

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені М.І. ПИРОГОВА

КОСТЮК ОЛЕКСАНДР ГРИГОРОВИЧ

УДК: 616.62-006.6-08:591.4

МОРФОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ НОВИХ СПОСОБІВ ЛІКУВАННЯ ПО-
ВЕРХНЕВОГО РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА
(експериментально-клінічне дослідження)

14.03.01 – нормальна анатомія

14.01.07 – онкологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

доктора медичних наук

Вінниця – 2012

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України

Наукові консультанти: - член-кореспондент АМН України, доктор медичних наук, професор **Думанський Юрій Васильович**, ректор Донецького національного медичного університету імені М. Горького, завідувач кафедри онкології і радіології ФПО;
- заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор **Черкасов Віктор Гаврилович**, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, завідувач кафедри анатомії людини.

Офіційні опоненти:

- д.мед.н., професор **Фоміна Людмила Василівна**, Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, професор кафедри анатомії людини;
- д.мед.н., професор **Ковальов Олексій Олексійович**, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України» завідувач кафедри онкології;
- д.мед.н., доцент **Слободян Олександр Миколайович**, Буковинський державний медичний університет, доцент кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії.

Захист відбудеться «___» _____ 2012 року о _____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 у Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018).

Автореферат розісланий «___» _____ 2012 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

О.В. Власенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Рак сечового міхура (РСМ) є розповсюдженим онкологічним захворюванням і складає близько 10% від загальної кількості пухлин сечових шляхів. Захворюваність цією патологією постійно зростає і становить, за даними вітчизняних та зарубіжних джерел, від 3 до 5% всіх злоякісних новоутворень (Переверзєв О. Є. і співав., 2002; Аль-Шукри С. Х. і соавт., 2008; Васильченко М. И. і співав., 2008; Журавлев В. Н. і соавт., 2008; Ferlay I. et al., 2004; Sylvester R. J. et al., 2008; Kellen E. et al., 2009; Morgan T. M. et al. 2010; Babjuk M. et al., 2011).

На момент звернення приблизно у 75-80% хворих РСМ локалізується у слизовій оболонці або у підслизовій основі сечового міхура (СМ) (Матвеев Б. П. і соавт., 2001; Лоран О. Б. і соавт., 2005; Енгальчев Ф. Ш. і соавт., 2006; О. О. Ковальов та ін., 2010; Oosterlinck W. et al., 2002). Відсутність єдиного погляду на точність діагностики поверхневого раку сечового міхура (ПРСМ) призвела до появи великої кількості способів його лікування. Але і сьогодні наявні методи не дають впевненості в успіх лікування та профілактики рецидиву, що, на нашу думку, пов'язано з відсутністю морфологічних досліджень стосовно змін епітелію та підслизової основи СМ.

На сьогоднішній день основним методом лікування ПРСМ, так званим «золотим стандартом», являється трансуретральна резекція (ТУР) з наступною хіміотерапією або імунотерапією. Однак після оперативного втручання у 60-80% випадків спостерігаються рецидиви (Аль-Шукри С. Х. і соавт., 2008), що вказує на недостатню ефективність такого методу лікування ПРСМ (Brausi M. et al., 2002).

Незважаючи на те, що існує значна кількість підходів щодо строків, комбінацій ад'ювантної терапії у післяопераційному періоді, направленої на зменшення рецидивів, відсутні успіхи у вирішенні даної проблеми (Русаков И.Г. і соавт., 2008; Harry W. et al., 2007). Майже у всіх вітчизняних та зарубіжних дослідженнях повідомляється про 50-70 %, а в інших - до 90 % рецидивів після проведеного лікування ПРСМ різними способами (Зимичев А. А. і соавт., 2009; Вохобов О.У. і соавт., 2010; Мартов А. Г. і соавт., 2010).

До того ж відсутній єдиний підхід щодо застосування того чи іншого хіміопрепарату, дії імунологічних препаратів та доцільності застосування їх комбінацій (Sylvester R. J. et al., 2004). Значну неефективність застосованих хіміопрепаратів пов'язують з відсутністю всмоктувальної функції покривного епітелію слизової оболонки СМ. Однак на даний момент відсутні дані про морфологічні дослідження щодо можливості використання підслизової основи СМ як депо для хіміопрепаратів з метою пролонгації їх протипухлинної дії.

Європейська асоціація урологів, підводячи підсумки за 2010 рік, відмічає, що немає жодного препарату, який переважав би інші за ефективністю (Oddens J. R. et al., 2004). Не вирішеним залишається питання як довго і як часто необхідно проводити внутрішньоміхурове введення хіміопрепарату. Крім того, наголошується, що концентрація препарату має більше значення, ніж тривалість лікування (Kurda M. et al., 2004).

Вже друге сторіччя дане захворювання лікарі намагаються лікувати та профілактувати рецидиви внутрішньоміхуровим введенням різних агентів. Проте ре-

зультат, на жаль, не значний, що вказує на актуальність даного питання та необхідність подальших досліджень як експериментального, з подальшим вивченням морфологічних змін в тканинах СМ, так і клінічного характеру (Русаков І. Г. і соавт., 2008).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до тематичного плану НДР кафедри променевої діагностики, променевої терапії та онкології «Клініко-морфологічні аспекти діагностики, лікування та реабілітації хворих на злоякісні утворення» Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, номер державної реєстрації 0104U002842.

Дисертація є також фрагментом науково-дослідної роботи кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова «Особливості компенсаторно-приспосувальних процесів в організмі при захворюваннях органів черевної порожнини, малого тазу та клініко-експериментальне обґрунтування нових способів лікування», номер державної реєстрації 01061U006045. Тема дисертації затверджена Проблемними Комісіями МОЗ і АМН України «Онкологія» (протокол №4 від 19 травня 2008 року) та «Морфологія людини» (протокол №9 від 21 вересня 2011 року).

Мета дослідження. Розробити та експериментально обґрунтувати, на різних рівнях структурної організації, нові методи лікування хворих на поверхневий рак сечового міхура та профілактики виникнення його рецидивів.

Завдання дослідження.

1. Створити модель поверхневого раку сечового міхура в експерименті.
2. Вивчити в динаміці, в залежності від концентрації (0,1%, 0,05%, 0,025%, 0,0125%) та експозиції (1 год., 2 год., 3 год., 1 доба, 7 діб, 14 діб, 30 діб) морфологічні зміни в тканинах сечового міхура після підслизового введення розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С.
3. Вивчити морфологічні зміни тканин сечового міхура в умовах внутрішньоміхурового введення 0,1% розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С.
4. Визначити лабораторні та макро-мікроскопічні результати лікування поверхневого раку сечового міхура при підслизовому введенні 0,0125% розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С в експерименті.
5. Визначити в експерименті якісні та кількісні прояви регенерації уротелію слизової оболонки сечового міхура у інтактних тварин після її тотального видалення.
6. Визначити лабораторні та морфологічні прояви ефективності лікування поверхневого раку сечового міхура у тварин після тотального видалення його слизової оболонки.
7. Розробити та обґрунтувати новий спосіб збереження сталої концентрації хіміопрепарату шляхом виключення доступу сечі у сечовий міхур, при комбінованому лікуванні хворих на поверхневий рак сечового міхура.
8. Розробити та обґрунтувати новий спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура при аномаліях розвитку сечового міхура.
9. Вивчити результати лікування поверхневого раку сечового міхура за загаль-

ноприйнятою методикою та провести їх порівняння з результатами лікування хворих за власним методом.

Об'єкт дослідження: морфологічні зміни стінки сечового міхура після лікування поверхневого раку сечового міхура.

Предмет дослідження: динаміка макро- та мікроскопічних змін стінки сечового міхура експериментальних тварин і хворих на поверхневий рак сечового міхура після різних способів його лікування.

