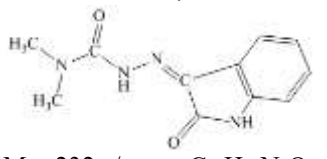
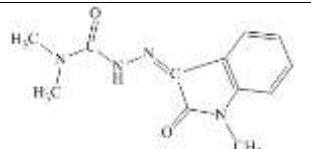
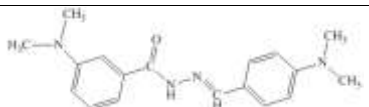
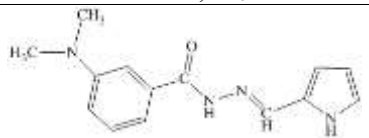
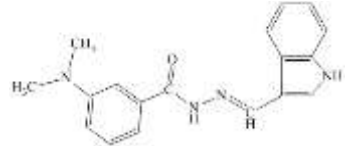
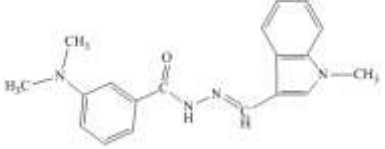
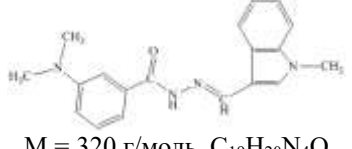
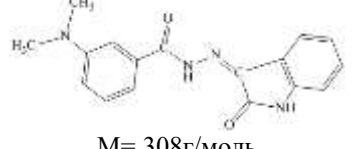
Рис. 4.5 Скоротливі властивості клубової кишки (червона серія)

Загальний перелік досліджених сполук наведено у табл. 4.1. Вочевидь, більшість сполук мали недостатню фізіологічну активність щодо впливу на скоротливу функцію. Це потребувало на всіх етапах підготовчої роботи ретельного ставлення до кількісної оцінки скоротливої здатності сегментів клубової кишки (див. рис. 4.1–4.5).

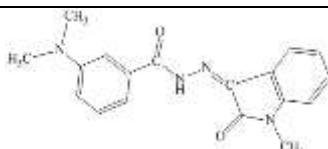
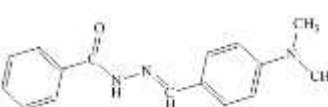
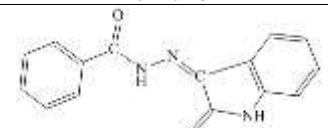
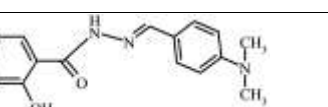
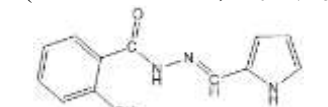
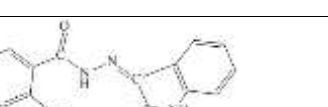
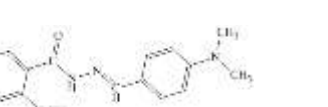
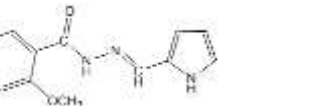
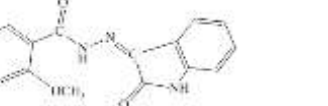
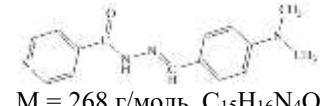
Таблиця 4.1

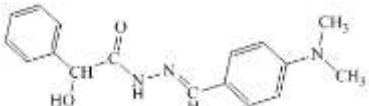
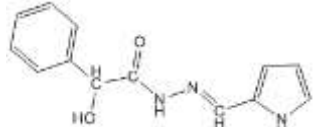
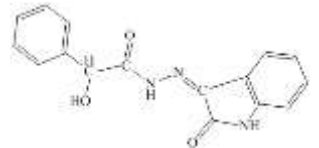
Перелік хімічних сполук, використаних для скринінгу (n=25)

Схема будови	№ сполуки	ПМР	ІЧ	Назва
1	2	3	4	5
N,N-диметилкарбамілгідрозони ароматичних альдегідів				
 $M = 234 \text{ г/моль, } C_{12}H_{18}N_4O$	1962	+	+	N,N-диметилкарбамілгідрозон 4-(диметиламіно)бензальдегіду
 $M = 180 \text{ г/моль, } C_8H_{12}N_4O$	35-M	+	+	N,N-диметилкарбамілгідрозон пірол-2-карбальдегіду

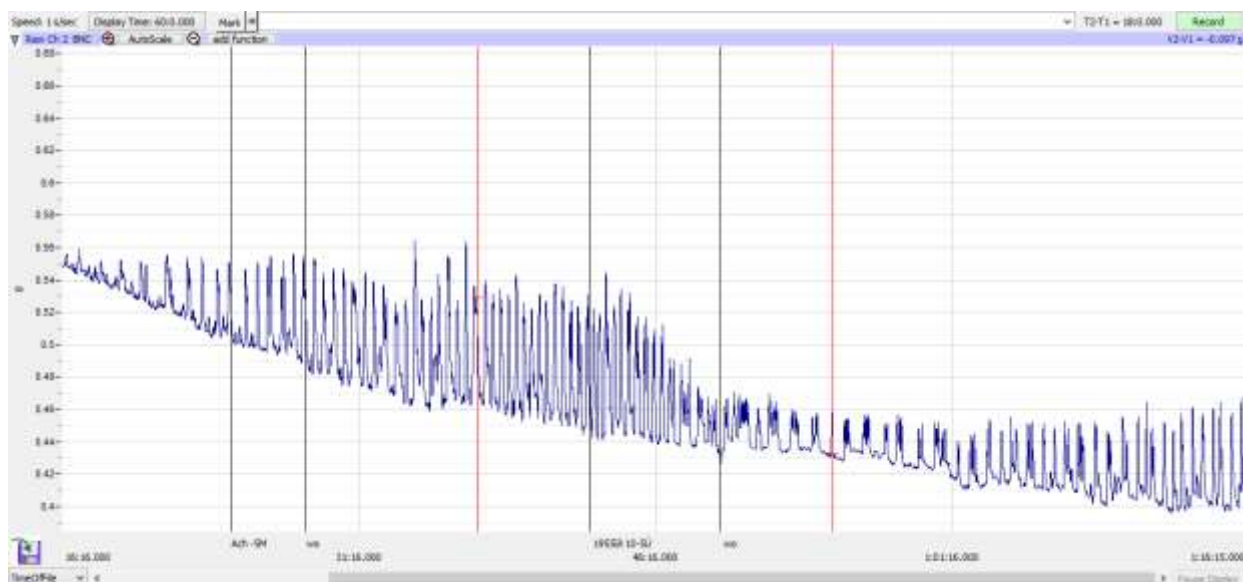
1	2	3	4	5
 $M = 230$ г/моль, $C_{12}H_{14}N_4O$	1955	+	+	N,N-диметилкарбамілгїдразон індол-3-карбальдегїду
 $M = 232$ г/моль, $C_{11}H_{12}N_4O_2$	1960пр	+	+	N,N-диметилкарбамілгїдразон ізатину
 $M = 246$ г/моль, $C_{12}H_{14}N_4O_2$	50-M	+	+	N,N-диметилкарбамілгїдразон 1-метилізатину
3-(диметиламіно)бензоїлгїдразони ароматичних альдегїдів				
 $M=310$ г/моль, $C_{18}H_{22}N_4O$	1961пр	+	+	3-(диметиламіно)бензоїлгїдразон 4-(диметиламіно)бензальдегїду
 $M = 256$ г/моль, $C_{14}H_{16}N_4O$	34-M	+	+	3-(диметиламіно)бензоїлгїдразон пірол-2-карбальдегїду
 $M = 306$ г/моль, $C_{18}H_{18}N_4O$	1956пр	+	+	3-(диметиламіно)бензоїлгїдразон індол-3-карбальдегїду
 $M = 320$ г/моль, $C_{19}H_{20}N_4O$	1958пр (1)	+	+	3-(диметиламіно)бензоїлгїдразон 1-метиліндол-3-карбальдегїду
 $M = 320$ г/моль, $C_{19}H_{20}N_4O$	1958 (2)		+	3-(диметиламіно)бензоїлгїдразон 1-метиліндол-3-карбальдегїду
 $M= 308$ г/моль $C_{17}H_{16}N_4O_2$	1959	+	+	3-(диметиламіно)бензоїлгїдразон ізатину

Продовж. табл. 4.1

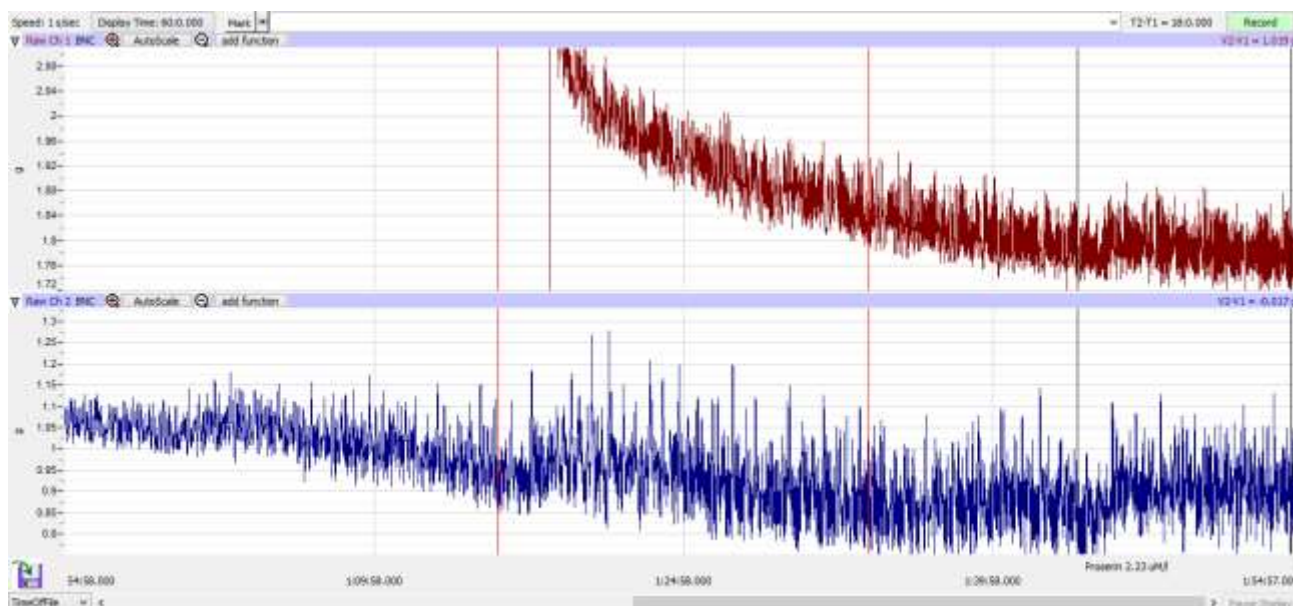
1	2	3	4	5
 М = 322 г/моль C₁₈H₁₈N₄O₂	37-М	+	+	3-(диметиламіно)бензоїлгідрозон метилізатину
Бензоїлгідрозони ароматичних альдегідів				
 М = 267 г/моль C₁₆H₁₇N₃O	У-1		+	бензоїлгідрозон 4-(диметиламіно)бензальдегіду
 М = 265 г/моль, C₁₅H₁₁N₃O₂	У-10		+	бензоїлгідрозон ізатину
2-гідроксибензоїлгідрозони ароматичних альдегідів				
 М'-(4М) = 283 г/моль, C₁₆H₁₇N₃O	У-2		+	2-гідроксибензоїлгідрозон 4-(диметиламіно)бензальдегіду
 М = 229 г/моль, C₁₂H₁₁N₃O₂	У-16		+	2-гідроксибензоїлгідрозон пірол-2-карбальдегіду
 М = 281 г/моль, C₁₅H₁₁N₃O₃	У-3		+	2-гідроксибензоїлгідрозон ізатину
2-метоксибензоїлгідрозони ароматичних альдегідів				
 М = 297 г/моль, C₁₇H₁₉N₃O₂	У-4		+	2-метоксибензоїлгідрозон 4-(диметиламіно)бензальдегіду
 М = 243 г/моль, C₁₃H₁₃N₃O₂	У-15		+	2-метоксибензоїлгідрозон пірол-2-карбальдегіду
 М = 292 г/моль, C₁₆H₁₃N₃O₃	У-11		+	2-метоксибензоїлгідрозон ізатину
ізонікотиноїлгідрозони ароматичних альдегідів				
 М = 268 г/моль, C₁₅H₁₆N₄O	У-6		+	ізонікотиноїлгідрозон 4-(диметиламіно)бензальдегіду

1	2	3	4	5
 $M=282$ г/моль, $C_{15}H_{14}N_4O_2$	У-8		+	ізонікотиніойлгідрозон 4-ацетиламінобензальдегіду
2-гідрокси-2-фенілацетилгідрозони ароматичних альдегідів				
 $M = 297$ г/моль, $C_{17}H_{19}N_3O_2$	У-9		+	2-гідрокси-2-фенілацетилгідрозон 4-(диметиламіно)бензальдегіду
 $M = 243$ г/моль, $C_{13}H_{13}N_3O_2$	У-14		+	2-гідрокси-2-фенілацетилгідрозон пірол-2-карбальдегіду
 $M = 295$ г/моль, $C_{16}H_{13}N_3O_3$	У-13		+	2-гідрокси-2-фенілацетилгідрозон ізатину

При оцінці особливостей сполук, що не увійшли до дослідження *in vivo*, визначено деякі загальні риси (рис. 4.6).



a



б

Рис. 4.6 Скоротливі властивості препаратів, які не використовувалися в експерименті *in vivo*: а – сполука У-6; б – сполука 50-М

У табл. 4.2 наведено загальні результати оцінки контрактильних властивостей різних хімічних сполук *in vitro*.

Таблиця 4.2

**Результати впливу різних концентрацій тестових сполук
на скоротливі властивості смужки клубової кишки, %**

[lgC] сполуки	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7
ФДГК	55±4	54±5	53±5	38±5	16±3	0	0
ДББ	54±3	54±3	53±4	37±4	15±3	2±1	0
4DCh	20±3	19±2	18±2	17±2	16±2	14±3	2±1

За даними експерименту *in vitro*, найкращі контрактильні властивості були притаманні сполукам, використаним у I і II серії дослідів. Так, при введенні сполуки ФДГК в робочу камеру в концентрації 10^{-5} М було відмічено підвищення скоротливої активності на (16 ± 3) %, тоді як концентрація 10^{-4} М приводила до збільшення скорочень на (38 ± 5) %, а при введенні концентрації 10^{-3} М скорочення посилювалися на (53 ± 5) %. Подальше збільшення концентрації суттєво не впливало на силу скорочень смужки клубової кишки *in vitro*.

Стосовно сполуки ДББ визначалися подібні закономірності – в цілому сила скорочення була пропорційною до концентрації речовини в робочій камері.

Так, при концентрації 10^{-3} моль/л сила скорочення зростала на (53 ± 4) %, а подальше збільшення концентрації не приводило до зміни скоротливої активності. Досліджувані концентрації не є токсичними, бо тканина швидко відновлюється до вихідних показників після відмивання і після повторних аплікацій навіть більш високих концентрацій (рис. 4.7).