Методи дослідження: загально-клінічні, лабораторні та інструментальні – для встановлення діагнозу ПРСМ; експериментальний – для створення моделі ПРСМ; гістологічний та електронікроскопічний – для вивчення закономірностей регенерації слизової оболонки сечового міхура при різних способах лікування експериментального ПРСМ; морфометричний – для оцінки відновлення слизової оболонки після її видалення; математичний і статистичний – для об'єктивізації та інформативності отриманих кількісних даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше у динаміці встановлена морфологічна закономірність відновлення будови слизової оболонки та підслизової основи СМ у інтактних тварин після її видалення, що надало можливість у подальшому використовувати дану анатомічну особливість у розробці нових методів лікування ПРСМ.

Автором вперше в експерименті вивчені особливості перебігу даного захворювання та закономірності відновлення будови видаленої слизової оболонки та підслизової основи СМ у тварин зі змодельованим ПРСМ.

Була вивчена та уточнена реакція тканин СМ на внутрішньоміхурове введення доксорубіцину та мітоміцину-С в концентрації (0,1%), яка застосовується у клінічних умовах.

Вперше вивчено реакцію тканин стінки СМ на підслизове введення різних концентрацій доксорубіцину та мітоміцину-С як у найближчі години введення, так і у віддалені терміни. Було визначено, яка концентрація є найбільш безпечною для тканин СМ, які наслідки в тканинах СМ слід очікувати безпосередньо після введення та у віддалені терміни, а також чи можливо взагалі використовувати дані концентрації для підслизового введення.

Вперше вивчено гістологічну структуру тканин СМ у віддалені терміни спостереження після підслизового введення протипухлинних препаратів. Встановлено мінімально небезпечну та терапевтично активну концентрацію хіміопрепарату при лікуванні ПРСМ. Отримані нами позитивні результати дослідження на експериментальних тваринах, дають можливість запропонувати впровадження даного методу лікування в клінічних умовах.

Вперше вивчені наслідки протипухлинної дії сталої концентрації введеного внутрішньоміхурово розчину доксорубіцину та мітоміцину-С на перебіг ПРСМ у клінічних умовах із виключенням доступу сечі у порожнину СМ.

Вперше в клінічних умовах застосований спосіб лікування ПРСМ, який дозволяє створити сталу концентрацію хіміопрепарату в порожнині СМ при неможливості катетеризації одного із сечоводів при аномалії сечового міхура або набутій патології.

Практичне значення одержаних результатів. Встановлені гістологічні зміни слизової оболонки та підслизової основи СМ у проведених дослідженнях дають можливість урологам, онкоурологам, експериментальним дослідникам впливати на перебіг ПРСМ.

Проведене експериментальне дослідження довело можливість видалення слизової оболонки СМ у інтактних собак. Така можливість базується на відсутності загибелі тварин, закономірному відновленні слизової оболонки через один місяць, повному відновленні структури стінки СМ через три місяці, практично повному збереженню об'єму СМ. Отримані дані дають можливість розширити напрямки подальших досліджень і активно впливати на процеси відновлення слизової оболонки при застосуванні нових способів лікування РСМ.

Застосування методики видалення слизової оболонки СМ, в якості лікувальної тактики у тварин з ПРСМ, протягом одного-двох років дало позитивний результат. У п'яти з восьми тварин не встановлено ракової хвороби. Проведення подальших досліджень дасть можливість обґрунтувати та застосувати даний спосіб лікування ПРСМ у клінічних умовах, особливо при відсутності позитивних результатів попереднього комбінованого лікування.

Проведені дослідження при підслизовому введенні протипухлинних хіміопрепаратів надали можливість визначити та застосувати мінімальну терапевтичну концентрацію доксорубіцину та мітоміцину-С (0,0125%) без вираженої реакції у підслизовій основі СМ, як у ранні, так і у віддалені терміни спостереження. Встановлена можливість утворення депо із протипухлинних хіміопрепаратів у підслизовій основі з метою пролонгації їх дії. Даний спосіб введення протипухлинних препаратів при лікуванні ПРСМ у тварин дав можливість уникнути розвитку рецидиву хвороби до двох років спостереження. Запропонований нами метод введення, при трансабдомінальних хірургічних втручаннях, дозволяє створити підслизове депо хіміопрепарату та уникнути його вихід за межі стінки. Введення у підслизову основу протипухлинних хіміопрепаратів набуває важливого значення при мультифокальному рості пухлин *Cr in situ*, лікування яких дуже складне.

Збереження сталої концентрації хіміопрепарату в порожнині СМ, з метою підвищення ефективності його дії на пухлину, є важливим у практичній діяльності при лікуванні ПРСМ. Запропонований нами новий спосіб лікування ПРСМ направлений на відведення сечі із нирок та підтримання постійної концентрації розчину хіміопрепарату у порожнині СМ.

Застосування нового способу лікування хворих з ПРСМ, у яких виявлені труднощі при катетеризації сечоводів, а також вроджені або набуті вади розвитку СМ, спрямовано на збереження сталої концентрації розчину хіміопрепарату в порожнині СМ. Даний метод показав ефективність дії на злоякісну пухлину.

Результати дисертаційної роботи впроваджені у діяльність Вінницького обласного клінічного онкодиспансеру, Вінницької обласної лікарні імені М.І. Пирогова, Вінницької міської лікарні швидкої допомоги, Черкаського обласного онкологічного диспансеру, Чернівецької обласної лікарні, Тернопільського обласного онкологічного диспансеру, Одеського обласного онкологічного диспансеру.

Отримані результати досліджень впроваджені у навчальний процес кафедр

як хірургічного так і теоретичного профілю: Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (кафедра променевої діагностики, променевої терапії та онкології, кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії, кафедра хірургії №1), Буковинського державного медичного університету (кафедра хірургії та урології, кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії), а також на кафедрах оперативної хірургії та топографічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії, Одеського національного медичного університету і Дніпропетровської медичної академії.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто здійснено розробку основних теоретичних та практичних положень роботи, проведено аналіз літературних джерел і аналітично-інформаційний пошук. Визначені мета та завдання клініко-експериментальних досліджень.

Експериментальний розділ роботи виконано автором на кафедрі оперативної хірургії і топографічної анатомії ВНМУ імені М.І. Пирогова, клінічний розділ роботи виконано в урологічній клініці Вінницького обласного клінічного онкологічного диспансера (ВОКОД).

Здобувачем самостійно виконано обробку фактичного матеріалу, проаналізовано отримані результати дослідження, написано усі розділи дисертації. Разом з науковими консультантами сформульовані висновки та практичні рекомендації.

Дисертантом запропоновані та отримані 4 патенти України на способи лікування та профілактики ПРСМ. У співавторстві отримано авторське свідоцтво на винахід на застосування дренажу під час оперативного втручання. У випадках співавторства у наукових працях ідея та основна частина роботи належить здобувачеві.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації були висвітлені та обговорювались на науково-практичній конференції «Актуальні питання медицини», присвяченій 90-річчю Вінницької обласної лікарні імені М.І. Пирогова (Вінниця, 2007); IV міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Вінниця, 2007); 24-й університетській науково-практичній конференції молодих вчених та фахівців (Вінниця, 2008); науковій конференції «Актуальні проблеми функціональної морфології та інтегративної антропології», «Прикладні аспекти морфології» (Вінниця, 2009); науково-практичній конференції «Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології» (Тернопіль, 2009); всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії» (Полтава, 2009); науково-практичній конференції «Рациональна хіміотерапія онкохворих» (Тернопіль, 2009); 2-му науковому симпозиумі «Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології» (Івано-Франківськ, 2010); науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології», присвяченій пам'яті професора Б.В. Шутки (Івано-Франківськ, 2010); III-му симпозиуму «Морфогенез органів і тканин під впливом екзогенних факторів» (Сімферополь - Алушта, 2010); науковому конгресі «IV Міжнародні Пироговські читання», присвяченому 200-річчю М.І. Пирогова; XXII з'їзді хірургів України; V з'їзді анатомів, гістологів, ем-

бріологів і топографоанатомів України (Вінниця, 2010); а також на з'їзді Асоціації урологів України (Одеса, 2010).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 34 наукові праці, у тому числі 21 робота опублікована у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України. Отримано 4 патенти України та одне авторське свідоцтво на винахід СРСР, у матеріалах конференцій та з'їздів опубліковано 7 тез, 16 робіт опубліковано одноосібно.