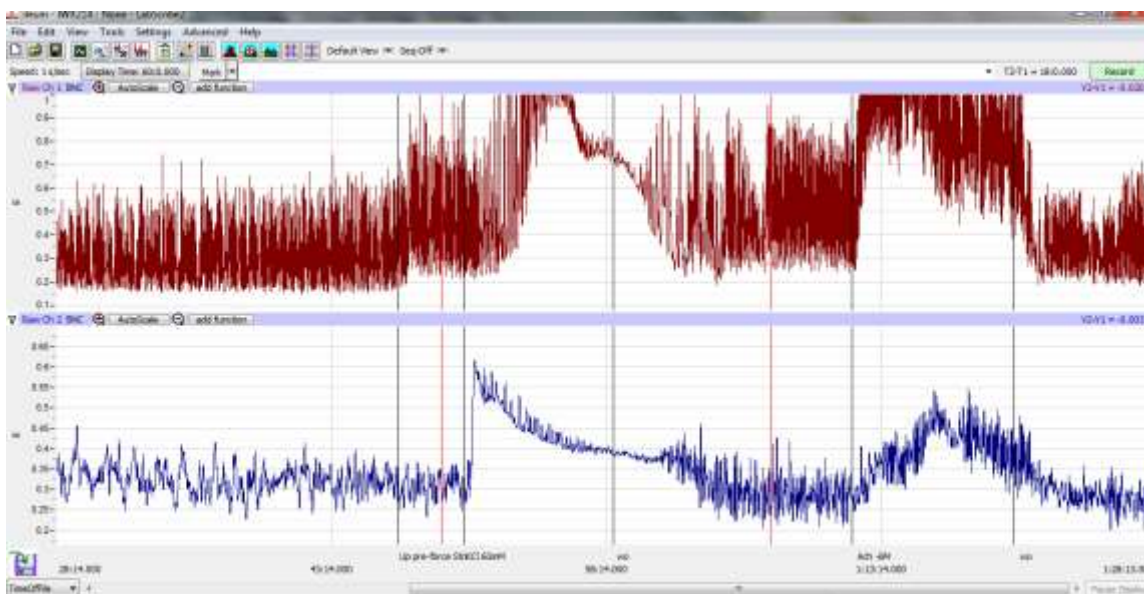


Рис. 4.7 Відновлення скоротливих властивостей детрузора під дією ДББ

З огляду на отримані результати ефективного мінімального дозування сполук ФДГК і ДББ, було вивчено їхній вплив на амплітуду, частоту

спонтанних скорочень і тонічне напруження сегмента клубової кишки лабораторних тварин (див. рис. 4.7).

Сполука ФДГК збільшує амплітуду скорочень в середньому на $(59 \pm 12) \%$, в свою чергу, сполука ДББ підвищує амплітуду на $(49 \pm 14) \%$, порівняно з контролем.

Досліджувані сполуки впливали і на частоту скорочень, збільшуючи їх, порівняно з контролем, на (48 ± 6) та $(31 \pm 5) \%$ відповідно (рис. 4.8).

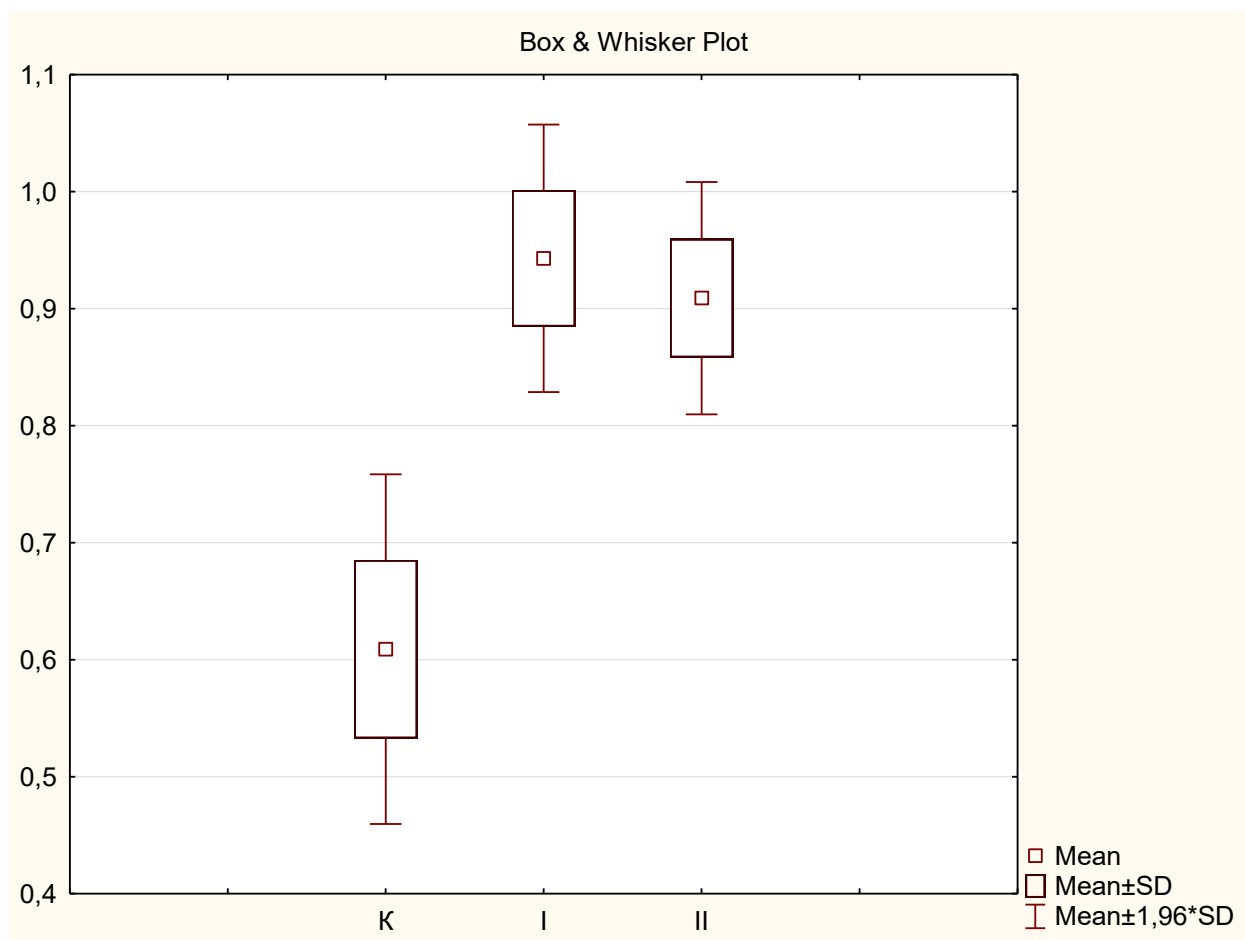


Рис. 4.8 Динаміка зміни амплітуди (м) скорочень під впливом сполук ФДГК і ДББ, в концентрації 10^{-3} М

Привертає увагу більш висока дисперсія частоти скорочень при використанні ДББ сполуки.

Тонічне напруження, в свою чергу, зросло на (68 ± 13) % при впливі ФДГК сполуки, а при використанні ДББ сполуки – лише на (53 ± 6) %. Втім, ці відмінності не є статистично значущими ($p > 0,05$).

Таким чином, наведені результати свідчать про проконстрикторну активність досліджених сполук і доцільність їх використання в корекції гіпоактивності необладера.

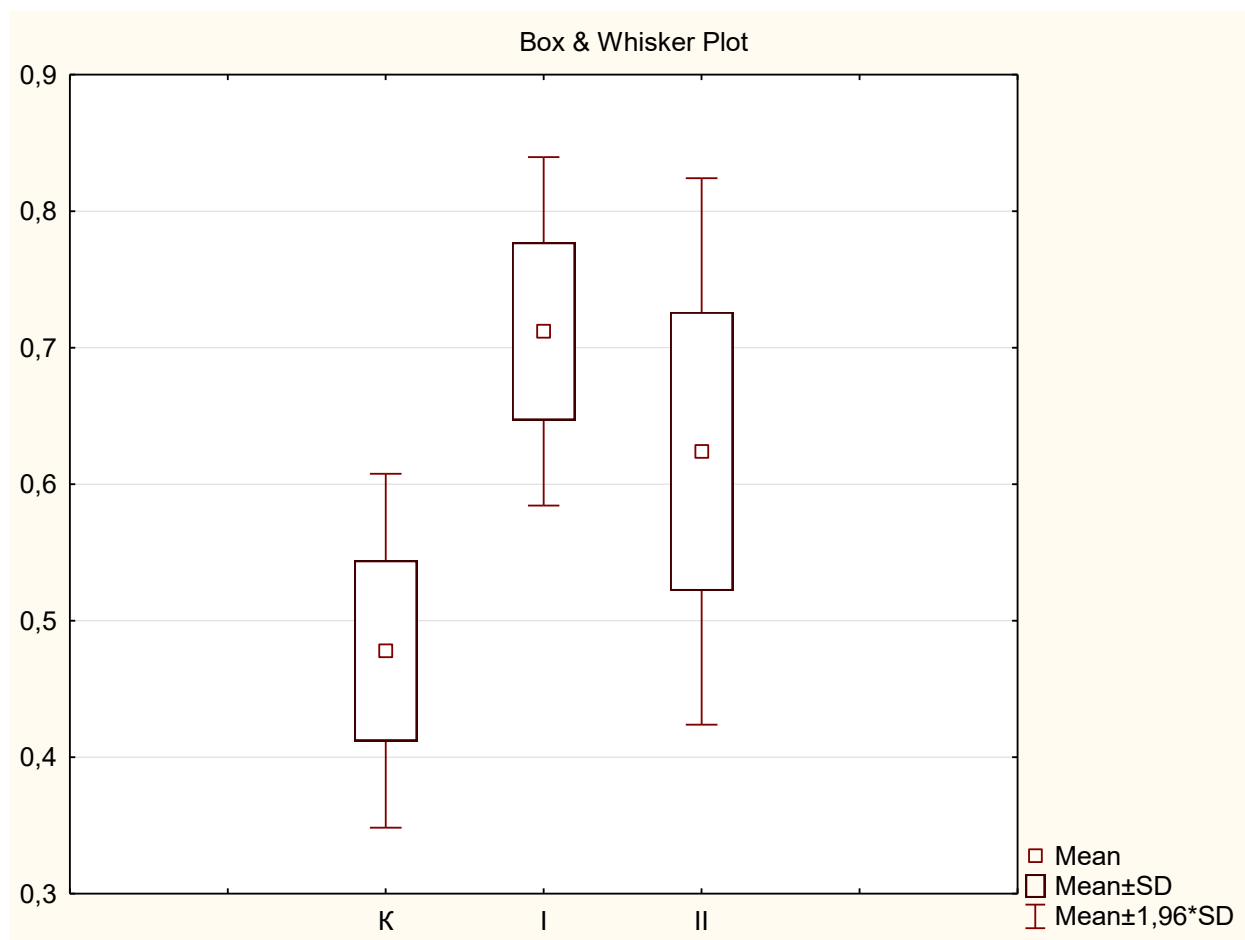


Рис. 4.9 Динаміка зміни частоти скорочень під впливом сполук ФДГК і ДББ, в концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, Гц

Скринінг спазмолітичних властивостей досліджуваних сполук також продемонстрував їх наявність у двох субстанцій: 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-

диметилгідразинкарбоксилат (ДФДГК) та 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідрозид (ДДББ). У серії експериментів *in vitro* з використанням смужки клубової кишки свинки, яка підлягала перфузії 60 мМ розчином хлориду калію, показано стійке підвищення базального тону смужок детрузора.

Подальший аналіз (табл. 4.3) показав, що визначений спазмолітичний ефект є дозозалежним.

Таблиця 4.3

Спазмолітичні властивості тестованих сполук при дослідженні *in vitro*, ум. од.

[lgC]	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7
сполуки							
ДФДГК	50±5	49±4	31±4	28±3	23±4	2±1	0
ДДББ	41±4	40±3	17±2	11±1	3±1	0	0

В результаті експерименту *in vitro* встановлено, що сполука ДФДГК чинить спазмолітичний ефект на смужки артіфіціального детрузора на фоні впливу 60 мМ KCl 60, знижуючи тонус в концентрації 10^{-5} М на (23±4) % і виявляє стійкий ефект в концентрації 10^{-2} моль/л, знижуючи тонус на (49±4) %. Сполука ДДББ знижує гіпертонус смужки клубової кишки у концентрації 10^{-4} М в середньому на (11±1) %, а стабільний ефект був виявлений в концентрації 10^{-2} М зі зниженням гіпертонусу на (40±3) %.

Таким чином, проведений експеримент дозволяє стверджувати, що синтезовані нові хімічні сполуки істотно впливають на скоротливу активність сегмента клубової кишки *in vitro*.

Серед них найбільшу констрикторну активність виявляють дві сполуки: феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ДФДГК) і N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідрозид (ДББ), в концентрації 10^{-3} М, збільшуючи скоротливу активність на

(53±5) і (54±4) % відповідно, амплітуду скорочень – на (59±12) і (49±14) %, частоту скорочень – на (48±6) і (31±5) % відповідно.

З досліджуваних нових хімічних сполук спазмолітичні властивості з тропністю до клубової кишки можна виділити у двох субстанцій: 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ДФДГК) і 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно) бензиліден) бензгідрозид (ДДББ), що знижують гіпертонус на (50±4) та (40±3) % відповідно.

Виявлені нові хімічні сполуки із спазмолітичними і проконстрикторними властивостями потребують подальшого дослідження з уточненням механізму дії, особливостей фармакодинаміки та фармакокінетики і впливу на різні ланки патогенезу порушень моторної функції детрузора, в тому числі, в обсязі повноцінного преклінічного дослідження із вивченням в умовах експерименту *in vivo*.

Відповідно до настанов Європейської асоціації урологів (EAU), ортотопічне заміщення сечового міхура має пропонуватися пацієнтам чоловічої і жіночої статі, які не мають протипоказань до втручання, в яких немає пухлин в уретрі та на рівні розтину уретри (рівень рекомендації: B) [200]. Численні методи за участі різних сегментів і конфігурацій кишечника були запропоновані до сьогодні, але варіанти Hautmann і Studer, ймовірно, є найбільш поширеними.

Однією з причин клінічних невдач є ризик субоптимального утримання сечі та спорожнення необладера, особливо при неконтрольованому витоку сечі. Функціональний результат пластики сечового міхура визначається багатьма факторами. Здатність утримувати сечу залежить від збереження замикального механізму уретрального сфінктера, його функціональної довжини та збереження іннервації.

При обережному препаруванні тканин та збереженні вазоневральних анатомічних структур можливо навіть відновити післяопераційну статеву функцію. При збільшенні проксимального уретрального тиску із стимуляцією

тазового сплетіння надзвичайне значення має збереження структур вегетативної нервової системи.

Втрата органного внеску органів малого таза, як повідомляють, призводить до втрати тону, з наступним внутрішнім дефіцитом сфінктера [13, 14]. Це спричинює неповне спорожнення міхура та може потребувати переривчастої аутокатетеризації [22]. Надзвичайне значення має обережне ретельне оперування, уникнення кровотечі з вени Санторіні, забезпечення достатнього обсягу операційного поля шляхом бічного підходу до верхівки міхура та його обережної мобілізації.

Найкращою з огляду біомеханіки та динамічної геометрії є сферична форма протеза. На відміну від тубулярного необладера, сферичний резервуар забезпечує максимальний об'єм до співвідношення з площею поверхні, з максимальним об'ємом і мінімальною реабсорбційною ділянкою поверхні. Детубуляризація й утворення сферичного необладера, таким чином, запобігає нескоординованому скороченню м'язів та мінімізує розвиток піків високого тиску, що й показали цистотонетричні вимірювання у нашій роботі.

Відповідно до закону Лапласа, тиск всередині замкненої посудини, заповненої рідиною, є прямо пропорційним до напруженості стінок та зворотно пропорційним до радіуса. Таким чином, при сферичному резервуарі тиск є нижчим, аніж при наданні необладеру іншої форми. При більшому радіусі напруження стінки є більш значним, отже, існує більша ймовірність відчуття повноти при будь-якому заданому тиску, тобто виникнення болісних позивів до сечовипускання при практично порожньому сечовому міхурі. Це значно погіршує якість життя хворого.

Слід зазначити, що використана нами експериментальна модель є абсолютно адекватною до потреб експериментальної урології.

У табл. 4.4 наведені довірчі інтервали градієнтів амплітуд тонічного напруження стінки сечового міхура при застосуванні різних сполук, використаних в експерименті.

Отже, при використанні сполук із спазмолітичними властивостями значно зменшується внутрішньоміхуровий тиск. Зазвичай сферичний резервуар дає кращі функціональні результати, аніж несферичні, але чи має значення, як саме розташовані у просторі м'язові волокна у протезі СМ? Теоретично спосіб формування та просторового розташування м'язових волокон у необладері на початку ремоделювання його стінок не є важливим.