Об'єм і структура дисертації. Дисертація викладена на 322 сторінках друкованого тексту (основний обсяг становить 272 сторінки) і складається зі вступу, огляду літератури, розділу характеристики матеріалів та методів дослідження, 7-ми розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку 409 використаних літературних джерел, що включає кирилицею 193 джерела, латиницею - 216 джерел. Робота ілюстрована 30 таблицями та 113 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал та методи дослідження. В основу дисертаційної роботи увійшли результати експериментальних та клінічних досліджень. Експериментальна частина досліджень проведена на 86 безпородних, різностатевих собаках, масою від 12 до 15 кг і віком від 5 до 7 років. У залежності від завдання роботи вони були розподілені на 5 серій досліджень. Хірургічні втручання проводили в умовах асептики та антисептики (табл. 1).

У *першій серії* досліджень визначали мінімальну концентрацію розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С, яка при їх підслизовому введенні викликала мінімальну реакцію тканин СМ або вона була відсутня, як така. У цій серії досліджень завдання полягало у встановленні термінів зберігання реакції у тканинах СМ на мінімальну концентрацію вище означених розчинів. Досліди були проведені на 21 собаці. Тварин із досліду виводили передозуванням наркозу.

У *другій серії* досліджень проводили вивчення стану тканин СМ, зокрема слизової оболонки протягом однієї та двох годин, а також через 1, 7 та 14 діб після внутрішньоміхурового введення розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С у концентрації та об'ємі, який використовують у клінічних умовах. Досліди проведені на 15 статевозрілих собаках.

У *третьій серії* експериментальне дослідження було присвячене вивченню результатів лікування ПРСМ шляхом підслизового введення хіміопрепаратів доксорубіцину та мітоміцину-С. Досліди проведені на 15 собаках.

У *четвертій серії* досліджень у динаміці вивчали наслідки тотального видалення слизової оболонки СМ. Досліди проведені на 24 собаках.

У *п'ятій серії* досліджень вивчали результати лікування ПРСМ шляхом тотального видалення слизової оболонки СМ. Досліди проведені на 8 собаках. За тваринами даної серії вели спостереження протягом 3 років.

Усім тваринам 3 та 5 серій була створена модель поверхневого раку сечового міхура, яку викликали щоденним додаванням до їжі 0,6г β -нафтіламіну протягом 6-10 місяців. Діагноз підтверджували цитологічним аналізом сечі, пробою на

приховану кров, патогістологічним дослідженням тканин сечового міхура.

Таблиця 1

Розподіл тварин по серіях і термінах спостереження

№ п/п	Серії дослідження	К-сть тварин	Термін спостереження											
			1 година	2 години	3 години	1 доба	3 доби	7 діб	12 діб	30 діб	90 діб	180 діб	1 рік	2 роки
I	Встановлення реакції тканин СМ на підслизове введення хіміопрепаратів	21	3	3	3		3	3	3	3				
II	Вивчення реакції тканин СМ на внутрішньоміхурове введення хіміопрепаратів	15	3	3		3		3	3					
III	Експериментальне лікування ПРСМ підслизовим введенням хіміопрепаратів - не лікувані	13 2											4	9
IV	Наслідки тотального видалення слизової оболонки СМ - субтотально	21 3				3	3	3	3	3	3	3		
V	Результати лікування експериментального ПРСМ після видалення слизової оболонки СМ	8											2	6
VI	Контроль	3												
	Всього	86												

Три собаки слугували контролем.

Для визначення мінімальної концентрації хіміопрепарата та мінімальної ре-

акції тканин СМ дослідження починали з підслизового введення 0,1% розчину доксорубіцину та мітоміцину-С, оскільки дана концентрація є загальноприйнятною в лікуванні пацієнтів з ПРСМ у клінічних умовах, з подальшим зменшенням концентрації хіміопрепаратів до 0,0125%. У підслизову основу на відкритому СМ голкою N-ДО Physion № 4 на глибину 2-3 мм вводили розчини доксорубіцину та мітоміцину-С у вищевказаній концентрації, внаслідок чого утворювалися папули, які зливалися між собою.

Після оперативного втручання або евтаназії тварин, розкривали черевну порожнину і вирізали шматочки (3-5) зі стінки сечового міхура, які фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну і після відповідної проводки через спирти зростаючої концентрації, заливали у парафін. Мікротомні зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином, за Ван-Гізона, Маллорі, Вейгертом.

Для електронномікроскопічного дослідження шматочки тканин фіксували в 2,5% розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері (рН 7,2 – 7,4) та дофіксували 1% OsO₄. Матеріал зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації і заключали в аралдіт. Морфологічні структури контрастували у процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином ураніацетата, а на зрізах – цитратом свинцю. Зрізи товщиною 40 – 60 нм, отримані на ультратомі LKB – III, з послідуєчим виченням за допомогою електронного мікроскопа ПМ-125.

Гістіостереометричні дослідження виконували на мікропрепаратах із врахуванням методів і рекомендацій Г.Г. Автанділова (2002). Морфометрично на гістологічних препаратах піддослідних тварин визначали товщину слизової, м'язової оболонки, підслизової основи та адвентиції, висоту епітеліоцитів, діаметр їх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення в епітеліоцитах, відносну площу епітеліального покриву.

Для встановлення особливостей регенерації слизової оболонки СМ проводили її тотальне видалення. Техніка видалення полягала у поступовому відшаруванні слизової оболонки СМ від підслизової основи хірургічним шляхом, починаючи від місця розтину СМ, поступово, обережно, без натягу із захватом незначних ділянок слизової оболонки «крок за кроком» по всій поверхні СМ.

У тварин під час експерименту, об'єм сечі в сечовому міхурі визначали за допомогою капілярної пункції СМ на операційному столі або у певний строк при виведенні тварини із експерименту.

Клінічна частина роботи включала результати обстеження та лікування хворих на ПРСМ в урологічній клініці ВОКОД з 2006 по 2010 роки. Як групу порівняння, було відібрано 78 пацієнтів із вперше виявленим ПРСМ, яких лікували за загальноприйнятною методикою. У клінічній частині роботи вивчали результати комбінованого лікування ПРСМ при застосуванні способу, направлено на виключення доступу сечі у порожнину сечового міхура у 53 хворих (патент України №24668). Реєстр галузевих нововведень №142/28/08/.

18-ти хворим на ПРСМ з аномаліями розвитку СМ або неможливістю катеризації сечоводів був застосований новий метод лікування з метою збереження сталої концентрації хіміопрепарату у порожнині сечового міхура (патент України №88097). Реєстр галузевих нововведень №164/32/10/. Хворі з ПРСМ були розподі-

лені у залежності від способу лікування (табл. 2).

Стан хворих до та після операції оцінювали за результатами загального стану хворого, інструментальних досліджень (УЗД, цистоскопія), загальноклінічних методів (аналізів крові і сечі, біохімічних досліджень крові).