Таблиця 4.4

Прогнозовані значення амплітуд тонічного напруження стінки сечового міхура для різних сполук, використаних в експерименті, %.

Сполуки	min	max
I	42	94
II	31	65
III	23	54
IV	26	61

Щодо оптимального розміру резервуарів, то проведене нами дослідження не дає змоги визначити його достатньо точно. Існують незалежні резервні фактори, наприклад, механічна пружність стінки кишечника, вплив нейрональної модуляції тонуусу гладкої мускулатури, які неможливо змінити, однак об'єм резервуара може бути адаптований хірургом для оптимізації результату. Слід також розуміти, що з початком функціонування необладера його стінки можуть розтягуватися, що зумовлює поступове збільшення його ємності.

Проведене нами дослідження не дозволяє одержати чітку відповідь, як саме впливає ремоделювання стінок необладера та застосування сполук, що

модулюють скоротливу здатність, на ризик рефлюксу. Однак врахування цього ризику на етапі виконання оперативного втручання значно покращує функціональні результати та запобігає виникненню тяжкої рефлюксної нефропатії. За відсутності координованих скорочень не створюється тиск, достатній для здійснення мікційного рефлексу. З іншого боку, збільшення внутрішньочеревного тиску приводить до однакового підвищення тиску як у необладері, так і в сечоводах, що дозволяє уникнути рефлюксу.

Тиск у необладері не може бути вище перистальтичного тиску в сечоводах та аферентному трубчастому сегменті, який сам має певні динамічні антирефлюксні властивості завдяки його координованій перистальтиці [28].

При значному тиску в межах АСМ, який перевищує тиск закриття уретри, зовнішній сфінктер діє як запобіжний клапан, що дозволяє знижувати внутрішньоміхуровий тиск шляхом сечовипускання і таким чином запобігати рефлюксу. При цьому сеча зазвичай залишається стерильною в межах замкнутої системи ортотопних замінників, отже, нефропатія менш імовірна.

Необхідно пам'ятати, що використання сегментів кишечника для утворення АСМ може призвести до мальабсорбції та водно-електролітних порушень.

Метаболічний ацидоз, зокрема гіперхлоремічний, зустрічається у половини пацієнтів з ілеальним АСМ. Залишається високим і ризик інших ускладнень після оперативного втручання. Втім, обговорення метаболічних особливостей функціонування АСМ виходить за межі тематики даного розділу.

Резюме

Наведені в розділі дані дозволяють вважати створену експериментальну модель ілеоцистопластики адекватною для відтворення нормальної мікції. Спостережувані морфофункціональні зміни неоцисту впродовж експерименту дозволяють встановити адаптацію ортотопічного сечового міхура до виконання

властивостей сечового резервуара. Відібрані за допомогою скринінгу та вивчені сполуки – похідні гідразонів – виявилися достатньо ефективними регуляторами скоротливої функції детрузора, що дозволяє використовувати їх для оптимізації адаптації неоцисту в динаміці, в тому числі для фармакокорекції порушень енергетичного метаболізму та гіпоксії неоцисту в тварин з артіфіціальним сечовим міхуром.

Обговорюються переваги сферичного АСМ з огляду на забезпечення оптимальної детрузорної функції. Експериментально підтверджені оптимальні концентрації похідних гідразонів для одержання очікуваного функціонального ефекту.

В основу метаболічної фармакотерапії неоцисту мають бути покладені принципи безпеки та максимальної фізіологічності. Після напрацювання достатнього обсягу відомостей щодо фармакодинаміки та фармакокінетики похідних гідразонів можна буде оцінити перспективи їх подальшого впровадження в клінічну практику.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Savchuk R. V., Kostyev F. I., Zhukovskij D. A., Nasibullin B. A. Structural and functional transformation of the small intestine wall in the conditions of the functioning of the artificial urinary reservoir in the experiment. *Reports of Morphology*. 2018. Vol. 24, N 1. P. 28–33.

2. Савчук Р. В., Жуковський Д. О. Модуляція скоротливої активності ізольованого сегменту тонкого кишківника *in vitro* (експериментальне дослідження). «Урологія, андрологія, нефрологія – 2017»: матеріали ювілейної науково-практичної конференції, присвяченої 50-річчю КЗОЗ «Обласний клінічний центр урології і нефрології ім. В. І. Шаповала» (Харків, 5–6 жовт. 2017 р.). Харків, 2017.

РОЗДІЛ 5

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ЦИСТОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ХІМІЧНИХ СПОЛУК – ПОХІДНИХ ГІДРАЗОНІВ

5.1 Метаболічний профіль тканин тонкокишкового неоцисту на етапах формування властивостей сечового резервуара в експерименті

Метаболічне перепрограмування, що характеризується, в першу чергу, зрушенням в енергозабезпеченні від мітохондріального окисного фосфорилювання до аеробного гліколізу, є однією з найважливіших рис тканин, які знаходяться у несприятливих щодо постачання нутрієнтів та кисню умовах.

У нормальних клітинах ссавців молочнокисле бродіння відзначається при гіпоксії, при цьому і піруват окиснюється в мітохондріях до води та вуглекислого газу. При окисненні одної молекули глюкози до пірувату утворюється тільки дві молекули АТФ, тоді як енергетичний вихід повного окиснення глюкози до води та вуглекислого газу дорівнює 30 молекулам АТФ [55]. Нормальні клітини використовують процеси тканинного дихання і окисного фосфорилювання для отримання 90 % загальної продукції АТФ, і тільки 10 % АТФ утворюється в ході анаеробного гліколізу. Таким чином, дослідження балансу АТФ та його деривативів є цінним джерелом інформації щодо енергетичного обміну в досліджуваних тканинах.

Цікаві результати одержані щодо активності макроергічних сполук ($n=15$) у стінці неоцисту (табл. 5.1).

В усіх випадках активність аденілових сполук у трансплантаті кишечника ($n=15$) була суттєво нижчою від даних, отриманих в тканині інтактного кишечника ($p<0,05$).

Так, в усіх випадках спостерігалися суттєві відмінності порівняно з вихідним рівнем АТФ у кишечнику – $(1,64 \pm 0,12)$ нмоль/г, який зменшився через 3 міс. до $(0,95 \pm 0,06)$, через 6 міс. – до $(1,03 \pm 0,07)$, а через 12 міс. – до $(1,08 \pm 0,06)$ нмоль/г ($p < 0,05$). Подібні відмінності спостерігалися і щодо менш активних АДФ і АМФ.

Таким чином, у тканині трансплантата на різних етапах післяопераційного періоду спостереження відзначається дисбаланс в системі АТФ-АДФ-АМФ.

Таблиця 5.1

Вміст аденілових нуклеотидів у стінці кишечника й артифіціального сечового міхура на різних етапах дослідження, нмоль/г, $M \pm m$

Показник	Орган	Через 3 міс., n=5	Через 6 міс., n=5	Через 12 міс., n=5
АТФ	Кишечник	$1,64 \pm 0,12$	$1,59 \pm 0,13$	$1,60 \pm 0,11$
	Трансплантат кишечнику	$0,95 \pm 0,06^*$	$1,03 \pm 0,07^*$	$1,08 \pm 0,06^*$
АДФ	Кишечник	$0,53 \pm 0,03$	$0,54 \pm 0,04$	$0,52 \pm 0,03$
	Трансплантат кишечнику	$0,40 \pm 0,02^*$	$0,43 \pm 0,03^*$	$0,41 \pm 0,03^*$
АМФ	Кишечник	$0,27 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,02$	$0,25 \pm 0,02$
	Трансплантат кишечнику	$0,21 \pm 0,01^*$	$0,25 \pm 0,02^*$	$0,20 \pm 0,01^*$

Примітка. * – відмінності з контролем (кишечник) є значущими ($p < 0,05$).

Зміни в рівні продукції АТФ, характерні при розвитку ішемії тканини, очевидно, пов'язані зі збільшенням споживання макроергів або порушенням його ресинтезу при креатинкіназній реакції, процесів гліколізу і дихального ланцюга в слизовій тканині кишечника, яку використовують як трансплантат. Для корекції виявлених порушень в активності макроергічних аденілових сполук доцільно використовувати хімічні субстанції, здатні впливати на скоротливу активність неоцисту, отже, і на процеси енергетичного метаболізму та гіпоксії неоцисту в тварин з АСМ.

Слід зазначити, що енергія дихання, трансформована з хімічної форми в електричну й осмотичну, може бути знову перетворена в хімічну форму як при синтезі АТФ, так і при зворотному перенесенні електронів. Біоенергетичний процес є оборотним, що підтверджується досвідом. Реалізується іонне фосфорилювання за рахунок електричної або осмотичної енергії, що виділяється при русі іонів через мембрану за концентраційним градієнтом [190].

Зниження АТФ-синтезуючої здатності мітохондрій і розвиток енергодефіцитного стану негативно впливають на здатність клітин детрузора до скорочень. Аналогічні процеси в епітелії слизової оболонки СМ ведуть до пошкодження епітеліоцитів і втрати її бар'єрних властивостей, що може призводити до потрапляння сечі в інтерстиціальний простір і розвитку запалення [13, 14]. Втім, в умовах нашого експерименту такий сценарій реалізований не був.

Отже, отримані експериментальні дані свідчать про досить глибокі структурні і морфофункціональні зміни епітелію ділянки кишки, трансплантованої при створенні АСМ («протеза»). Протягом року після втручання відбувається ремоделювання епітеліальних елементів, що дозволяє розраховувати на задовільний функціональний ефект від втручання.

5.2 Цистопротекторна ефективність нових хімічних сполук – похідних гідразонів

Відповідно до плану експерименту впродовж всього його терміну проводилася цистотометрія.

Значний інтерес являють дані цистотометрії на етапах формування неоцисту та в контролі. Як видно з рис. 5.1, суттєвих відмінностей за показником максимального детрузорного тиску на цьому етапі визначено не було.

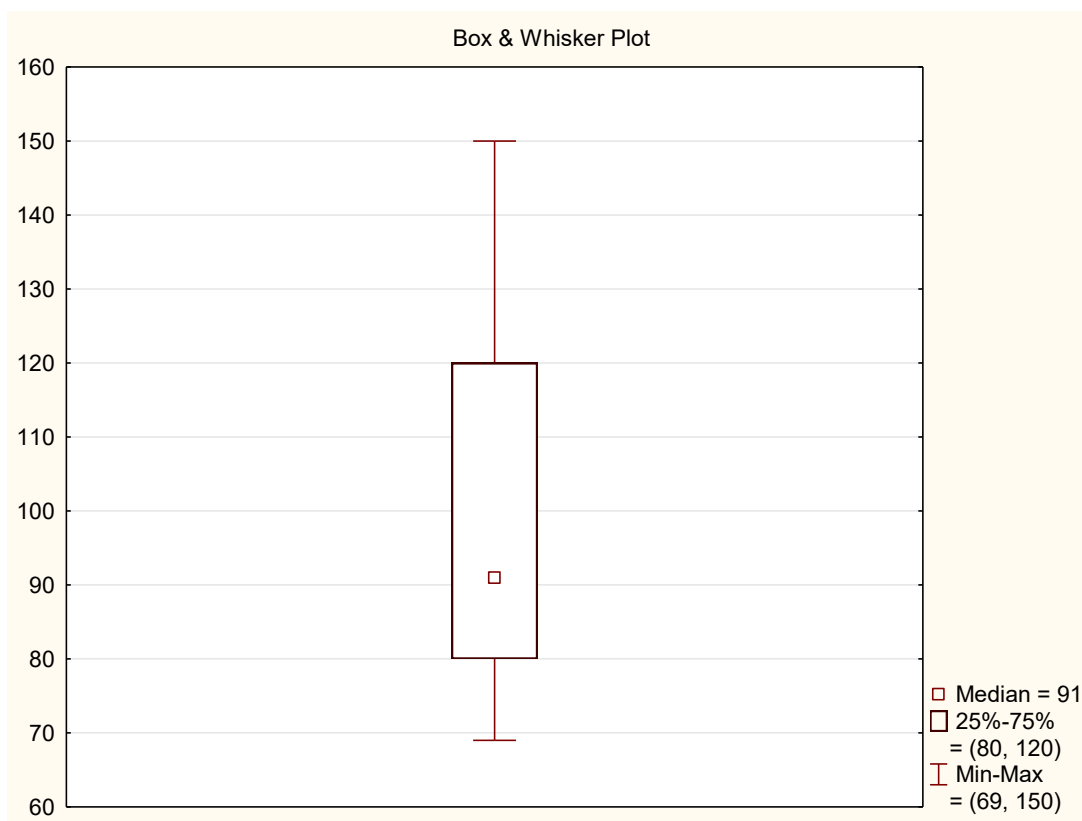


Рис. 5.1 Цистотонетричні характеристики на первинному етапі формування неоцисту

Відповідно до одержаних результатів, максимальна цистотонетрична ємність дорівнювала від 70 до 150 см³, а максимальний детрузорний тиск – від 10 до 52 см вод. ст. (або 7,36–38,25 мм рт. ст., тобто у межах 980,7–5099,0 Па).

Слід зазначити, що фактичні значення МЦЄ та максимального детрузорного тиску (МДТ) залежали від того, яка сполука була застосована в експерименті (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Результати цистотонетрії в різних експериментальних серіях, $M \pm m$ (n=20)

Серія	МЦЄ, см ³	МДТ, см вод. ст.
I	79±8	9,07±0,81
II	150±10	12,24±0,48

Всі спостереження у серіях, де застосовували проконтракційні (I) та спазмолітичні сполуки (II), мали деякі спільні риси.

Так, в одному із спостережень при проведенні експерименту (I серія) спостерігалася нормальна комплаєнтність сечового міхура при збереженні нормальної рефлекторної відповіді на дистензію. Будь-яких проявів інконтиненції не виявлено, при цьому МЦЄ була в середньому (70 ± 7) см³, а МДТ дорівнював $(22,07 \pm 1,11)$ см вод. ст. Характерним явищем для I експериментальної серії була термінальна детрузорна гіперактивність. В іншому спостереженні цієї ж серії був виявлений феномен збереження нормальної комплаєнтності та рефлекторності СМ, типовим явищем була залишкова фазова детрузорна гіперактивність із значною кількістю хвиль (до 27 за 1 фазу дослідження) та малою їх амплітудою; МЦЄ становила (50 ± 5) см³, а МДТ – $(10,30 \pm 0,33)$ мм вод. ст.

В одному зі спостережень II серії МЦЄ становила (120 ± 10) см³, а МДТ – $(7,36 \pm 0,29)$ см вод. ст., що відповідає ознакам гіпоректорності СМ при збереженій комплаєнтності.

Слід зазначити, що під час цистотометрії спостерігалися поодинокі епізоди підвищення внутрішньоміхурового тиску незначної амплітуди, можливо, як наслідок стимулювального впливу розчину Кребса. Максимальні значення МЦЄ в цій серії сягали (180 ± 15) см³ при МДТ $(11,77 \pm 0,45)$ мм вод. ст., тобто детрузор зберігав достатній рівень рефлекторності та комплаєнтності, без проявів інконтиненції. Втім, типовим явищем для цієї серії було підвищення активності детрузора безпосередньо перед уринацією.

В інших випадках ($n=8$) у експериментальних тварин визначалися поодинокі епізоди підвищення внутрішньоміхурового тиску незначної амплітуди перед сечовипусканням. Ми пов'язуємо їх виникнення із

стимулювальним впливом розчину Кребса. У лабораторних тварин реєструвалася нормальна комплаєнтність СМ з тенденцією до гіпоректорності; МЦЄ становила (150 ± 14) см³, а МДТ – $(13,24 \pm 0,68)$ мм вод. ст.

В окремих випадках при застосуванні нових хімічних сполук у тварин було виявлено зниження комплаєнтності сечового міхура на тлі нормальної ректорності; МДЄ була на рівні (120 ± 12) см³, а МДТ – $(38,25 \pm 2,14)$ мм вод. ст. Таке співвідношення цистотонетричних характеристик свідчить на користь виснаження адаптаційних властивостей детрузора та ризик формування гіперактивного сечового міхура (ГСМ). Водночас зростання комплаєнтності сечового міхура та нормалізація підвищеного детрузорного тиску розглядаються як сприятливі предиктори відновлення скоротливої функції детрузора.

Заслуговують на увагу результати впливу експериментальних сполук в серії І на МЦЄ, яка становила (150 ± 13) см³, а МДТ – $(7,36 \pm 0,53)$ мм вод. ст. При цьому на фоні гіпоректорності СМ спостерігалися незначні клінічно незначущі девіації внутрішньоміхурового тиску – помічено так зване «детрузорне тремтіння», яке є характерною рисою термінальної стадії гіперактивності детрузора.

Підвищення тиску детрузора виникає внаслідок посилення напруженості стінки сечового міхура, спричиненого контрактурою гладких м'язів детрузора. Цьому сприяє кілька властивостей нижніх сечових шляхів, у тому числі величина уретральної стійкості, міцність і тривалість скорочень гладких м'язів детрузора і початковий об'єм сечового міхура, який, за законом Лапласа, є зворотною функцією до тиску детрузора. Фундаментальний інтерес полягає в тому, чи може помірно порушена або посилена детрузорна м'язова контрактильна функція сприяти сечовипусканню. В роботі С. Fry et al. (2016) було визначено кілька критеріїв скоротливої здатності сечового міхура на основі уродинаміки, наприклад, індекс скоротливості сечового міхура (BCI) та

співвідношення розміру органа до вихідного сегмента сечового міхура. Однак ці показники майже неможливо визначити в умовах експерименту.

Трансформація ізоволнометричної фази скорочення дозволяє розрахувати скорочення стінки міхура залежно від цистотонOMETричних вимірів. Якщо розглядати функцію зростання інтравезикального тиску dP/dt як критерій скоротливої здатності, то ми наближуємося до так званої моделі Хілла м'язового скорочення. Ця модель описує співвідношення між основними механічними параметрами м'язового скорочення, а саме, швидкістю скорочення та його силою. Описана залежність може бути виражена рівнянням:

$$(P + a) \cdot v = b (P_0 - P), \quad (5.1)$$

де P_0 – ізометрична сила;

$P = P_0$ при $v = 0$;

v – швидкість скорочення;

a та b – емпіричні параметри, пов'язані співвідношенням (5.2):

$$b = a \cdot v_{\max} / P_0, \quad (5.2)$$

де $v_{\max}$ – максимальна швидкість скорочення (рис. 5.2).

Таким чином, для зменшення об'єму резервуара треба або зменшити тиск у резервуарі, або збільшити товщину його стінки.

Слід зазначити, що при розрахунках контрактильних властивостей ми змушені вдаватися до припущення про еліпсоподібну або сферичну форму АСМ, що робить можливим застосування наведених вище математичних закономірностей.

Відповідно до закону Лапласа, внутрішньоміхуровий тиск є пропорційним до напруження стінок в ізоволнометричних умовах:

$$S = P \cdot R_1 / 2h, \quad (5.3)$$

де P – тиск;

R_1 – внутрішній радіус;

h – товщина стінки.

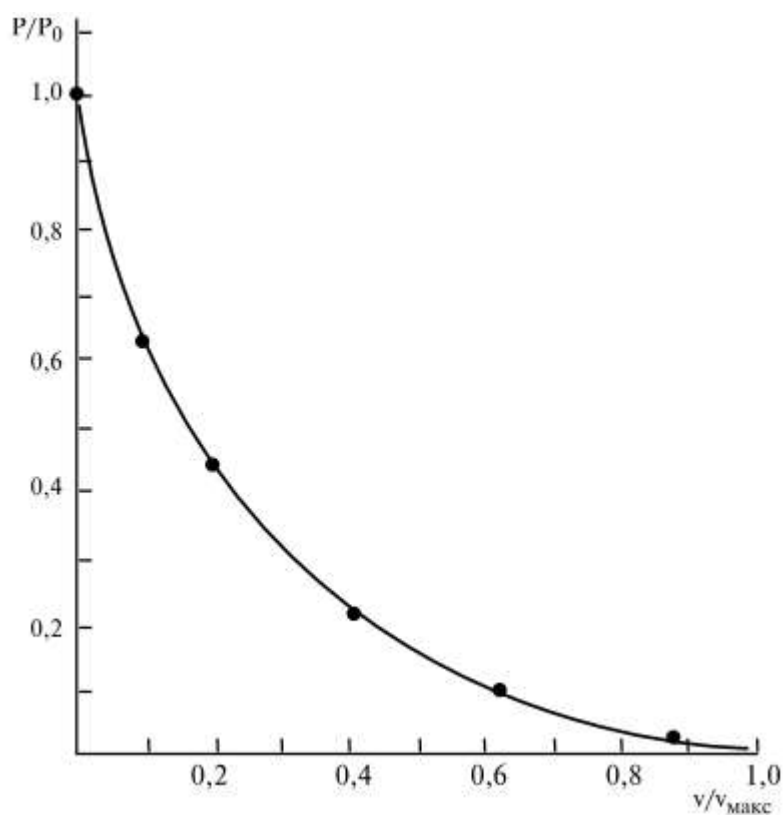


Рис. 5.2 Залежність між силою та швидкістю м'язового скорочення

З іншого боку, наведені моделі не враховують еластичність стінки та можливість застосування біологічно активних сполук з проконтракційними або спазмолітичними властивостями.

Резюме

Створена експериментальна модель ілеоцистопластики на свинях є адекватною для дослідження морфофункціональних змін неоцисту в динаміці адаптації трансплантата до функціонування як складової сечовивідної системи. При формуванні неоцисту його стінка під дією агресивного середовища проходить поступовий морфогенез, спрямований на формування епітелію, подібного за своїми властивостями до перехідного. Залишається можливість фармакологічної регуляції скоротливої функції й адаптації неоцисту в динаміці, для якої можуть бути використані нові хімічні сполуки – похідні гідразонів.

Вже через 3 міс. після створення неоцисту застосування різних препаратів практично не впливало на активність різних макроергічних сполук у різних шарах необладера. Однак в усіх випадках спостерігалися суттєві відмінності порівняно з вихідним рівнем АТФ у кишечнику – $(1,64 \pm 0,12)$ нмоль/г, який зменшився через 3 міс. до $(0,95 \pm 0,06)$ нмоль/г, через 6 міс. – до $(1,03 \pm 0,07)$, а через 12 міс. – до $(1,08 \pm 0,06)$ нмоль/г ($p < 0,05$). Отримані експериментальні дані свідчать про досить глибокі структурні і морфофункціональні зміни епітелію ділянки кишки, трансплантованої при створенні АСМ. Протягом року після втручання відбувається ремоделювання епітеліальних елементів.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Савчук Р. В., Жуковський Д. О., Філіппов П. С. Оцінка мікробіоценозу ортотопічних і гетеротопічних сечових резервуарів та стратегія лікувальної тактики. *Урологія*. Т. 21. № 2`2017 (81). С. 21–26.

2. Energy homeostasis of the artificial bladder in experimental conditions / Savchuk R. V., Kostyev F. I., Dekhtiar Y. M., Zhukovsky D. A., Nasibulin B. A., Kuznietsov D. A. *Eureka: Health Sciencer*. Tallin, Estonia. 2018. P. 42–48.

3. Савчук Р. В., Костєв Ф. І., Шостак М. В., Жуковський Д. О. Моніторинг запобігання рецидиву поверхневого раку сечового міхура. *Здоров'є чоловіка*. 2016. №1 (56). С. 146–149.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Прогрес, досягнутий в реконструктивних операціях на сечовому міхурі, привів до розширення показань для інтестиноцистопластики. Сьогодні такі втручання виконуються не лише при раку сечового міхура (PCM), але й при інтерстиціальному циститі, гіперрефлекторному нейрогенному сечовому міхурі, екстрофії сечового міхура, посттравматичному мікроциститі, дистрофії CM при мієлодисплазії та спінальних травмах, виникненні мікроцисту після туберкульозу CM тощо. Клубова кишка вважається найкращим матеріалом серед інших відділів кишечника для створення АСМ. Переваги цього відділу кишечника полягають в тому, що при його використанні для відведення сечі електролітний баланс змінюється мінімально, що пов'язано з найменшою, порівняно з іншими трансплантатами, реабсорбцією електролітів [13, 14, 191]. Для неоцисту з сигмоподібної кишки і шлунка також характерний більш високий внутрішньорезервуарний тиск [56, 74], що може призвести до розвитку нетримання сечі, особливо у жінок.

Сьогодні в онкоурології одним із невирішених питань, пов'язаних з вибором методу деривації сечі, є морфофункціональне обґрунтування вибору відрізка ШКТ для використання як артифіціального сечового міхура (АСМ). Досі остаточно не відомо, яким чином епітелій клубової кишки реагує на гіперосмолярне агресивне середовище і як швидко ця тканина, будучи включеною в сечовий тракт, змінює свої адсорбційні і секреторні властивості. Невивченим залишається баланс проліферативних процесів, диференціації клітинних елементів, активності апоптозу та клітинної проліферації. Муциновий профіль слизової оболонки АСМ, утвореного із сегментів

кишечнику, досліджувався лише в поодиноких роботах [27, 41], при цьому наведені в них дані є суперечливими. Так, Gatti et al. [151] повідомляють про превалювання продукції сіаломуцинів, інші автори відзначають гіперсекрецію сульфомуцинів [38, 101]. Di Tonno et al. [143] попереджають про необхідність морфологічної настороженості щодо розвитку товстокишкової метаплазії при використанні для утворення АСМ сегментів ободової кишки.

Метою даного дисертаційного дослідження було експериментальне обґрунтування принципової стратегії в способах адаптації артіфіціального сечового міхура на підставі вивчення морфогенезу та функції необладера під впливом нових хімічних сполук, які мають поєднаний антихолінергічний, енерготропний та антигіпоксичний ефекти.

При реалізації програми дослідження використано 50 свиней масою 5–12 кг, які рандомізовано розподілені у дві групи дослідження: I (контрольна), до якої увійшли 10 інтактних тварин, та II (основна), до якої були включені 40 свиней з експериментальною ілеоцистопластиком.

Основна група, у свою чергу, була рандомізовано розподілена на 4 підгрупи:

- підгрупа 1 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (n=10);
- підгрупа 2 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (n=10);
- підгрупа 3 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (n=10);
- підгрупа 4 із введенням внутрішньочеревно синтезованої хімічної сполуки 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно) бензиліден) бензгідразид (n=10).

Отримані дані підтверджують спостереження інших авторів, відповідно до яких морфологічні зміни у стінці тонкокишкового трансплантата

відбуваються протягом кількох місяців та приводять до наближення гістологічної структури шарів стінки неоцисту до будови аутотопічного СМ.

Так, вже через 3 міс. після формування АСМ розпочинаються зміни, які полягають в помірній гіпертрофії м'язового шару, ущільненні підслизового шару, деформації лімфоїдних фолікулів збережених Песєрових бляшок, дистрофічних змінах епітеліоцитів ворсинок. Ці зміни, зумовлені агресивним впливом сечі, поглиблюються з часом, тому через 6 міс. як макроскопічно, так і на мікроскопічному рівні АСМ був подібний до аутотопічного в інтактних свиней. При мікроскопії серозна оболонка була дещо стовщена за рахунок великої кількості фіброзних пучків, відзначалися гіпертрофічні зміни міоцитів, при збереженні двох шарів м'язового шару.

Через 12 міс. після формування АСМ визначалися суттєві зміни у структурі. Описані вище зміни поглиблюються. Відзначається повнокров'я судин, спостерігається їх фіброз. Песєрові бляшки зникають, з'являється незначна кількість невеликих, деформованих лімфоїдних фолікулів з тонкою розірваною периферією і невеликим пухким центром. На цьому етапі дослідження була відсутня складчастість, характерна для вихідної кишки. Ворсинки були трансформовані у сосочкоподібні утворення, крипти взагалі були відсутні. Загалом, епітелій АСМ за структурою нагадував нормальний уротелій. Наведені результати свідчать про досить глибокі структурні і морфофункціональні зміни епітелію ділянки кишкового трансплантата. Термін повної адаптації АСМ дорівнює 6 міс.

Описані морфологічні зміни супроводжуються функціональними. Результати цистотометрії свідчать, що, залежно від терміну дослідження та використаної експериментальної сполуки, МЦЄ становить від 70 до 150 см³, а МДТ – 7,36–38,25 мм вод. ст. При застосуванні препаратів з проконтракційною активністю спостерігалися явища термінальної детрузорної гіперактивності.

Скринінг констрикторних властивостей нових хімічних сполук продемонстрував перспективність вивчення і найбільшу ефективність дії трьох хімічних сполук: феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ФДГК); N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (ДББ) і 4-(dimethylamino) benzaldehyde N, N-dimethylcarbamyldrazone (4DCh). Найбільш виражений стимулювальний вплив відзначався при концентраціях вище 10^{-3} М.

Скринінг спазмолітичних властивостей досліджуваних сполук також продемонстрував їхню наявність у 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ДФДГК) та 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (ДДББ). Визначений спазмолітичний ефект був дозозалежним, максимальні значення були притаманні для концентрацій вище 10^{-2} М.

Результати наших досліджень показали, що формування артіфіціального сечового міхура в експериментальних тварин фрагментом клубової кишки змінює склад клітин слизової сечового осаду. Ці зміни полягають у збільшенні вмісту еритроцитів, зниженні кількості лімфоцитів і нейтрофілів, зміні кількості епітеліоцитів.

Зі збільшенням тривалості післяопераційного періоду відбувається зміна клітинного складу осаду. Це проявляється в зменшенні кількості і навіть зникненні еритроцитів в мазках. Кількість лімфоцитів і нейтрофілів наближається до показників, які спостерігаються в інтактних тварин. Вміст і співвідношення епітеліоцитів також наближаються до такого в інтактних тварин. Оскільки структура органа та його функція тісно пов'язані, ми вважаємо, що відбувається пристосування тканин кишкової стінки до нових умов.

Описані зміни супроводжувалися зменшенням вмісту аденілових нуклеотидів, що можна вважати проявом дисбалансу в системі АТФ-АДФ-

АМФ, як наслідок ішемії тканини та вичерпання резервів макроергів, які використовуються для забезпечення контрактильної активності детрузора. Для корекції виявлених порушень в активності макроергічних аденілових сполук доцільно використовувати хімічні субстанції, здатні впливати на скоротливу активність неоцисту, в тому числі похідні гідразонів.

Сьогодні найчастіше виконують операцію за методом Gersuni – Lowsley, при якій сигмоподібна кишка перетинається якнайнижче на межі з ампулою прямої кишки; з неї також формується резервуар для сечі шляхом пришивання до купола ампули викроєної заздалегідь ділянки сечоміхурового трикутника з сечоводами. Сигмоподібну кишку, мобілізуючи, зводять попереду від прямої, проводять всередині анального сфінктера і фіксують швами до шкіри. Для виконання заключного етапу операції хворому надають положення, як для проміжних операцій, і виконують невеликий додатковий розріз допереду від анального отвору.

Деякі автори рекомендують застосувати хірургічні втручання, при яких використовуються одночасно тонка і товста кишка. Один із варіантів таких операцій запропонований Gil-Vernet. У сформований з петлі сигмоподібної кишки сечовий міхур вшивають петлю клубової з пересадженими в неї сечоводами. З цією ж метою використовували сліпу кишку з термінальним відділом клубової. Автор вважає, що такі варіанти операцій рідше ускладнюються міхурово-сечовідним рефлюксом і розвитком пієлонефриту.