Таблиця 2

Розподіл хворих за методами лікування ПРСМ

№ групи	Методи лікування	Кількість хворих
1	Лікування хворих з ПРСМ за прийнятою методикою у клініці.	78
2	Лікування хворих з ПРСМ з використанням власної методики.	53
3	Лікування хворих з ПРСМ при відхиленні у анатомічній будові СМ.	18
Всього:		149

Комітетом з біоетики ВНМУ імені М.І. Пирогова встановлено, що проведенні експериментальні та клінічні дослідження відповідають принципам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1997-2000 рр.) Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), відповідним положення ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.), правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою метою [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53р.], та законодавства України [Закон України №3447-IV „Про захист тварин від жорстокого поводження”] Відомості Верховної Ради України. – 23006ю - №27. – С.230], та повністю виключає обмеження інтересів хворого і нанесення шкоди його здоров'ю та всім етичним вимогам (протокол №6 від 30.03.2011р.).

З метою збереження сталої концентрації хіміопрепарата у порожнині СМ та уникнення незручностей для хворих, нами розроблений та впроваджений в урологічній клініці ВОКОД новий спосіб лікування хворих на ПРСМ.

Даний метод базується на виключенні надходження сечі у сечовий міхур, чим досягається збереження сталої концентрації хіміопрепарату, що сприяє покращенню якості лікування. Патент України на корисну модель №24668. Реєстр галузевих нововведень №142/28/08/. Авторський спосіб виконується у двох варіантах: на відкритому СМ, шляхом лапаротомії, при якій виконується резекція стінки сечового міхура з пухлиною та закритому СМ (після трансуретральної резекції) Техніка способу на відкритому міхурі шляхом лапаротомії. Після відкритої резекції стінки СМ з пухлиною катетеризували обидва сечоводи катетерами №6 на висоту 25-30 см (рівень ниркових мисок). Зовнішні кінці катетерів виводили крізь опе-

раційну рану (на передню черевну стінку) і залишали для евакуації сечі впродовж 1-2 годин, чим досягали стану «сухого» СМ, тобто сечу виводили назовні без надходження її у порожнину міхура (рис. 1А).

Техніка способу на закритому сечовому міхурі. Хворим на ПРСМ після трансуретральної резекції пухлини, катетеризували сечоводи катетерами №6 до ниркових мисок. Паралельно сечовідним катетерам у СМ трансуретрально вводили катетер Фолі №18 (20). Хворого переводили у палату. При відсутності ознак кровотечі через катетер вводили внутрішньоміхурово хіміотерапевтичний препарат по уретральному катетеру. Після виконання встановленої експозиції хіміотерапевтичного препарату у порожнині СМ, розчин евакуювали, сечовідні катетери видаляли (рис. 1Б).

Техніка збереження концентрації протипухлинного препарату у порожнині СМ при аномаліях його розвитку. Патент України №88097. Реєстр галузевих нововведень №164/32/10/. При неможливості введення сечовідних катетерів у ниркову миску після резекції пухлини через сечівник вводили трьохходову дренажну трубку, у якій одна трубка зміщена на 3-4 см по відношенню до іншої, що дає можливість по одній трубці крапельно вводити лікувальну речовину, а по іншій в тому ж об'ємі виводити із сечового міхура суміш сечі і лікувальної речовини, попередньо ввівши у порожнину сечового міхура розведену протипухлинну речовину у 50 мл фізіологічного розчину.

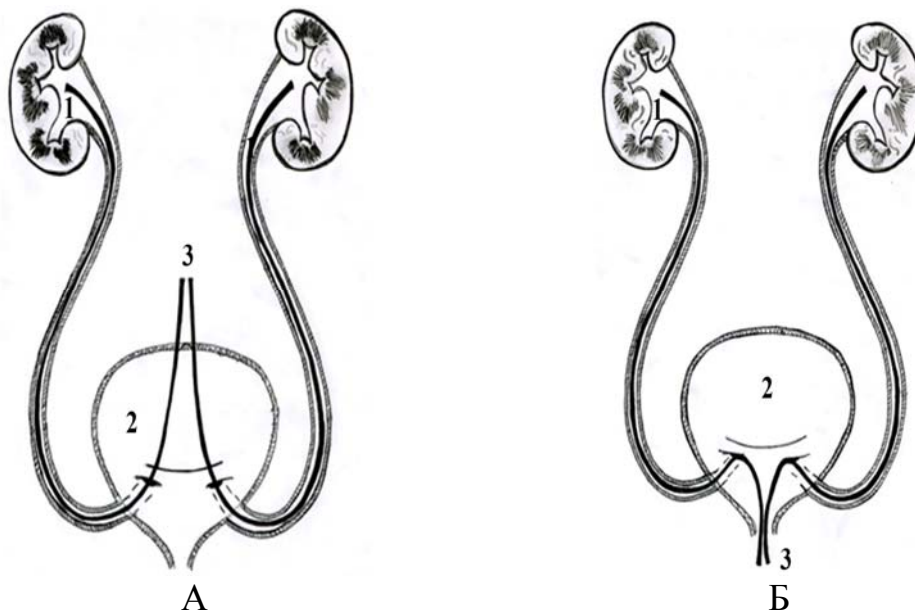


Рис 1. Схема відведення сечі із порожнини сечового міхура, при відкритій резекції пухлини сечового міхура (А) та при закритій резекції пухлини сечового міхура (Б): 1 – порожнина ниркової миски; 2 – порожнина сечового міхура; 3 – катетери.

Для достовірності верифікації діагнозу ПРСМ проводили імуногістохімічні дослідження тканин сечового міхура. Дослідження проводили на парафінових зрізах одноетапним методом з високотемпературним демаскуванням при рН 9,0 з антитілами до Ki 67 Antigen (MIB-1), p53 Protein (DO-7), CK20 (Ks20/8), Collagen IV (CIV 22) (Dako). Система візуалізації En Vision.

Статистичну обробку отриманих даних проводили у статистичному пакеті STATISTIC A® 5.5 з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки результатів.

Результати досліджень та їх обговорення. У пошуку нових шляхів введення лікарських речовин для лікування ПРСМ ми запропонували у вигляді депо для хіміопрепаратів використовувати підслизову основу СМ. Подібних робіт у доступній нам літературі ми не знайшли. Нашими експериментальними дослідженнями була вивчена можливість використання підслизової основи СМ для введення хіміопрепаратів з подальшим їх застосуванням для лікування ПРСМ. Завданням даної серії досліджень було визначення мінімальної концентрації розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С при їх підслизовому введенні, що викликало б незначну запальну реакцію тканин СМ і не допустило розвитку патологічних змін. З цією метою були використані концентрації вищевказаних препаратів 0,1%, 0,05%, 0,025%, 0,0125%. Ми встановили терміни та концентрацію препаратів, при яких зберігається незначна реакція у тканинах СМ, як опосередкованого маркера часу знаходження хіміопрепарату в тканинах СМ. Оскільки у клінічних умовах для лікування ПРСМ введений внутрішньоміхурово хіміопрепарат знаходиться протягом однієї години, ми досліджували реакцію тканин на підслизове їх введення протягом 1-3 годин та у більш віддалені терміни - 7, 14 та 30 діб.

На розтині тварин у місцях введення хіміопрепарату встановлена збільшена товщина слизової оболонки у вигляді папул діаметром 0,2-0,3 см, які поступово зменшувалися до 0,2-0,1 см через три години. Колір слизової оболонки був подібним до такої, як у інтактних тварин.

Проведені гістологічні дослідження тканин СМ у динаміці показали, що *через 1 годину* найбільша реакція тканин СМ спостерігалася на введення *0,1 % розчину обох хіміопрепаратів*. Дана реакція характеризувалася повнокрів'ям судин МЦР, значною лейкоцитарною інфільтрацією навколо них за рахунок нейтрофілів, лімфоцитів і моноцитів. набряк інтерстицію відмічали у всіх тканинах СМ. У ділянках віддалених від місць введення розчину доксорубіцину набряк був відсутній. Відсутніми були дистрофічні зміни в епітеліальному шарі слизової оболонки СМ. *На другу годину*, у підслизовій основі набряк волокон пухкої сполучної тканини був більшим ніж у попередньому терміні, судини підслизової основи були розширеними та повнокровними.

У подальшому для дослідження застосували концентрацію розчину *мітоміцину-С 0,05%*. При гістологічному вивченні препаратів СМ було встановлено, що вже через одну годину спостерігалася розширення просвіту судин та їх повнокров'я у підслизовій основі, хоча й у меншій мірі, ніж на першу годину при введенні 0,1 % розчину мітоміцину-С. Не зважаючи на наявність лейкоцитів у слизовій оболонці, клітини уроепітелію були без змін. Інтактною залишалася м'язова оболонка з незначним набряком сполучної тканини між міоцитами. Гістологічно встановлена реакція тканин на підслизове введення 0,05 % розчину мітоміцину-С була виявлена і на наступні другу та третю години з поступовим зменшенням їх інтенсивності. Так, через 3 години незначний периваскулярний набряк, лейкоцитарна інфільтрація спостерігалися лише у підслизовій основі СМ.

Після наступного зменшення концентрації розчину *мітоміцину-С* до 0,025% при підслизовому введенні, через одну годину спостерігалось незначне розширення просвітів судин МЦР, їх повнокрів'я, лейкоцитарна інфільтрація та набряк навколо них. Особливістю на даний термін спостереження була міграція лейкоцитів із підслизової основи у епітеліальний шар. Можна припустити, що це позитивне явище, яке направлене на посилення імунних процесів. Як і у попередніх дослідженнях, ми спостерігали поступове зменшення клітинних проявів на підслизове введення розчину *мітоміцину-С* з концентрацією 0,025%. Проте, на третю годину у підслизовій основі була відмічена активність фібробластів.

При застосуванні розчину *мітоміцину-С* у концентрації 0,0125% для підслизового введення при гістологічному дослідженні тканин СМ було встановлено мінімальний набряк в інтерстиції підслизової оболонки через одну годину зі значним зменшенням через дві години і, особливо, через три години. Проте і через три години у підслизовій основі СМ було встановлене незначне розширення просвіту кровоносних судин МЦР у цій основі. Незначна реакція тканин підслизової основи на введення розчину 0,0125% *мітоміцину-С* свідчила про наявність хіміопрепарату у тканинах СМ.

Мікроскопічне дослідження тканин СМ тварин, виведених із досліду *через 7 діб* після підслизового введення 0,0125% розчину *мітоміцину-С*, не виявило змін у епітеліальному шарі слизової оболонки. Проте, на відміну від тригодинного терміну, у підслизовій основі спостерігали збільшення числа судин, просвіти яких були розширеними і заповненими форменими елементами крові, венозне повнокрів'я, крайове стояння еритроцитів. Місцями навколо судин була відмічена гістіолімфоцитарна інфільтрація (ГЛІ) за рахунок макрофагів, моноцитів, лімфоцитів. Незначне повнокрів'я спостерігали також у судинах МЦР підслизової та м'язових оболонок.

У тварин виведених із досліду *через 14 та 30 діб*, як і у попередньому терміні спостереження, при гістологічному дослідженні змін в епітеліоцитах слизової оболонки не відмічено. Звертало на себе увагу зменшення кількості вогнищ ГЛІ навколо судин у підслизовій основі, особливо у тварин виведених із досліду через 30 діб.

Підсумовуючи досліди даної серії експерименту, слід відмітити відсутність змін у загальному стані тварин, що підтверджене не тільки їх поведінкою, але й незначним коливанням кількості лейкоцитів у периферичній крові тварин. При підслизовому введенні хіміопрепарату не виявлено пошкодження клітин епітеліального шару. Поява вогнищ ГЛІ, як реакція на підслизове введення розчинів доксорубіцину та *мітоміцину-С*, у перші години поступово зменшується і на 30-у добу практично зникає. Встановлену міграцію лейкоцитів із підслизової основи у епітеліальний шар необхідно розглядати як позитивне явище. Підслизове введення хіміопрепаратів доксорубіцину та *мітоміцину-С*, на відміну від внутрішньоміхурового їх введення, не призводить до пошкодження епітеліальних клітин слизової оболонки СМ. Встановлена поява вогнищ ГЛІ у підслизовій основі СМ опосередковано підтверджує наявність хіміопрепарату у підслизовій основі, незважаючи на поступове зменшення його концентрації до мінімальних проявів у підслизовій ос-

нові СМ.

Друга серія дослідження з вивченням реакцій тканин СМ на внутрішньоміхурове введення загальноприйнятих для лікування раку СМ хіміопрепаратів (доксорубіцину і мітоміцину-С), як у перші години, так і у віддалені терміни, спрямована на пошуки нових шляхів введення хіміопрепаратів при ПРСМ. Дане дослідження пов'язане з тим, що у доступній нам літературі відповіді на це питання ми не знайшли. Ми не знайшли також і даних лікування РСМ з детальним описом змін гістологічної структури слизової оболонки СМ. Нами були проведені експериментальні дослідження з вивчення реакції тканин стінки СМ на внутрішньоміхурове введення хіміопрепаратів.

При внутрішньоміхуровому введенні розчинів доксорубіцину і мітоміцину-С протягом перших двох годин у клітинах епітеліального шару спостерігали виражену їх дистрофію та деструкцію, інфільтрацію нейтрофільними лейкоцитами, набряк всіх шарів стінки СМ, наявність вогнищ ГЛІ у слизовій оболонці та підслизовій основі. Відмічені зміни за інтенсивністю проявів були значно меншими при введенні у порожнину СМ мітоміцину-С.

Таким чином, введення у порожнину СМ розчинів доксорубіцину і мітоміцину-С у інтактних тварин показало наростання явищ запальної реакції у клітинах епітелію слизової оболонки у перші години введення. Ознаки запальної реакції у меншій мірі зберігаються як через 7 діб, так і через 14 діб.

У третій серії досліджень у п'ятнадцяти тварин після створення у них ПРСМ, згідно із завданням, було проведено лікування даної хвороби підслизовим введенням 0,0125 % розчину хіміопрепарату.

Двом тваринам після встановлення у них позитивної реакції на наявність прихованої крові перестали з їжею давати β -нафтіламін. Даним тваринам оперативне лікування з підслизовим введенням розчинів хіміопрепарату не проводили. Вони, як й інтактні тварини, слугували порівнянням лікування ПРСМ підслизовим введенням хіміопрепарату. У перші 2 місяці дані тварини за поведінкою та прийомом корму не відрізнялися від інтактних собак. У подальшому, через 2-3 місяці, вони втратили масу тіла на 5-7 кг. Тварина №59 загинула через 4,5 місяці, а №41 – через 6 місяців після відміни прийому β -нафтіламіну. На розтині тварин зміни у СМ були характерними для раку СМ (збільшені розміри пухлин слизової оболонки, які проростали всі шари СМ, збільшені лімфатичні вузли навколо СМ та заочеревинного простору). У тварини №41 крім того була встановлена наявність пневмонії. Причиною загибелі даних тварин була генералізація пухлинного процесу.

Решта 13 тварин з ПРСМ була пролікована підслизовим введенням розчину хіміопрепарату при хірургічному втручанні. Під час оперативного лікування після розтину СМ і проведеної ревізії порожнини СМ всім тваринам у підслизову основу СМ був введений розчин доксорубіцину (6 тварин) і розчин мітоміцину-С (7 тварин) у концентрації 0,0125% у кількості 25-30 мл, так щоб вся його поверхня була піддана дії препарату. Дефект стінки СМ зашивали за звичайною методикою вікриловими нитками. Передня стінка живота також була ушита пошарово. Додаткового протипухлинного лікування тваринам не призначали, крім протизапальних

препаратів, у перші 3-4 доби.