Втім, жодна з наведених операцій не передбачає ізолюваного використання сегмента клубової кишки для створення АСМ. Певний досвід в цьому плані мають R. E. Hautmann та ін. [133, 191]. Вони рекомендують при РСМ виконувати двобічну тазову клубову лімфаденектомію одночасно з радикальною цистектомією, використовуючи гостре розсічення і поділ лобково-передміхурових зв'язок з подальшим перев'язуванням і поділом дорзального венозного комплексу [133, 191]. Відповідно до принципів щадного оперування,

лобково-передміхурові зв'язки розсікаються не повністю, із захопленням тільки тієї частини, яка прикріплюється до простати. Дорзальний венозний комплекс препарується за Myers. Поверхневу частину уретри розтинають по верхівковому краю. Попереду в положеннях 11 a.m. і 1 p.m. умовного циферблату накладають поліглактинові шви, захоплюючи 3–4 мм періуретральної фасції і 1–2 мм уретральної слизової, не торкаючись м'язового шару уретри. В подальшому формується АСМ з клубової кишки з ілеоуретеростомією за Le Due [133, 191] або за Kleinschmidt – Lippert – Theodoresku [133, 191]. Для профілактики дисфункції ШКТ автори рекомендують розташовувати АСМ та ілеоуретеральні анастомози заочеревинно за допомогою великих шматків парістальної очеревини. Наведені технічні прийоми знайшли обмежене використання в різних країнах світу, але виконання ілеоцистопластики не завжди дає оптимальні функціональні результати.

За даними А. І. Яцини та ін. (2011), при морфологічному вивченні механізмів трансформації слизової оболонки кишкового резервуара з використанням сучасних імуно- і гістохімічних методик можна виявити три морфологічні фази адаптації тонкокишкового епітелію: реактивно-запальну, компенсаторно-захисну й атрофічну. Тонкокишковий сечовий резервуар зберігає камбіальний апарат, характерний для тонкокишкового фенотипу, з властивою цьому органу активністю апоптозу і проліферації, що свідчить про низький ступінь ризику пухлинної трансформації. Ці погляди цілком збігаються з отриманими нами даними.

Певні перспективи в плані покращання адаптації АСМ має застосування модуляторів активності м'язової тканини, в тому числі препаратів холінергічної та спазмолітичної спрямованості, зокрема нових сполук. Втім, у сучасній урології досі не знайшли застосування інші перспективні препарати, зокрема похідні гідразонів.

Наші дані свідчать про перспективність застосування після утворення АСМ з клубової кишки таких сполук, як феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ФДГК) і N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідрозид (ДББ), які в концентрації 10^{-3} М збільшують скоротливу активність на (53 ± 5) і (54 ± 4) % відповідно, амплітуду скорочень – на (59 ± 12) і (49 ± 14) %, частоту скорочень – на (48 ± 6) і (31 ± 5) % відповідно. З досліджуваних нових хімічних сполук спазмолітичні властивості з тропністю до клубової кишки демонструють 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ДФДГК) та 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно) бензиліден) бензгідрозид (ДДББ), що знижують гіпертонус на (50 ± 4) та (40 ± 3) % відповідно (рис. 6.1).

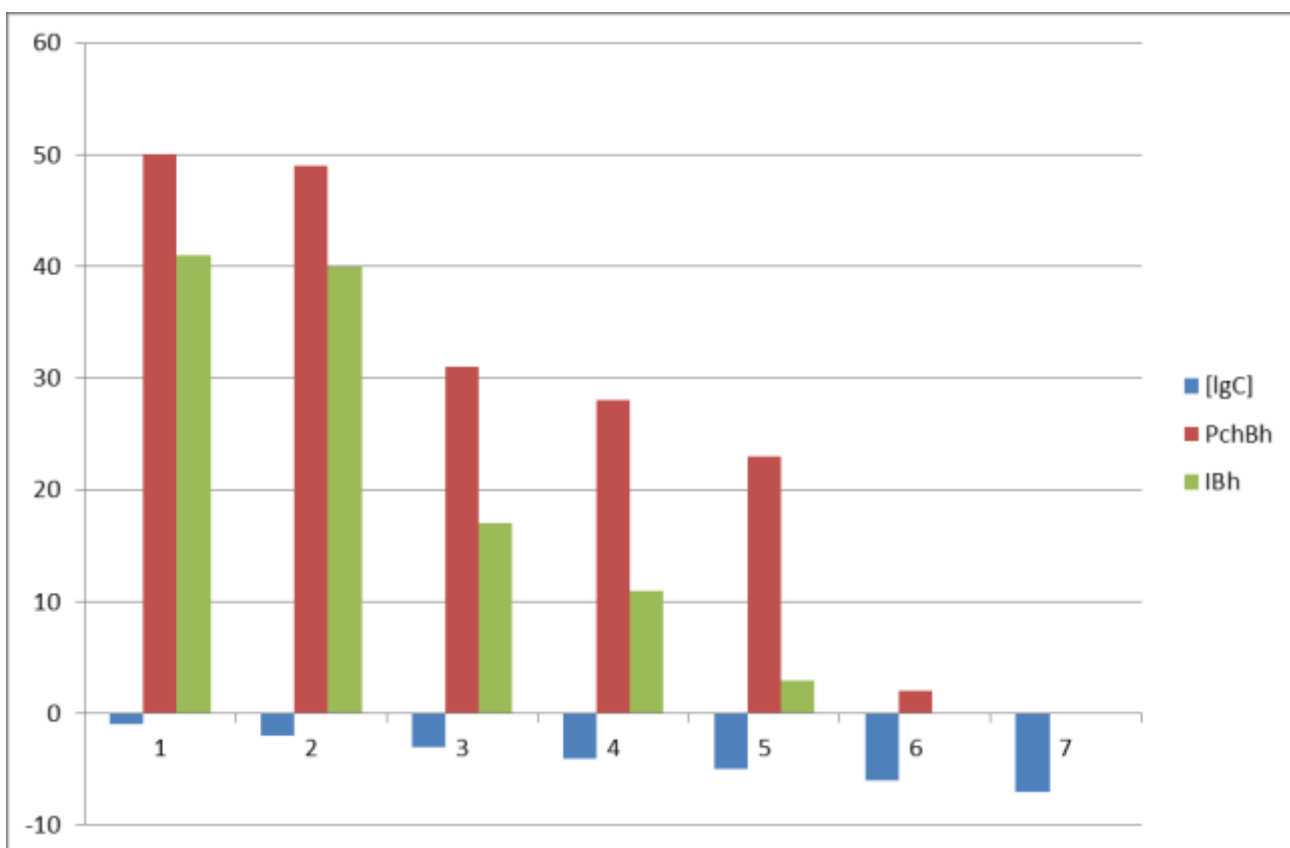


Рис. 6.1 Вплив експериментальних сполук на функціональну адаптацію необладера

Раніше Н. В. Боднарева (2013) встановила, що товстокишковий та шлунковий АСМ, на відміну від тонкокишкового, характеризує сталість

морфогістологічних характеристик, тобто значне збереження типової архітектоніки і морфофункціональних особливостей, властивих цим відділам травного тракту.

У товстокишковому АСМ в усі терміни дослідження зберігаються типові топографічні та кількісні співвідношення покривного епітелію залоз крипт, що корелює з функціональними і морфометричними особливостями товстокишкового епітелію. Покривний епітелій представлений моношаром колоноцитів, які секретують в ранні терміни функціонування АСМ переважно сульфомуцини, а в більш пізні терміни – сіаломуцини. При цьому спостерігається чітко виражена екструзія епітелію, яка корелює зі слизоутворенням. Осередкової гіперплазії епітелію та/або аденоматозних проліфератів не було виявлено при всіх термінах функціонування АСМ.

На відміну від результатів, отриманих щодо тонкокишкового АСМ, крипти в ранні терміни зберігають типову топографію, рівномірне розташування. Лише у віддалені терміни функціонування АСМ наростає нерівномірність їх розташування з укороченням і деяким вогнищевим зменшенням кількості. В пізні терміни у невеликій кількості спостережень виникає мікрокістозна трансформація проксимальних відділів крипт з атрофією епітелію з перифокальним склерозом підслизової оболонки, наявністю лейкоцитів у стінці і просвіті кіст [56].

Мікрокістозна трансформація даних відділів крипт має, очевидно, ретенційну природу, що відображає властиву крипті товстої кишки тенденцію до вікової атрофії. У всіх термінах дослідження в криптах зберігається типове клітинне відтворення з келихоподібним напрямком диференціювання епітелію, наявністю нейроендокринних клітин і непостійністю клітин Панета [133, 191].

З огляду на те, що адаптація кишечного трансплантата, використаного для утворення АСМ, триває більше 6 міс., доцільне впровадження системи неінвазивного клінічного моніторингу, яка б дала змогу оцінити як

функціональні наслідки, так і особливості клітинної трансформації епітелію. Такий результат може бути досягнутий завдяки використанню методів комплексного уродинамічного дослідження, а також регулярного дослідження складу осаду сечі після виконання реконструктивного оперативного втручання й утворення неоцисту.

Загалом, загальна схема вибору фармакологічної корекції контрактильної активності АСМ може виглядати наступним чином (рис. 6.2):

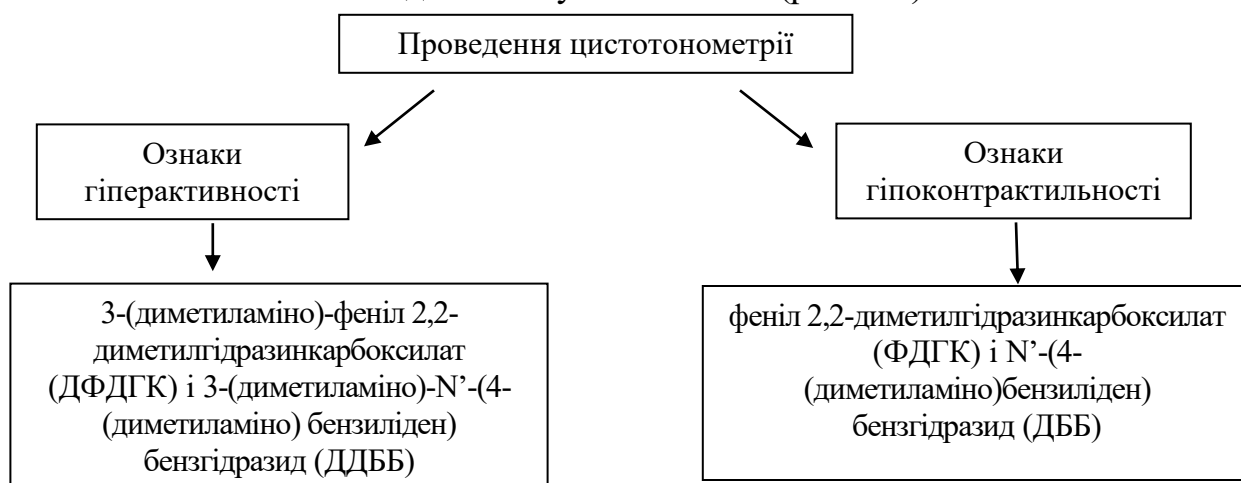


Рис. 6.2 Алгоритм вибору засобу фармакологічної корекції

Втім, для впровадження цього алгоритму існує чимало обмежень. По-перше, клінічні дослідження лікарських засобів – тривалий процес. Результати будь-яких доклінічних досліджень на експериментальних моделях, навіть максимально наближених до клінічних умов, не можуть бути безпосередньо перенесені у практику [133, 191].

Як правило, впровадженню нового лікарського засобу передують мультицентрові рандомізовані плацебо-контрольовані клінічні дослідження, які можуть тривати протягом кількох років. Залежно від етапу дослідження, вони підрозділяються на фази [133, 191]. Розрізняють 4 основні фази клінічного дослідження:

Фаза I – перші випробування лікарського засобу на людях, зазвичай на здорових добровольцях (не менше 10). Ці дослідження часто називають клінічними фармакологічними випробуваннями, тому що вони сплановані таким чином, щоб встановити переносимість, безпечність, наявність вираженої терапевтичної дії, фармакокінетичні та фармакодинамічні характеристики, а іноді й початкові показники ефективності при випробуваннях на людях.

У II фазі оцінюють ефективність і безпеку препарату в пацієнтів з конкретним захворюванням. Зазвичай це плацебо-контрольовані дослідження. Іноді II фазу клінічних досліджень поділяють на фази IIa і IIb. Цілями II фази є оцінка короткострокової безпеки лікарського засобу (IIa), а також доказ клінічної ефективності лікарського засобу та визначення терапевтичного рівня дозування при випробуванні на групі пацієнтів (IIb).

У III фазі клінічних досліджень лікарський засіб випробовують на великих групах пацієнтів (тисячі випробовуваних) різного віку, з різною супровідною патологією; дослідження проводиться в численних науково-дослідних центрах різних країн. Дослідження III фази часто бувають рандомізованими контрольованими дослідженнями. У цих дослідженнях вивчаються всі аспекти лікування, включаючи оцінку співвідношення ризик / користь. На підставі результатів III фази клінічних досліджень приймається рішення про реєстрацію або відмову в реєстрації лікарського препарату. Ця фаза клінічного дослідження також може поділятися на фази IIIa і IIIb.

Фаза IV клінічних досліджень проводиться вже після того, як лікарський препарат отримав схвалення. Ці дослідження часто називають постмаркетинговими. Метою даних досліджень є виявлення відмінностей нового лікарського препарату від інших препаратів в даній фармгрупі, порівняння його ефективності по відношенню до аналогів, вже реалізованих на ринку, і демонстрація користі нового препарату з точки зору економіки охорони здоров'я, а також виявлення та визначення раніше невідомих або неправильно

визначених побічних ефектів лікарського засобу і факторів ризику. В результаті безпечність і ефективність ліків можуть періодично переглядати відповідно до нових клінічних даних з їхнього застосування [133, 191].

Таким чином, навіть наявність обнадійливих результатів щодо високої фізіологічної активності нових лікарських засобів не дозволяє рекомендувати їх використання у клінічній практиці.

Розроблені теоретичні основи метаболічної фармакотерапії небладера, вочевидь, ґрунтуються на врахуванні стадії його адаптації, функціонального стану м'язів та епітелію й особливостей фармакологічного профілю хімічних сполук, рекомендованих для корекції контрактильної функції. Можливість подальшого впровадження в клінічну практику запропонованої моделі має визначатися відповідно до результатів подальших доклінічних досліджень профілю їхньої безпеки та повного циклу багатофазного клінічного дослідження.

ВИСНОВКИ

1. Створена експериментальна модель ілеоцистопластики на свинях є адекватною для дослідження морфофункціональних змін неоцисту в динаміці адаптації трансплантата до функціонування як складової сечовивідної системи, в тому числі для забезпечення мікційного рефлексу.

2. При формуванні неоцисту його стінка під дією агресивного середовища сечі проходить поступовий морфогенез, спрямований на формування епітелію, подібного за своїми властивостями до перехідного. Існує можливість фармакологічної регуляції скоротливої функції й адаптації неоцисту в динаміці, для якої можуть бути використані наукові напрацювання на прикладі застосування нових хімічних сполук – похідних гідразонів, що модулюються в експерименті.

3. Через 3 міс. після створення неоцисту застосування різних хімічних сполук практично не впливало на активність макроергів у різних шарах неоцисту. Однак в усіх випадках спостерігалися суттєві відмінності порівняно з вихідним рівнем аденозинтрифосфату (АТФ) у кишечнику – $(1,64 \pm 0,12)$ нмоль/г, який зменшився через 3 міс. до $(0,95 \pm 0,06)$ нмоль/г, через 6 міс. – до $(1,03 \pm 0,07)$, а через 12 міс. – до $(1,08 \pm 0,06)$ нмоль/г ($p < 0,05$). Отримані експериментальні дані свідчать про досить глибокі структурні і морфофункціональні зміни епітелію ділянки кишки, трансплантованої при створенні артіфіціального сечового міхура (АСМ). Протягом року після втручання відбувається ремоделювання епітеліальних елементів.

4. Встановлено, що проконстриктивні властивості впливу на неоцит мають феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилат (ФДГК) та N'-(4-(диметиламіно)бензиліден) бензгідразид (ДББ), які в концентрації 10^{-3} М збільшують скоротливу активність на (53 ± 5) і (54 ± 4) % відповідно, амплітуду скорочень – на (59 ± 12) і (49 ± 14) %,

частоту скорочень – на (48 ± 6) і (31 ± 5) % відповідно. Спазмолітичні властивості з тропністю до клубової кишки виражені у двох субстанцій: 3-(диметиламіно)-феніл 2,2-диметилгідразинкарбоксилату (ДФДГК) і 3-(диметиламіно)-N'-(4-(диметиламіно) бензиліден) бензгідразиду (ДДББ), що знижують гіпертонус на (50 ± 4) та (40 ± 3) % відповідно.