Тварин, яким підслизово, з метою лікування ПРСМ, було введено розчин доксорубіцину або мітоміцину-С у концентрації 0,0125 %, по дві вивели із експерименту через один рік.

При мікроскопічному дослідженні тканин СМ (із п'яти зон) слизова оболонка за структурою не відрізнялася від норми, епітеліальний шар був представлений трьома-п'ятьма шарами епітеліоцитів. Незначне розростання пухкої сполучної тканини виявлено у підслизовій основі. У м'язовій оболонці спостерігали незначне збільшення прошарків сполучної тканини між пучками гладких міоцитів, що свідчило про розвиток у них склеротичних процесів.

Решта 9 тварин були виведені із досліду через 2 роки. Змін у показниках периферичної крові не відмічено, вони здебільшого відповідали початковим величинам. Незмінними були маса тіла тварин та їх поведінка. На розтині даних тварин об'єм сечі СМ був дещо зменшений (149,8 мл) відносно початкових величин (170,5 мл). При гістологічному дослідженні тканин СМ на цей термін відмічено, що у п'яти тварин вони майже не відрізнялися від норми. У чотирьох із дев'яти тварин при гістологічному дослідженні було діагностовано продовження хвороби СМ з переходом у інвазивну стадію.

Аналізуючи експериментальні дослідження лікування ПРСМ у тварин підслизовим введенням розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С концентрацією 0,0125 %) необхідно звернути увагу на наступне:

- У всіх тварин діагностовано розвиток ПРСМ через 8-10 місяців після вживання β -нафтіламіну в щоденній дозі 600 мг.
- Загибель тварин не відмічено протягом двох років після лікування ПРСМ підслизовим введенням розчинів доксорубіцину або мітоміцину-С.
- При макроскопічному дослідженні у п'яти тварин, виведених із досліду через два роки, слизова оболонка за кольором і складчастою будовою не відрізнялася від такої у контрольних тварин.

При мікроскопічному дослідженні тканин СМ не встановлено пошкодження епітеліального шару слизової оболонки при підслизовому введенні хіміопрепаратів як через 1 рік, так і через 2 роки. Незначні явища склерозу волокон сполучної тканини спостерігали як у підслизовій основі, так і у м'язовій оболонці.

Як показали проведенні нами дослідження, підслизове введення розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С дає можливість створити в його основі депо хіміопрепаратів, що дозволяє у подальшому продовжити дію хіміопрепаратів значно довше, ніж при внутрішньоміхуровому їх введенні.

Продовження хвороби у чотирьох тварин слід рахувати як недостатність одноразового підслизового введення хіміопрепаратів та як аргумент доцільності збільшення періодичної частоти перевірок стану тканин СМ, а також проведення подальших досліджень щодо кількості введення хіміопрепарату у підслизову основу СМ з метою профілактики розвитку пухлини та необхідність застосування хірургічного лікування.

Відомо, що при неінвазивній формі РСМ уражується лише епітеліальний шар СМ. Враховуючи наявність вираженої підслизової основи СМ, ми видаляти

його слизову оболонку з пухлиною (*четверта серія дослідження*).

На першому етапі нами були проведені дослідження з видаленням слизової оболонки СМ у інтактних тварин. Спочатку досліди були проведені на трьох собаках, яким було видалено половину слизової оболонки СМ. Тварини на наступну добу ходили, поведінка їх не відрізнялася від доопераційної. Сечовиділення було з незначною кількістю крові і лише протягом першої доби.

На наступному етапі досліджень групі тварин була видалена вся слизова оболонка СМ частково з підслизовою основою.

Всі тварини після видалення слизової оболонки до кінця першої доби почали ходити, хоча їх реакція на оклик та кличку була дещо сповільненою. Нормалізація їх поведінки, вживання рідкого корму відбувалися протягом перших трьох діб. Виділення по катетеру із порожнини СМ суміші сечі з кров'ю у перші три доби були червоного кольору, однак до кінця третьої доби червоний колір поступово змінював інтенсивність забарвлення до жовтого. Тобто, кровотеча із судин стінки СМ поступово зменшувалася, що було відмічено у перші три доби спостережень після видалення надлобкового катетера. Природне та самостійне виділення сечі спостерігали на четверту добу.

Проводячи аналіз змін кількості сечі, отриманої при капілярній пункції СМ у тварин даної серії досліджень, встановили поступове збільшення об'єму СМ від 20 мл на першу добу, зі щоденним поступовим його збільшенням. До кінця третього місяця спостерігали майже повне відновлення об'єму СМ, що дорівнювало 95,0% від початкового. Не було відмічено значних коливань у показниках лейкоцитів периферичної крові – тільки до трьох діб він був збільшеним достовірно по відношенню до початкових величин, що пов'язано з реакцією на оперативне втручання.

Особливу цінність даної серії досліджень представляла динаміка морфологічних змін процесу відновлення клітин епітеліального шару і зміни, що відбулися у підслизовій основі. На розтині тварин виведених з експерименту, при макроскопічному дослідженні сечового міхура, серозний покрив був звичайного кольору. У порожнині СМ відмічена наявність згортків крові та фібрину, які покривали всю його поверхню, при чому значна кровотеча з підслизової основи СМ була відмічена лише на першу добу після видалення слизової оболонки. На третю добу кровотечі із внутрішньої поверхні СМ не було. На сьому добу, у виведених із дослідження тварин, спостерігали наявність епітеліального покриву блідо-рожевого кольору. Місцями на внутрішній поверхні СМ були збережені рештки згортків крові. Проте уже на дванадцятую добу на внутрішній поверхні СМ була відмічена наявність клітин епітеліального шару, які повністю покривали всю його поверхню. Як показали наші дослідження, наростання клітин епітелію СМ відбувається за рахунок епітеліальних клітин сечоводів та сечівника.

Макроскопічно повне відновлення складчастої будови слизової оболонки СМ у тварин даної серії досліджень спостерігали у трьох тварин, виведених із дослідження через три місяці після видалення слизової оболонки СМ.

Надзвичайно важливим у плані відновлення клітинної складової слизової оболонки і підслизової основи після видалення слизової оболонки є встановлення

динаміки гістологічних змін стінки СМ. Так, через одну добу клітини уроепітелію були відсутніми, частково збережена підслизова основа була покрита фібриноїдними утвореннями, в яких, окрім переваскулярного набряку, спостерігали невеликі вогнища ГЛІ. Третя доба досліджень характеризувалася клиноподібним наповненням епітеліальних клітин на поверхню регенераційної тканини підслизової основи. Регенераційна тканина була представлена малодиференційованими фібробластами та хаотично розташованими тонкими колагеновими волокнами.

М'язова оболонка на першу і третю добу характеризувалася набряком її волокон, розширенням просвіту кровоносних та лімфатичних капілярів. При цьому дані прояви були значно меншими на третю добу спостереження.

На сьому добу, при гістологічному дослідженні тканин стінки СМ, спостерігали нерівномірне покриття регенераційної тканини підслизової основи клітинами епітелію від одного до трьох шарів. У поступово відновлюваній підслизовій основі були наявні волокна сполучної тканини з ознаками набряку. Серед її клітинного складу переважали гіпертрофовані фібробласти і лейкоцити. Кровоносні судини МЦР були повнокровними, а їх просвіти розширеними. У м'язовій оболонці відмічали незначний набряк ендо- та перемізію.

При гістологічному дослідженні тканин СМ через 12 діб після видалення слизової оболонки встановлено, що слизова оболонка СМ була представлена двома шарами епітеліальних клітин, які покривали регенераційну тканину підслизової основи, фібробласти якої знаходилися в активному стані. Між клітинами останньої відмічена наявність поодиноких лімфоцитів.

На тридцяті добу нами встановлено повне відновлення епітеліального шару, клітини якого місцями були у стані гіперплазії та гіпертрофії. У підслизовій основі просвіти кровоносних судин МЦР були розширеними та повнокровними. Пучки гладких міоцитів м'язової оболонки були за будовою подібні до будови міоцитів у інтактних тварин, однак, на даний термін ми відмітили розширення прошарків сполучної тканини між м'язовими волокнами.

Гістологічне дослідження тканин СМ через три та шість місяців після видалення слизової оболонки показало відновлення пошарової структури СМ.

Динаміка відновлення структурної будови СМ була підтверджена мікроморфометричними дослідженнями його стінки. У інтактних тварин товщина слизової оболонки СМ дорівнювала $210,7 \pm 3,6$ мкм, підслизової основи $316,2 \pm 5,7$ мкм, м'язові оболонки $975,6 \pm 12,3$, адвентиції $150,8 \pm 2,1$ мкм, висота епітеліоцитів $12,80 \pm 1,5$ мкм, їх ядер $6,05 \pm 0,6$ мкм, ядерно-цитоплазматичні відношення становили $0,220 \pm 0,003$, відносна площа епітеліального покриву $100 \pm 2,7$ %. Вже на третю добу після видалення слизової оболонки спостерігалися суттєві зміни. Товщина підслизової основи зросла на 62,0 %, а м'язової і адвентиції відповідно на 45,1% і 60,0%. Таке її збільшення можна пояснити розвитком набряку, який був підтверджений світлооптично. Оцінка морфометричних показників у подальші терміни дослідження (7 днів, 2 тижні, 1 місяць) виявила тенденцію до їх нормалізації.

Через три місяці дослідження встановлена нормалізація ядерно-цитоплазматичних відношень, що вказувало на повноцінну диференціацію та зрілість епітеліальних клітин. У цей період досліду більша частина поверхні сечового

міхура була покрита слизовою оболонкою з повноцінними епітеліоцитами. Відносна площа епітеліального покриття при цьому складала $88,60 \pm 5,10\%$.

Через 6 місяців після видалення слизової оболонки сечового міхура всі досліджувані морфометричні показники суттєво не відрізнялися ($p < 0,05$) від таких же у інтактних тварин. Відносна площа епітеліального покриття в цих умовах експерименту дорівнювала $95,50 \pm 4,50\%$.

Отримані задовільні результати загальної поведінки тварин, гістологічні дані динаміки відновлення тканин СМ після видалення слизової основи у інтактних тварин стали основою, яка дала можливість впровадити її видалення у восьми тварин, яким моделювали ПРСМ, як лікувальний засіб (*n'ята серія дослідження*).

До оперативного лікування ПРСМ у собак даної серії досліджень не було виявлено змін у поведінці, прийомі корму, показниках маси тіла та периферичної крові.

Хірургічне втручання проводили в умовах асептики та антисептики з видаленням слизової оболонки СМ тварини, як метода лікування ПРСМ. Дане лікування тварини перенесли задовільно. У всіх тварин патогістологічне дослідження видаленої слизової оболонки виявило наявність ПРСМ, який характеризувався різними клітинними проявами перехідного раку клітин різного ступеня атипії та вогнищ *Cr in situ*. При гістологічному дослідженні у покривному епітелії у видаленій слизовій оболонці також були встановлені зміни, які характеризувалися тим, що поряд з нормальними клітинами покривного епітелію зустрічався апоптоз клітин, а також окремі клітини у стані некрозу. На 100 клітин припадає 5 у стані некрозу, 7,5 у стані апоптозу. Тобто, із 100 клітин 12,5 знаходяться у стані зруйнованості. У підслизовій основі СМ було встановлено наявність вогнищ ГЛІ, гіперплазію фібробластів та колагенових волокон, збільшення кількості макрофагів та лімфоцитів, розширення просвітів лімфатичних капілярів, помірний склероз та значне повнокрів'я судин МЦР. Гладкі міоцити у м'язовій оболонці СМ були без змін. Проте прошарки міжм'язової сполучної тканини були розширеними з незначним набряком. Найбільш виражені дистрофічні зміни при даній формі ПРСМ спостерігалися у слизовій оболонці і підслизовій основі СМ тварин.

Перебіг післяопераційного періоду, після видалення слизової оболонки СМ у собак п'ятої серії був без значних ускладнень. Однак, на відміну від тварин четвертої серії, спостерігали більш інтенсивне виділення суміші крові із сечею та згортків крові дренажною трубкою протягом трьох діб. Нормалізацію кольору сечі у даній групі собак ми спостерігали на сьому-десяту добу післяопераційного періоду. Звертали увагу на часте сечовиділення, яке відбувалося кожні 30-40 хвилин у перші 10 діб після видалення дренажної трубки, з поступовим збільшенням протягом чотирьох тижнів періоду між актами сечовиділенням з 1,5-3 години до 2-3,5 годин.

Для дослідження терміну виживання тварин, вивчення періоду відновлення структури тканин стінки СМ у даних тварин після видалення його слизової оболонки та порівняння з даними інтактних тварин термін догляду за ними був пролонгований до двох років. Додаткового лікування у плані прийому протипухлинних препаратів дані собаки не отримували. У проміжку від трьох до десяти місяців від

генералізації ракового процесу загинуло 3 тварини (37,5%).

Найбільш важливим в експериментальних дослідженнях є результати отримані у більш віддаленні терміни спостереження. Враховуючи цю особливість, нами через один та два роки з досліду були виведені відповідно, дві та три собаки. У тварин №8 і №1, виведених із досліду через два роки, на розтині було виявлено збільшення поперечного розміру сечоводів до 0,9 см при нормі 0,3-0,4 см. Змін у розмірах нирок не відмічено. Макроскопічно у всіх п'яти тварин слизова оболонка СМ була блідо-рожевого кольору із вираженою складчастою будовою. Детальний аналіз отриманих гістологічних даних дав можливість відмітити, що слизова оболонка у всіх тварин була представлена епітеліальним покривом з наявністю у ньому трьох-чотирьох шарів клітин. У однієї тварини через два роки діагностовано наявність злоякісної пухлини СМ. Характерною відмінністю цієї тварини від п'яти тварин даної серії та контрольних тварин було збільшення кількості судин (до 20 судин на одиницю площі) та наявність вогнищ ГЛІ.

У підслизовій основі СМ тварин п'ятої серії виявили виражений розвиток колагенових волокон, повнокрів'я кровеносних судин МЦР, які мали горизонтальний і вертикальний напрям. Гіпертрофія сполучної тканини спостерігалася також і між пучками гладких міоцитів у м'язовій оболонці, проте у меншій мірі, ніж у підслизовій оболонці.

Таким чином, оцінюючи результати досліджень двох груп тварин (четвертої та п'ятої серій), необхідно відмітити:

1. Після видалення слизової оболонки (як лікарська тактика при поверхневому раку сечового міхура), спостерігали виживання більшості тварин (62,0 %).

2. За даними наших досліджень клітини покривного епітелію відновлюються у повному об'ємі через один рік.

3. Встановлено значне розростання сполучної тканини у підслизовій і м'язовій оболонках у тварин після видалення слизової оболонки з пухлинами у порівнянні з інтактними тваринами.

4. Розвиток у однієї із п'яти тварин рецидиву поверхневого раку сечового міхура свідчить про недостатність лише одного видалення слизової оболонки сечового міхура, як лікувального заходу, та потребує подальших досліджень.

5. Розвиток поверхневого раку сечового міхура у інтактних тварин після видалення слизової оболонки ми не спостерігали.

Враховуючи той факт, що значна частина авторів у підсумку своїх робіт стверджує і вказує на необхідність пошуку нових методів лікування ПРСМ, нових шляхів введення хіміопрепаратів та впровадження нових більш дієвих протипухлинних препаратів, доводячи незначну або недостатню ефективність існуючих на сьогодні способів лікування ПРСМ (Ferlay I. et al., 2004; Sylvester R. J. et al., 2008; Kellen E. et al., 2009; Morgan T. M. et al. 2010), ми запропонували нові способи лікування ПРСМ.