5. Максимальна цистотонOMETрична ємність становила від 70 до 150 см³, а максимальний детрузорний тиск – від 10 до 52 см вод. ст. Застосування нових хімічних сполук у тварин було виявлено знижує комплаєнтність сечового резервуару на тлі нормальної рефлексорності. Значення максимальної детрузорної ємності (МДЄ) досягало рівня (120 ± 12) см³, а максимальний детрузорний тиск (МДТ) сягав $(38,25 \pm 2,14)$ мм вод. ст.

6. Розроблені теоретичні основи метаболічної фармакотерапії неоциста в експерименті, що ґрунтуються на врахуванні стадії його адаптації, функціонального стану м'язів та епітелію й особливостей фармакологічного профілю хімічних сполук, застосованих для корекції контрактильної функції. Можливість подальшого впровадження в клінічну практику запропонованої моделі визначається відповідно до результатів подальших доклінічних досліджень профілю їхньої безпеки.

ВИКОРИСТАНІ ІНФОРМАЦІЙНІ ДЖЕРЕЛА

1. Абакумова К. А., Аль Муджагед И. И. Компьютерные модели ортотопических мочевого пузыря и биомеханическое исследование состояния их структур. *Известия СПбГЭТУ ЛЭТИ*. 2009. № 8. С. 39–44.
2. Абакумова К. А., Бегун П. И., Аль-Муджагед И. И. Синтез компьютерных методик для клинического анализа исследований состояния структур мочевого пузыря. *Известия ЮФУ. Технические науки*. 2009. № 9 (98). С. 8–12.
3. Абенова М. Т., Фрязинова Т. С., Жарков Н. В. Макросистемный подход в цитологических исследованиях при уротелиальном раке мочевого пузыря по данным компьютерной морфометрии. *Цитология*. 2006. Т. 48, № 3. С. 216–220.
4. Автандилов Г. Г. Основы патологоанатомической практики : руководство. Изд. 3-е доп. М., 2007. 480 с.
5. Аганесов Г. А. Создание модели искусственного мочевого пузыря на основе свободного торакодорсального аутооттрансплантата: эксперим. исслед.: дис. ... канд. мед. наук. М., 2011. 22 с.
6. Аль-Муджагед И. И. Биомеханическое моделирование мочевого пузыря в норме, при патологии и реконструкции. *Российский журнал биомеханики*. 2009. Т. 13, № 2. С. 8092.
7. Анализ ранних осложнений после радикальной цистэктомии при раке мочевого пузыря / А. В. Лыков, А. А. Кельн, А. В. Купчин и др. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2013. Т. 8, № 2. С. 202–204.
8. Анализ ранних послеоперационных осложнений и летальности у больных раком мочевого пузыря, перенесших радикальную цистэктомию /

- В. О. Магер, К. А. Ильин, С. Е. Завацкий и др. *Уральский медицинский журнал*. 2017. № 2 (146). С. 100–103.
9. Анализ результатов радикальных цистэктомий при мышечно-инвазивном раке мочевого пузыря / В. Н. Павлов, А. А. Измайлов, С. М. Измайлова и др. *Уральский медицинский журнал*. 2012. № 3 (95). С. 24–28.
10. Аничков Н. М., Дариенко Р. О., Иванцов А. О. К вопросу морфологии искусственного мочевого пузыря. *Актуальные вопросы онкоурологии*. СПб., 2005. С. 23–25.
11. Аничков Н. М., Бодарева Н. В., Комяков Б. К. Морфофункциональные особенности вариантов искусственного мочевого пузыря из сегментов желудочно-кишечного тракта при долгосрочном его функционировании. *Нефрология*. 2013. Т. 17, № 6. С. 94–97.
12. Антиоксидантная активность гидразонов с фрагментами экранированного фенола / А. Н. Николаевский, О. П. Книга, Е. И. Хижан и др. *Журнал физической химии*. 2012. Т. 86, № 12. С. 1953.
13. Бодарева Н. В. Морфофункциональные особенности вариантов искусственного мочевого пузыря из сегментов желудочно-кишечного тракта при долгосрочном его функционировании. *Научное обозрение*. 2013. № 9. С. 448–452.
14. Бодарева Н. В. Клинико-морфологические и иммуногистохимические особенности вариантов искусственного мочевого пузыря в разные сроки функционирования: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.02. Волгоград, 2013. 94 с.
15. Боровиков В. П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Питер, 2003. 700 с.
16. Василевич В. Ю. Факторы прогноза у больных раком мочевого пузыря II стадии: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.12. Минск, 2010. 21 с.

17. Возіанов О. Ф., Романенко А. М., Бойко С. О. Прогностичне значення рутинного вивчення гістологічної структури пухлини у перебігу уротеліального раку сечового міхура. *Урологія*. 2000. Т. 4, № 3. С. 35–38.
18. Возіанов О. Ф., Пасечніков С. П., Сайдакова Н. О., Павлова Л. П. Епідеміологічні особливості раку сечового міхура в Україні. *Урологія*. 2004. Т. 8, № 1. С. 30–32.
19. Возіанов С. О., Борис Ю. Б., Шеремета Р. З. Радикальне лікування пухлин сечового міхура. *Урологія*. 2004. № 2. С. 40–43.
20. Возіанов С. О., Винниченко В. І., Погорєлова Н. М. Стандартна та флуоресцентна цистоскопія при діагностиці новоутворень сечового міхура. *Фотобіологія та фотомедицина*. 2009. Т. 6, № 1. С. 17–20.
21. Возіанов С. О., Сайдакова Н. О., Старцева Л. М. Стан та перспективи розвитку урологічної служби в Україні. *Урологія*. 2013. Т. 17, № 3. С. 89–95.
22. Выживаемость больных раком мочевого пузыря после радикальной цистэктомии / Б. К. Комяков, Б. Г. Гулиев, А. В. Сергеев и др. *Онкоурология*. 2016. Т. 12, № 1. С. 29–35.
23. Гарагатый С. Ф. Некоторые прогностические аспекты радикальной цистэктомии с ортотопической интестинонеоцистопластикой. *Международный медицинский журнал*. 2004. № 4. С. 111–114.
24. Гиперконтиненция у женщин после ортотопического замещения мочевого пузыря / С. Б. Оччархаджиев, Хассан Абол-Енейн, С. П. Даренков и др. *Урология*. 2008. № 4. С. 24–26.
25. Возіанов С. О., Романенко А. М., Бойко С. О. Гістологічні зміни уротелію сечового міхура у пацієнтів із хронічною затримкою сечі, які проживають на радіоактивно забруднених територіях України. *Науковий вісник Ужгородського університету: зб. наук. пр.* 2008. Вип. 34. С. 89–92. (Серія «Медицина»).

26. Давыдовский И. В. Методологические основы патологии. *Вопросы философии*. 1968. № 5. С. 84–94.
27. Дариенко Р. О. Клинико-морфологическая адаптация искусственного мочевого пузыря: дис. ... канд. мед. наук. СПб, 2008. 169 с.
28. Деев Р. В., Ахмедов Т. А., Комяков Б. К. Клеточное обновление в кишечном эпителии в условиях реактивных изменений слизистой оболочки. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2009. Т. 4, № 1. С. 69–73.
29. Дехтяр Ю. М., Костев Ф. І., Будіянська В. В. Диференційована фармакотерапія дизуричних симптомів у залежності від клінічних особливостей перебігу гіперактивного сечового міхура. *Урологія*. 2016. № 2. С. 8–13.
30. Динамика морфологических изменений трансплантата после ортотопической кишечной пластики мочевого пузыря / А. Ю. Зубков, Э. Н. Ситдыков. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2011. Т. 6, № 2. С. 79–81.
31. Доцільність виконання цистектомії при лікуванні тяжких ускладнень раку сечового міхура / Е. О. Стаховський, С. П. Стьопушкін, М. С. Старцева и др. *Клінічна хірургія*. 2006. № 7 (761). С. 50–53.
32. Думанский Ю. В., Мальцев А. В. Эффективность комбинированного лечения резектабельного рака мочевого пузыря при выполнении цистэктомий. *Украинский журнал хирургии*. 2012. № 4 (19). С. 7–11.
33. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України № 3447-IV від 21.02.2006. *Відомості Верховної Ради України (ВВР)*. 2006. № 27. ст. 230. URL: <http://zakon.rada.gov.ua/go/3447-15> (Дата звернення: 17.11.2020)
34. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в

- експерименте: учеб. пособие. 3-е изд., перераб. и доп. Киев: Вища школа, 1983. 383 с.
35. Илеоцистопластика при инвазивном раке мочевого пузыря / В. Н. Павлов, В. З. Галимзянов, Л. М. Кутлияров и др. *Онкоурология*. 2009. № 4. С. 37–41.
 36. Илеоцистопластика укороченным и стандартным кишечным сегментом / Р. М. Чотчаев, О. Н. Зубань, А. Ф. Семченко и др. *Врач-аспирант*. 2011. Т. 44, № 1. С. 34–40.
 37. Иммуногистохимические и молекулярно-генетические факторы прогноза при ранних стадиях инвазивного рака мочевого пузыря / И. В. Чернышев, Г. Д. Ефремов, А. С. Тертычный и др. *Онкоурология*. 2011. № 3. С. 20–25.
 38. Интракорпоральное формирование ортотопического мочевого пузыря U-образной техникой по упрощенной методике при раке мочевого пузыря. ранние хирургические и функциональные результаты / А. К. Носов, И. Б. Джалилов, С. А. Рева и др. II научно-практическая конференция урологов Северо-Западного федерального округа РФ, 21-22 апр. 2016 г., Санкт-Петербург: материалы. *Урологические ведомости*. 2016. Т. 6, спецвып. С. 75–76.
 39. Использование свободного торакодорсального аутооттрансланата для создания артифициального мочевого пузыря в эксперименте / Р. Т. Адамян, В. А. Григорян, Г. А. Аганесов и др. *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии*. 2011. № 2. С. 60–65.
 40. Касаткин В. Ф., Османян С. Е. Оценка метаболических особенностей пациентов после ортотопической пластики мочевого пузыря в раннем и позднем послеоперационных периодах. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2009. № 1. С. 51–55.
 41. Кащенко С. А. Особливості ангіоархітекτονіки сечового міхура. *Український морфологічний альманах*. 2012. Т. 10, № 3. С. 53–54.

42. Кишечная пластика мочевого пузыря / С. Н. Нестеров, Б. В. Ханалиев, В. В. Рогачиков и др. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2016. Т. 11, № 3. С. 105–110.
43. Кишечная пластика при раке мочевого пузыря / Л. В. Шаплыгин, Н. В. Ситников, Д. В. Фурашов и др. *Онкоурология*. 2006. № 4. С. 25–29.
44. Коган М. И., Васильев О. Н. Ретроспективный анализ результатов радикальной цистэктомии при немышечно-инвазивном раке мочевого пузыря. *Онкоурология*. 2012. № 1. С. 43–49.
45. Комяков Б. К., Фадеев В. А., Сергеев А. В. Редкие осложнения ортотопической цистопластики. *Врач-аспирант*. 2011. Т. 45, № 2. С. 10–16.
46. Костюк О. Г., Хамшарі Мохамад Ю. А., Безкоровайний О. Е. Сучасні тенденції у лікуванні поверхневого раку сечового міхура (огляд літератури). *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2013. Т. 17, № 1. С. 245–251.
47. Лапароскопическая нервосберегающая цистопростатэктомия с интракорпоральным формированием ортотопического мочевого пузыря сегментом сигмовидной кишки / С. Х. Аль-Шукри, А. А. Захаренко, А. С. Аль-Шукри и др. *Урологические ведомости*. 2015. Т. 5, № 4. С. 43–48.
48. Лапароскопическая цистпростатвезикулэктомия с ортотопической эксцентрической илеопластикой мочевого пузыря / П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев, Е. В. Шпоть и др. *Урология*. 2017. № 3. С. 78–83.
49. Латыпов В. Р., Вусик А. Н., Вусик Н. А. Способы реконструкции ортотопического мочевого кишечного резервуара при развитии мочевой дисфункции. *Казанский медицинский журнал*. 2009. Т. 90, № 1. С. 65–68.

50. Лісовий, В. М., Гарагатий І. А., Андреев І. І. Особливості деривації сечі після цистектомії з приводу раку сечового міхура. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2000. № 1. С. 142–144.
51. Лісовий В. М., Дубінін С. С., Гарагатий І. А., Дубініна Г. М. Динаміка ураженості населення Харківської області злоякісними новоутвореннями сечового міхура. *Современные достижения онкоурологии* / ред А. С. Переверзев, В. В. Россихин. Харьков, 2006. С. 140–141.
52. Люминесцентные и фотохимические свойства гидразонов ароматических альдегидов / Л. Д. Попов, В. С. Ореховский, Ю. В. Ревинский и др. *Журнал общей химии*. 2017. Т. 87, № 5. С. 753–759.
53. Матосян С. Р. Методика ортотопической илеоцистопластики у больных с раком мочевого пузыря (анализ и результаты). *Медицинский вестник МВД*. 2012. № 5 (60). С. 45–49.
54. Кудряшов Г. Ю., Карнаух П. А., Золотых М. А. Метод илеоцистопластики при радикальном хирургическом лечении рака мочевого пузыря. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2011. Т. 6, № 2. С. 177–180.
55. Морозов А. В., Павленко К. А. Ортотопический энтеро-неоцистический низкого давления. М., 2005. 22 с.
56. Морфологические и функциональные особенности искусственного мочевого пузыря в зависимости от использованного при реконструкции отдела кишечника (обзор литературы) / В. В. Рогачиков, С. Н. Нестеров, А. Л. Левчук и др. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2008. № 3(1). С. 72–77.
57. Морфологические изменения слизистой оболочки кишечного мочевого пузыря (обзор литературы) / А. И. Яцина, Ю. В. Витрук, О. М. Гаврилюк и др. *Клиническая онкология*. 2011. № 2(2). С. 56–60.

58. Морфологические признаки адаптации искусственного мочевого пузыря из различных отделов желудочно-кишечного тракта / Н. М. Аничков, Б. К. Комяков, Н. В. Бодарева и др. *Медицинский академический журнал*. 2012. Т. 12, № 1. С. 54–58.
59. Морфологический и гистохимический анализ трансформации слизистой оболочки искусственного илеального мочевого пузыря / А. И. Яцына, Ю. В. Витрук, С. В. Вернигородский и др. *Цитология и генетика*. 2011. Т. 45, № 6. С. 3–9.
60. Мусаев Т. Ортопическая деривация мочи после радикальной цистэктомии. *Georgian Medical News*. 2017. Vol. 263. P. 29–35.
61. Наврузов С. Н., Вахабов О. У. Частота и сроки возникновения рецидивов при органосохранном комбинированном лечении рака мочевого пузыря. *Вопросы онкологии*. 2008. Т. 54, № 5. С. 636–638.
62. Нарушения уродинамики у пациентов с неоплазией / В. А. Фадеев, А. В. Сергеев, Я. С. Савашинский и др. *Урологические ведомости*. 2017. Т. 7, спецвып. С. 118–119.
63. Некоторые проявления патоморфоза рака мочевого пузыря при предоперационной лучевой терапии в режиме ускоренного фракционирования / К. Н. Ковров, А. Ю. Вальков, А. В. Архипов, М. Ю. Вальков. *Экология человека*. 2007. № 9. С. 29–33.
64. Немытин Ю. В., Ситников Н. В., Дронов В. И., Сидоров В. А. Морфофункциональные особенности кишечного мочевого резервуара. *Военно-медицинский журнал*. 2004. № 11. С. 20–26.
65. Небладез с уретральним сегментом и способи формування ентероцистоуретрального анастомоза / В. Р. Латыпов, Г. Ц. Дамбаев, А. Н. Вусик и др. *Сибирский онкологический журнал*. 2008. № 3. С. 82–85.
66. Одарченко С. П. Сучасні тенденції у лікуванні раку сечового міхура. *Здоров'я чоловіка*. 2014. № 4(51). С. 124–126.

67. Онкологические и функциональные результаты ортотопической кишечной цистопластики после радикальной цистэктомии по поводу рака мочевого пузыря / М. И. Коган, О. Н. Васильев, В. А. Перепечай и др. *Медицинский вестник Юга России*. 2012. № 3. С. 38–43.
68. Онкологические результаты первичной, спасительной и паллиативной цистэктомии при раке мочевого пузыря / О. Н. Васильев, М. И. Коган, В. А. Перепечай др. *Вестник урологии*. 2017. Т. 5, № 1. С. 12–19.
69. Оптимизация ортотопической илеоцистопластики у больных раком мочевого пузыря после цистэктомии / Г. Ю. Кудряшов, А. В. Важенин, П. А. Карнаух и др. *Онкоурология*. 2017. Т. 13, № 3. С. 87–94.
70. Опыт радикальной цистэктомии с различными методами деривации мочи при раке мочевого пузыря / Л. В. Шаплыгин, Д. В. Фурашов, И. Ц. Скоробогатый и др. *Военно-медицинский журнал*. 2005. Т. 326, № 11. С. 31–35.
71. Ортотопическая илеоцистопластика при раке мочевого пузыря / А. В. Лыков, А. А. Кельн, А. В. Купчин и др. *Тюменский медицинский журнал*. 2013. Т. 15, № 4. С. 49.
72. Ортотопическая илеоцистопластика: ретроспективный сравнительный анализ двух методик / А. В. Лыков, А. А. Кельн, А. В. Купчин и др. *Онкоурология*. 2014. № 4. С. 42–46.
73. Ортотопическая кишечная пластика мочевого пузыря -комплексный подход / И. В. Семенякин, М. И. Васильченко, Д. А. Зеленин и др. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012. № 4/1 (86). С. 87–89.
74. Ортотопическая пластика мочевого пузыря сегментом желудка / Б. К. Комяков, А. И. Новиков, А. И. Горелов и др. *Урология*. 2004. № 3. С. 32–35.
75. Ортотопическая энтеропластика мочевого пузыря после лапароскопической радикальной цистэктомии с использованием мини-

- доступа / В. Н. Дубровин, А. В. Табаков, А. В. Егошин и др. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2011. Т. 6, № 2. С. 165–167.
76. Ортотопическое замещение мочевого пузыря у женщин / Б. К. Комяков, В. А. Фадеев, А. И. Новиков и др. *Урология*. 2006. № 6. С. 44–48.
77. Особливості деривації сечі після цистектомії з приводу раку сечового міхура / І. А. Гарагатий, М. С. Дубінін, С. М. Сукманський и др. *Врачебная практика*. 2002. № 2. С. 64–68.
78. Осложнения радикальной цистэктомии с ортотопической пластикой мочевого пузыря / О. Б. Лоран, Е. И. Велиев, И. В. Серёгин и др. *Анналы хирургии*. 2017. Т. 22, № 2. С. 97–103.
79. Отдаленные результаты замещения мочевого пузыря / Б. К. Комяков, В. А. Фадеев, Я. С. Савашинский и др. *Урологические ведомости*. 2015. Т. 5, №1. С. 78–84.
80. Отдаленные результаты ортотопического замещения мочевого пузыря сегментом желудка / Б. К. Комяков, В. А. Фадеев, А. В. Сергеев. *Урологические ведомости*. 2016. Т. 6, спецвып. С. 57–58.
81. Отдаленные результаты ортотопической цистопластики / Б. К. Комяков, В. А. Фадеев, А. И. Новиков и др. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2015. Т. 10, № 3. С. 145–148.
82. Отдаленные результаты ортотопической цистопластики различными сегментами желудочно-кишечного тракта / В. А. Фадеев, А. В. Сергеев, А. С. Попов и др. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2013. Т. 8, № 2. С. 160–162.
83. Отдаленные результаты хирургического лечения пациентов, перенесших ортотопическую пластику мочевого пузыря / Б. В. Ханалиев, С. Н. Нестеров, В. В. Рогачиков и др. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова*. 2016. Т. 11, № 4. С. 30–34.

84. Очархаджиев С. Б., Даренков С. П. Современные способы формирования ортотопических резервуаров при кишечном замещении мочевого пузыря. *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии*. 2008. № 2. С. 65–70.
85. Первинна, загальна захворюваність, смертність від основних хвороб органів сечостатевої системи в аспекті діяльності ДУ "Інститут урології НАМН України" / С. О. Возіанов, Н. О. Сайдакова, В. М. Григоренко та ін. *Урологія*. 2015. Т. 19, № 3. С. 15–28.
86. Первичная, общая заболеваемость, смертность от основных заболеваний органов мочеполовой системы в аспекте деятельности ГУ "Институт урологии НАМН Украины" / С. А. Возианов, Н. О. Сайдакова, В. М. Григоренко и др. *Урологія*. 2015. Т. 19, № 2. С. 101.
87. Перепечай В. А. Инвертирующая ортотопическая илеоцистопластика при короткой брыжейке подвздошной кишки. *Онкоурология*. 2010. № 2. С. 37–45.
88. Перепечай В. А. Оптимизация хирургического лечения мышечно-инвазивного и местнораспространенного рака мочевого пузыря: дис. ... д-ра мед. наук / Ростовский гос. мед. университет. Ростов-на-Дону, 2016 240 с.
89. Подвздошно-кишечный j-резервуар в ортотопической реконструкции мочевого пузыря / И. П. Костюк, А. Ю. Шестаев, С. С. Крестьянинов и др. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2012. № 3 (39). С. 46–51.
90. Применение различных вариантов кишечной пластики мочевого пузыря и модифицированных операций в лечении инвазивного рака мочевого пузыря / В. Н. Дубровин, А. В. Табаков, Г. А. Мельник и др. *Медицинский альманах*. 2008. Спецвып. С. 128–129.

91. Радикальная цистэктомия при раке мочевого пузыря / Б. К. Комяков, А. В. Сергеев, В. А. Фадеев и др. *Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия*. 2006. № 2. С. 71–72.
92. Радикальная цистэктомия при раке мочевого пузыря: сравнение ранних хирургических осложнений при лапароскопической, открытой и видеоассистированной операции / А. К. Носов, С. А. Рева, И. Б. Джалилов и др. *Онкоурология*. 2015. Т. 11, № 3. С. 71–78.
93. Рак сечового міхура. Підбірка щорічних бюлетенів та інших публікацій Національного канцер-реєстру України. Режим доступу: <http://www.ncru.inf.ua>
94. Ранние послеоперационные осложнения после радикальной цистэктомии / В. О. Магер, С. Е. Завацкий, К. А. Ильин и др. *Онкоурология*. 2011. № 3. С. 85–90.
95. Результати лікування наслідків анатомо-функціональних змін нирок і сечоводів, що виникли на тлі моделі гіперактивного сечового міхура / О. І. Яцина, І. М. Савицька, Ф. І. Костєв та ін. *Клінічна хірургія*. 2018. Т. 85, № 3. С. 70–73.
96. Резервуарна функція ілеального сечового міхура / Е. О. Стаховський, В. С. Карпенко, В. О. Пирогов та ін. *Урологія*. 2000. Т. 4, № 4. С. 21–25.
97. Результаты клинко-морфологического исследования адаптации ортотопического мочевого пузыря / Б. К. Комяков, Р. О. Дариенко, А. О. Иванцов и др. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2006. № 2. С. 69–73.
98. Результаты ортотопической пластики мочевого пузыря желудком и подвздошной кишкой / Б. К. Комяков, А. И. Новиков, В. А. Фадеев и др. *Урология*. 2007. № 6. С. 23–29.

99. Рогачиков В. В. Морфофункциональные особенности искусственного мочевого пузыря в зависимости от отдела кишечника, использованного при реконструкции : автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009. 29 с.
100. Роль госпитальной микрофлоры в развитии воспаления и усилении пролиферативной активности уротелия при раке мочевого пузыря / С. Л. Попов, Н. А. Коренная, О. В. Петрусов и др. *Сибирский медицинский журнал*. 2005. Т. 53, № 4. С. 30–33.
101. Савчук Р. В. Роль енергетичних змін тканини детрузора в патогенезі розвитку гіперактивного сечового міхура: (експерим. дослідж.): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.06. Київ, 2010. 22 с.
102. Серняк Ю. П., Литвинов А. И., Слободянюк Е. Н. Цистэктомия с резекцией предстательной железы и ортотопическая энтероцистопластика у больных раком мочевого пузыря: онкологические и функциональные результаты. *Урологія*. 2012. Т. 16, № 1 (60). С. 61–67.
103. Оччархаджиев С. Б., Даренков С. П. Современные способы формирования ортотопических резервуаров при кишечном замещении мочевого пузыря. *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии*. 2008. № 2. С. 65–70.
104. Соловьев А. В., Осинцев А. А. Ортотопическая пластика мочевого пузыря: осложнения и функциональные результаты. *Справочник врача общей практики*. 2013. № 5. С. 88–91.
105. Специфическая иммунопрофилактика гнойно-воспалительных осложнений после формирования кишечного ортотопического мочевого пузыря / В. Н. Павлов, А. М. Пушкарев, В. З. Галимзянов и др. *Здравоохранение Башкортостана*. 2004. № S3. С. 135–136.
106. Фадеев В. А., Сергеев А. В., Ульянов А. Ю., Касьяненко С. С. Специфические осложнения ортотопического замещения мочевого пузыря. II научно-практическая конференция урологов Северо-Западного

- федерального округа РФ, 21-22 апр. 2016 г., Санкт-Петербург: материалы. *Урологические ведомости*. 2016. Т. 6, спецвып. С. 101-102.
107. Фадеев В. А., Сергеев А. В., Ульянов А.Ю., Касьяненко С.С. Специфические осложнения ортотопического замещения мочевого пузыря. *Урологические ведомости* – 2016 т. 6 – С. 102-105.
 108. Способ ортотопической кишечной пластики мочевого пузыря / В. Р. Латыпов, Г. Ц. Дамбаев, А. Н. Вусик и др. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2006. № 3. С. 7–13.
 109. Способы хирургического лечения инвазивного рака мочевого пузыря (обзор литературы) / А. В. Борота, А. В. Конопко, А. А. Анищенко и др. *Новообразование*. 2010. Т. 3, № 2 (6). С. 24–35.
 110. Сравнительная оценка течения послеоперационного периода в зависимости от наличия или отсутствия осложнений у пациентов, перенесших радикальную цистэктомию / С. А. Возианов, С. Н. Шамраев, В. Д. Васильева и др. *Урологія*. 2016. Т. 20, № 1 (76). С. 31–38.
 111. Старцев В. Ю., Карелин М. И. Комбинированное лечение больных инвазивным раком мочевого пузыря. *Вопросы онкологии*. 2003. Т. 49, № 2. С. 235–238.
 112. Стусь В. П. Стан урологічної захворюваності населення, яке мешкає в умовах урановидобувного та переробного регіону. *Урологія*. 2003. Т. 7, № 3. С. 39–46.
 113. Муравьев А. Н., Орлова Н. В., Блинова М. И., Юдинцева Н. М. Тканевая инженерия в урологии, новые возможности для реконструкции мочевого пузыря. *Цитология*. 2015. Т. 57, № 1. С. 14–18.
 114. Шуляк О. В., Возіанов С. О., Банира О. Б. Урологія. Львів, 2012. 494 с.
 115. Фадеев В. А. Состояние уродинамики нижних мочевыводящих путей у больных раком мочевого пузыря при радикальной цистэктомии с

- ортотопической цистопластикой: дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2004. 112 с.
116. Ферментурия как маркер повреждения мочевого пузыря при острой задержке мочи / В. И. Кирпатовский, И. С. Мудрая, Р. П. Федяков и др. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2012. № 1. С. 20–23.
 117. Фигурин К. М. Внутрипузырная БЦЖ-терапия при мышечно-неинвазивном раке мочевого пузыря. *Онкоурология*. 2012. № 1. С. 14–23.
 118. Лоран О. Б., Серегин И. В., Серегин А. В., Велиев Е. И. Функциональные результаты и качество жизни пациентов после формирования ортотопического мочевого пузыря. *Анналы хирургии*. 2014. № 3. С. 19–25.
 119. Халафян А. А. Statistica 6. Математическая статистика с элементами теории вероятности. М.: Бином, 2011. 326 с.
 120. Целесообразность формирования антирефлюксного уретероэнтероанастомоза при ортотопической тонкокишечной пластике мочевого пузыря / Д. А. Зеленин, М. И. Васильченко, С. Н. Переходов и др. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2013. Т. 8, № 2. С. 296–298.
 121. Рахимов Н. М., Болтаев М. И., Хасанов Ш. Т., Тилляшайхов М. Н. Цистэктомия с различными вариантами деривации мочи при инвазивном раке мочевого пузыря. *Врач-аспирант*. 2010. Т. 39, № 2.2. С. 241–245.
 122. Чернышев И. В., Какорина Е. П., Аполихин О. И. Анализ основных показателей и объемов медицинской помощи при раке мочевого пузыря в российской федерации. *Бюллетень Национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н. А. Семашко*. 2005. № 1. С. 92–95.
 123. Чотчаев Р. М., Зубань О. Н. Результаты цистопластики укороченным илеальным аутоотранслантатом при хирургическом лечении неонкологических заболеваний мочевого пузыря. *Вестник*

Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования. 2011. Т. 3, № 4. С. 49–54.

124. Экстраперитонеальная ортотопическая илеоцистопластика при раке мочевого пузыря: опыт одного отделения / А. В. Лыков, А. А. Кельн, А. В. Купчин и др. *Тюменский медицинский журнал*. 2014. Т. 16, № 4. С. 41–42.
125. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity / G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Jr. Andres et al. *Biochemical Pharmacology*. 1961. Vol. 7. P. 88–95. DOI: 10.1016/0006-2952(61)90145-9
126. A prospective multicenter study on bladder cancer: the COBLAnCE cohort / S. Benhamou, J. Bonastre, K. Groussard et al. *BMC Cancer*. 2016. Vol. 16, N 1. P. 837. DOI: 10.1186/s12885-016-2877-x
127. Abnormal patterns of mucin secretion in ileal neobladder mucosa: evidence of preneoplastic lesion? / A. Parenti, F. Aragona, G. Bortuzzo et al. *European urology*. 1999. Vol. 35, N 2. P. 98–101. doi: 10.1159/000019826
128. An orthotopic xenograft model for high-risk non-muscle invasive bladder cancer in mice: influence of mouse strain, tumor cell count, dwell time and bladder pretreatment / D. Huebner, C. Rieger, R. Bergmann et al. *BMC Cancer*. 2017. Vol. 17, N 1. P. 790. DOI: 10.1186/s12885-017-3778-3
129. Bachor R., Frohneberg D., Miller K. Continence after total bladder replacement: urodynamics analysis of ileal neobladder. *British journal of urology*. 1990. Vol. 65, N 5. P. 462–467.
130. Bancević V., Predrag A., Novak M. Radical cystectomy in elderly. *Vojnosanitetski pregled*. 2015. Vol. 72, N 2. P. 136–139. DOI: 10.2298/vsp1502136b
131. Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse. Berlin: Akademie-Verlag, 1970. 2220 p.

132. Bhatt J., Cowan N., Protheroe A., Crew J. Recent advances in urinary bladder cancer detection. *Expert review of anticancer therapy*. 2012. Vol. 12, N 7. P. 929–939. DOI: 10.1586/era.12.73
133. Borden L. S. Jr., Clark P. E., Hall M. C. Bladder cancer. *Current opinion in oncology*. 2005. Vol. 17, N 3. P. 275–280. DOI: 10.1097/01.cco.0000156985.47984.9e
134. Burnstock G. Purinergic Signalling: Therapeutic Developments. *Frontiers in pharmacology*. 2017. Vol. 8. P. 661. DOI: 10.3389/fphar.2017.00661
135. Camay M., Leduc A. Le entroplasty apres cystoprostatectomie total pour cancer de la vessie et al. *Urology Annals*. 1979. Vol. 2. P. 114–123.
136. Carini M., Serni S., Lapini A. Second stage reconfiguration of Camey I ileal bladder improves its urodynamic and clinical characteristics. *Urology*. 1994. Vol. 44, N 3. P. 425–428. DOI: 10.1016/s0090-4295(94)80108-8
137. Characterization of Standard Urine Properties in Noncomplicated Orthotopic Ileal Neobladders: A Prospective Controlled Study / A. El-Assmy, O. Mahmoud, M. Kamal et al. *Urology*. 2016. Vol. 96. P. 80–84. DOI: 10.1016/j.urology.2016.06.047
138. Chronic urinary retention after radical cystectomy and orthotopic neobladder in women: Risk factors and relation to time / M. H. Zahran, Y. Eldemerdash, D. E. Taha et al. *Urologic oncology*. 2017. Vol. 35, N 12. P. 671.e11–671. DOI: 10.1016/j.urolonc.2017.07.032
139. Clifford T. G., Katebian B., Van Horn C. M Urinary tract infections following radical cystectomy and urinary diversion: a review of 1133 patients. *World journal of urology*. 2018. Vol. 36, N 5. P. 775–781. DOI: 10.1007/s00345-018-2181-2
140. Cluster analysis identifies three urodynamic patterns in patients with orthotopic neobladder reconstruction / K. H. Kim, H. S. Yoon, W. Song et al.

- PLoS One*. 2017. Vol. 12, N 10. P. e0185255. DOI: 10.1371/journal.pone.0185255
141. Comparative Evaluation of Bladder-specific Health-related Quality of Life Instruments for Bladder Cancer / T. J. Moncrief, P. Balaji, B. B. Lindgren et al. *Urology*. 2017. Vol. 108. P. 76–81. DOI: 10.1016/j.urology.2017.06.032
 142. Corfield J. M., Abouassaly R., Lawrentschuk N. Health information quality on the internet for bladder cancer and urinary diversion: a multi-lingual analysis. *Minerva urologica e nefrologica*. 2018. Vol. 70, N 2. P. 137–143. DOI: 10.23736/S0393-2249.17.02952-6
 143. Colonic metaplasia in the long-term follow-up of the ileal neobladder / F. Di Tonno, M. Cassaro, R. Bertoldin et al. *European urology*. 2001. Vol. 39, Suppl 2. P. 15–18. DOI: 10.1159/000052552
 144. Diagnosis of bladder cancer and prediction of survival by urinary metabolomics / X. Jin, S. J. Yun, P. Jeong et al. *Oncotarget*. 2014. Vol. 5, N 6. P. 1635–1645. DOI: 10.18632/oncotarget.1744
 145. Does the site of the orthotopic neobladder outlet matter? A prospective randomized comparative study / A. M. Moeen, A. S. Safwat, M. M. Gadelmoula et al. *European journal of surgical oncology*. 2018. Vol. 44, N 6. P. 847–852. DOI: 10.1016/j.ejso.2018.01.094
 146. Ehdaie B., Atoria C. L., Lowrance W. T. Adherence to surveillance guidelines after radical cystectomy: a population-based analysis. *Urologic oncology*. 2014. Vol. 32, N 6. P. 779–784. DOI: 10.1016/j.urolonc.2014.01.024
 147. Febrile Urinary Tract Infection after Radical Cystectomy and Ileal Neobladder in Patients with Bladder Cancer / K. H. Kim, H. S. Yoon, H. Yoon et al. *Journal of Korean medical science*. 2016. Vol. 31, N 7. P. 1100–1104.
 148. Ferlay J., Bray F., Pisani P., Parkin D. M. Globcan 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC Cancer Base N 5, version 2.0. Lyon: IARCC Press, 2004.

149. Fukuwatari T., Shibata K. Consideration of diurnal variations in human blood NAD and NADP concentrations. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 2009. Vol. 55, N 3. P. 279–281. DOI: 10.3177/jnsv.55.279
150. Gender disparities in hematuria evaluation and bladder cancer diagnosis: a population based analysis / T. Garg, L. C. Pinheiro, C. L. Atoria et al. *The Journal of urology*. 2014. Vol. 192, N 4. P. 1072–1077.
151. Gatti R., Ferreti S., Buzzi G., Simonazzi M. Histological adaptation influences functional outcome of orthotopic ileal neobladders mucosa: 4-year follow-up of 30 patients. *European Urology*. 1999. Vol. 36. P. 588–594.
152. Gender-related Outcome in Bladder Cancer Patients undergoing Radical Cystectomy / R. Pichler, J. Fritz, I. Heidegger et al. *Journal of Cancer*. 2017. Vol. 17, N 8. P. 3567–3574.
153. Gitlin J. S., Xue-ru Wu, Tung-tien Sun, Ritchey M. L. New concepts of histological changes in experimental augmentation cytoplasty: insights into the development of neoplastic transformation at the enterovesical and gastrovesical anastomosis. *Journal of Urology*. 1999. Vol. 162. P. 1096–1100.
154. Groen V. H., Lock M. T. W., Keizer B., Horenblas S. Urothelial carcinoma in an orthotopic neobladder: an unusual pattern of recurrence and metastasis. *BMJ Case Reports*. 2017. Vol. 2017. DOI: 10.1136/bcr-2017-221052.
155. Guan N. N., Gustafsson L. E., Svennersten K. Inhibitory Effects of Urothelium-related Factors. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2017. Vol. 121, N 4. P. 220–224.
156. Hall M. C., Koch M. O., Halter S. A., Dahlstedt S. M. Morphologic and functional alterations of intestinal segments following urinary diversion. *Journal of Urology*. 1993. Vol. 149. P. 664–666.
157. Hautmann R. E., Abol-Enein H., Davidsson T., Gudjonsson S. ICUD-EAU International Consultation on Bladder Cancer 2012: Urinary diversion. *European Urology*. 2013. Vol. 63, N 1. P. 67–80.

158. Hautmann R. E. The ileal neobladder. *Journal of Urology*. 1988. Vol. 139. P. 39–42.
159. Hautmann R. E. Urinary diversion: ileal conduit to neobladder. *Journal of Urology*. 2003. Vol. 169. P. 834–842.
160. Hayat M. A. Handbook of Immunohistochemistry an in situ Hybridization of Human Carcinomas. Molecular Genetics, Gastrointestinal Carcinoma, and Ovarian Carcinoma. Elsevier : Acad. press, 2006. 564 p.
161. Histological adaptation of orthotopic ileal neobladder mucosa: 4-year follow-up of 30 patients / R. Gatti, S. Ferretti, G. Bucci et al. *European Urology*. 1999. Vol. 36, N 6. P. 588–594.
162. Hollenbeck B. K., Miller D. C. Aggressive treatment for bladder cancer is associated with improved overall survival among patients 80 years old or older. *Urology*. 2004. Vol. 64. P. 292–297.
163. Indications for continent diversion following cystectomy and factors affecting long term results / U. E. Studer, R. E. Hautmann, M. Hohenfellner et al. *Urologic Oncology*. 1998. Vol. 4, N 4/5. P. 172–182. DOI: 10.1016/s1078-1439(99)00012-5
164. Insight into long-term histological, proliferative and apoptotic modifications in ileal orthotopic neobladder and conduit mucosa / A. E. Dellis, M. Demonakou, A. G. Papatsoris et al. *Tumori*. 2008. Vol. 94, N 5. P. 701–705.
165. Jarabák J., Zachoval R., Vik V. Urine derivation after radical cystectomy. *Rozhledy v chirurgii*. 2014. Vol. 93, N 1. P. 46–52.
166. Kock N. G. Replacement of the bladder by the urethral Kock pouch, functional results, urodynamics and radiological features. *Journal of Urology*. 1989. Vol. 141. P. 1111–1116.
167. Kotb A. F. Ileal conduit post radical cystectomy: modifications of the technique. *Ecancermedicalscience*. 2013. Vol. 7. P. 301.

168. Laparoscopic Radical Cystectomy and Ileal Neobladder for Muscle Invasive Bladder Cancer in Combination with One Stage Prophylactic Laparoscopic Sacrospinal Fixation to Avoid Future Pelvic Organ Prolapse / P. Törzsök, S. Bauer, R. Forstner et al. *Journal of Endourology Case Reports*. 2016. Vol. 2, N 1. P. 59–61.
169. Lavdaniti M., Zyga S. Quality of Life in Elderly Bladder Cancer Patients Following a Cystectomy. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2017. Vol. 989. P. 297–300.
170. Le Duc A. An original antireflux ureteroileal implantation technique: long term follow up. *Journal of Urology*. 1987. Vol. 137. P. 1156–1158.
171. Lilien Q. M. 25 years experience with replacement of the human bladder (Camey Procedure). *Journal of Urology*. 1984. Vol. 132. P. 886–891.
172. Long-term urodynamic evaluation of laparoscopic radical cystectomy with orthotopic ileal neobladder for bladder cancer / Wang D., Li L. J., Liu J. et al. *Oncology Letters*. 2014. Vol. 8, N 3. P. 1031–1034.
173. Madersbacher S., Studer U. E. Contemporary cystectomy and urinary diversion. *World Journal of Urology*. 2002. Vol. 20. P. 151–157.
174. Masson-Lecomte A., Rava M., Real F. X., Hartmann A. Inflammatory biomarkers and bladder cancer prognosis: a systematic review. *European Urology*. 2014. Vol. 66, N 6. P. 1078–1091.
175. McGuire E. J. Clinical assessment of urethral sphincter function. *Journal of Urology*. 1993. Vol. 150. P. 1452–1454.
176. Miller D. C., Taub D. A., Dunn R. L., Montie J. E. The impact of comorbid disease on cancer control and survival following radical cystectomy. *Journal of Urology*. 2003. Vol. 169, N 1. P. 105–109.
177. Orlandi G., Guizzardi S., Ferreti S., Simonazzi M. Ultrastructural basis for the efficiency of an ileal orthotopic neobladder 27 years after surgery. *Urologia Internationalis*. 2004. Vol. 69. P. 233–235.

178. Orthotopic neobladder reconstruction / T. S. D. Chang, N. Lawrentschu. *Urology Annals*. 2015. Vol. 7, N 1. P. 1–7. DOI: 10.4103/0974-7796.148553
179. Orthotopic bladder replacement in women: focus on functional results of a retrospective, single-centre study / R. Pichler, F. Zangerl, N. Leonhartsberger et al. *Scandinavian Journal of Urology*. 2013. Vol. 47, N 4. P. 295–301.
180. Orthotopic detaenial sigmoid neobladder after radical cystectomy: technical considerations, complications and functional outcomes / K. Xu, C. X. Liu, S. B. Zheng et al. *Journal of Urology*. 2013. Vol. 190, N 3. P. 928–934.
181. Pakzad M., Ikeda Y., McCarthy C., Kitney D. G. Contractile effects and receptor analysis of adenosine-receptors in human detrusor muscle from stable and neuropathic bladders. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2016. Vol. 389, N 8. P. 921–929.
182. Perioperative morbidity, bowel function and oncologic outcome after radical cystectomy and ileal orthotopic neobladder reconstruction: Studer-pouch versus I-pouc. / J. Mischinger, M. F. Abdelhafez, S. Rausch et al. *European Journal of Surgical Oncology*. 2018. Vol. 44, N 1. P. 178–184.
183. Pietzak E. J., Donahue T. F., Bochner B. H. Male Neobladder. *Urologic Clinics of North America*. 2018. Vol. 45, N 1. P. 37–48.
184. Photochemical internalization in bladder cancer – development of an orthotopic in vivo model / O. A. Gederaas, A. Johnsson, K. Berg et al. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2017. Vol. 16, N 11. P. 1664–1676.
185. Popov L. D., Levchenkov S. I., Shcherbakov I. N. Synthesis, Physicochemical Study, and Quantum-Chemical Simulation of Hydrazones Based on 2-Hydrazinoimidazoline. *Russian Journal of General Chemistry*. 2014. Vol. 84, N 4. P. 676–681.
186. Prcic A., Begic E. Complications After Ileal Urinary Derivations. *Medical Archives*. 2017. Vol. 71, N 5. P. 320–324.

187. Prcic A., Aganovic D., Hadziosmanovic O. Impact of complications and bladder cancer stage on quality of life in patients with different types of urinary diversions. *Medical Archives*. 2013. Vol. 67, N 6. P. 418–422.
188. Prognostic Features for Objectively Defined Urinary Continence after Radical Cystectomy and Ileal Orthotopic Neobladder in a Contemporary Cohort / A. Kretschmer, T. Grimm, A. Buchner et al. *Journal of Urology*. 2017. Vol. 197, N 1. P. 210–215.
189. Quality of Life in Patients with Bladder Cancer Undergoing Ileal Conduit: A Comparison of Women Versus Men / S. Siracusano, C. D’Elia, M. Cerruto et al. *In Vivo*. 2018. Vol. 32, N 1. P. 139–143. DOI: 10.21873/invivo.11216
190. Readmission Rate and Causes at 90-Day after Radical Cystectomy in Patients on Early Recovery after Surgery Protocol / E. Altobelli, M. Buscarini, H. S. Gill et al. *Bladder Cancer*. 2017. Vol. 3, N 1. P. 51–56.
191. Shiina K., Hayashida K. I., Ishikawa K., Kawatani M. ATP release from bladder urothelium and serosa in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *Biomedical Research Reagents*. 2016. Vol. 37, N 5. P. 299–304.
192. Singh V. I. Urodynamic and continence assessment of orthotropic neobladder reconstruction following radical cystectomy in bladder cancer; a prospective, blinded North Indian tertiary care experience / S. I. Mandal, S. I. Patil, R. J. Sinha et al. *South Asian Journal of Cancer*. 2014. Vol. 3, N 4. P. 223–236.
193. Stein J. P. Carcinoma of bladder: innovations in management. Berlin, 1998. P. 155–168.
194. Stenqvist J., Winder M., Carlsson T., Aronsson P. Urothelial acetylcholine involvement in ATP-induced contractile responses of the rat urinary bladder. *European Journal of Pharmacology*. 2017. Vol. 809. P. 253–260.

195. Strobe S. A., Chang S. H., Chen L., Sandhu G. Survival impact of followup care after radical cystectomy for bladder cancer. *Journal of Urology*. 2013 Vol. 190, N 5. P. 1698–1703.
196. Studer U. E. Three years experience with an ileal low pressure bladder substitute. *British Journal of Urology*. 1989. Vol. 63. P. 43–52.
197. Surveillance guidelines based on recurrence patterns for upper tract urothelial carcinoma / J. A. Locke, R. Hamidizadeh, W. Kassouf et al. *Canadian Urological Association Journal*. 2018. Vol. 12, N 8. P. 243–251. DOI: 10.5489/cuaj.5377
198. Takezawa K., Kondo M., Kiuchi H., Ueda N. Authentic role of ATP signaling in micturition reflex. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 19585.
199. Takezawa K., Kondo M., Nonomura N., Shimada S. Urothelial ATP signaling: what is its role in bladder sensation? *Neurourology and Urodynamics*. 2017. Vol. 36, N 4. P. 966–972.
200. The effect of length of ureteral resection on benign ureterointestinal stricture rate in ileal conduit or ileal neobladder urinary diversion following radical cystectomy / K. A. Richards, J. A. Cohn, M. C. Large et al. *Urologic Oncology*. 2015. Vol. 33, N 2. P. 65. DOI: 10.1016/j.urolonc.2014.05.015
201. The ileal neobladder: complications and functional results in 363 patients after 11 years of followup / R. E. Hautmann, R. De Petriconi, H. W. Gottfried et al. *Journal of Urology*. 1999. Vol. 161, N 2. P. 422–427.
202. Urodynamic evaluation and long_term results of the orhotopic gastric neobladder in men / D. W. Lin, R. A. Santucci, M. E. Mayo et al. *Journal of Urology*. 2000. Vol. 164. P. 356–359.
203. Zlatev D. V., Skinner E. C. Orthotopic Urinary Diversion for Women. *Urologic Clinics of North America*. 2018. Vol. 45, N 1. P. 49–54.