У запропонованих нами нових способах лікування ПРСМ у клінічних умовах врахували особливість функціональної будови клітин уроепітелію (відсутність проникнення хімічних речовин у підслизову та м'язову оболонки), що дало змогу зберегти постійну концентрацію хіміопрепаратів у порожнині СМ протягом пев-

ного проміжку часу. Ми також враховували, що за одну хвилину у порожнину СМ надходить 1 мл сечі, яка зменшує концентрацію хіміопрепарату, що, у свою чергу, зменшує ефективність дії на ракові клітини.

Клінічна частина роботи представлена даними за 5 років лікування ПРСМ в урологічній клініці ВОКОД при застосуванні нового способу, спрямованого на збереження сталої концентрації хіміопрепарату в порожнині СМ без доступу сечі. На запропоновані способи лікування та профілактики ПРСМ отримано 2 патенти.

Для співставлення отриманих результатів необхідно було порівняти між собою дані лікування хворих з ПРСМ у ВОКОД за загальноприйнятим методом лікування та хворих, яких лікували за новим методом (табл. 3).

Таблиця 3

Характеристика рецидивів у хворих порівняльної і основної групи за п'ять років

Група хворих	К-ть хворих	К-ть ранніх рецидивів до 1 року	К-ть пізніх рецидивів
порівняльна	78	17 (21,8%)	11 (14,1%)
основна	53	3 (5,7%)	4 (7,5%)

Дані наведені в таблиці 3 вказують, що запропонований нами спосіб збереження концентрації хіміопрепарату у порожнині сечового міхура у майже чотири рази зменшив кількість ранніх рецидивів та у два рази пізніх.

Заслуговує уваги проведення порівняльної характеристики двох груп хворих з високим ризиком виникнення ранніх рецидивів у яких діагностована стадія T1G3 (табл. 4).

Таблиця 4

Кількість хворих з T1G3 у порівняльній і основній групах

Група хворих	К-ть всіх хворих	К-ть хворих з T1G3	К-ть ранніх рецидивів при T1G3
порівняльна	78	11 (14,1%)	4 (36,4%)
основна	53	10 (18,9%)	1 (10,0%)

Як видно з таблиці 4, при майже однаковій кількості хворих з високим ризиком виникнення рецидиву T1G3 кількість ранніх рецидивів у пацієнтів порівняльної групи складає 36,4% проти 10,0% у хворих основної групи. Отримані дані вказують на перевагу застосування способу збереження сталої концентрації хіміопрепарату у порожнині СМ.

Мультицентричний ріст раку СМ є фактором ризику виникнення рецидивів РСМ. При аналізі результатів лікування ми звернули увагу на ранні рецидиви у хворих з мультицентричним ростом пухлин як у порівняльній, так і у основній групах хворих (табл. 5).

Кількість випадків мультицентричного росту ПРСМ після традиційного лі-

кування спостерігали у двадцяти одного хворого, проти семи хворих основної групи. Ранні рецидиви у хворих порівняльної групи зустрічалися з частотою 38,1%, у той час як в основній – 14,3%.

Таблиця 5

Розподіл хворих з мультицентричним ростом ПРСМ у порівняльній і основній групах хворих

Група хворих	К-ть всіх хворих	К-ть хворих з мультицентричним ростом	Ранні рецидиви
порівняльна	78	21 (26,9%)	8 (38,1%)
основна	53	7 (13,2%)	1 (14,3%)

З метою об'єктивізації результатів, отриманих у ході визначення ступеня позитивного за своїм змістом впливу запропонованого способу лікування під час проведених досліджень використовували методику порівняння частот бінарної ознаки у двох непов'язаних та незалежних між собою групах на підставі аналізу таблиць 2×2 .

Алгоритм зіставлення даних, що одержані в разі проведення аналізу таблиць 2×2 являє собою процес порівняння отриманих результатів з позицій оцінки ступеня вираження позитивного лікувального ефекту, який може бути суттєвим («ефект має місце») та несуттєвим або повністю відсутнім («ефект немає місця»), шляхом застосування математичних розрахунків та визначення таких показників, як абсолютна імовірність (AI), різниця абсолютної імовірності (PAI), відносна імовірність (VI), ступінь підвищення відносної імовірності (СПВІ) та відношення шансів (ВШ).

Дані узагальненого аналізу матеріалів, у центрі яких знаходилось визначення наявності або відсутності позитивного ефекту в результаті використання запропонованого способу лікування зі збереженою сталою концентрацією хіміопрепарату у порожнині СМ стосовно появи ранніх рецидивів, наведені у таблиці 6.

Таблиця 6

Дані щодо наявності або відсутності позитивного ефекту в результаті використання запропонованого способу лікування хворих поверхневим раком сечового міхура за показниками появи ранніх рецидивів

Група хворих	Ефект має місце	Ефект немає місця
порівняльна	61	17
основна	50	3

Відповідно до провідних положень методики порівняння частот бінарної ознаки у двох незалежних групах на підставі аналізу таблиць 2×2 значення AI серед хворих груп становили $AI_{ор}=0,943$ ум. од і $AI_{пр}=0,782$ ум. од.

Одержані дані засвідчили значно більшу АІ зменшення ранніх рецидивів внаслідок запровадження розробленого способу лікування серед хворих основної групи.

Різниця абсолютної імовірності (РАІ), що дозволяє здійснити оцінку відмінності відносної частоти появи сприятливих результатів серед представників груп порівняння дорівнювала 0,161 ум. од. Отже, і в цьому разі результати, що реєструвалися, також визначали суттєве підвищення рівня АІ в умовах використання серед хворих основної групи запропонованого у ході виконання дисертаційної роботи способу лікування.

Величина ВІ, яка являє собою співвідношення величин АІ щодо виникнення певної позитивної за своїм змістом події, серед пацієнтів груп порівняння, становила 1,205 ум.од.

Таким чином, одержані результати дозволяють стверджувати, що використання нового способу лікування, безумовно, зумовлювало більш високий ступінь імовірності появи виражених позитивних наслідків серед хворих основної групи.

Величини СПВІ (0,205 ум. од.), що визначають наявність підвищення ВІ появи позитивних за своїм змістом результатів, та ВШ (4,645 ум. од.), що визначає рівень переваги результатів, одержаних серед представників основної групи, над даними, властивими для представників порівняльної групи, цілком підтверджували наявність вираженого (понад в 4,5 разів) позитивного впливу запропонованого нового способу лікування хворих поверхневим раком СМ зі збереженою сталою концентрацією хіміопрепарату в його порожнині на імовірність запобігання появи ранніх рецидивів.

Результати узагальненого аналізу одержаних матеріалів підтверджували високий ступінь ефективності застосування у клінічній практиці запропонованого підходу. Дані щодо визначення наявності або відсутності позитивного ефекту у результаті запровадження нового способу лікування відносно летальності, наведені у таблиці 7.

Таблиця 7

Дані щодо наявності або відсутності позитивного ефекту в результаті використання запропонованого способу лікування хворих поверхневим раком сечового міхура за показниками летальності

Група хворих	Ефект має місце	Ефект немає місця
порівняльна	71	7
основна	50	3

Згідно з провідними положеннями запропонованої методики значення АІ серед хворих груп порівняння дорівнювали $AI_{or} = 0,943$ ум. од, і $AI_{gr} = 0,910$ ум. од., засвідчуючи наявність значно більшої АІ щодо реєстрації позитивних зрушень стосовно показників летальності внаслідок запровадження розробленого способу лікування серед хворих основної групи.

Різниця абсолютної імовірності становила 0,033 ум. од. і також визначала певне підвищення рівня АІ в умовах використання серед хворих основної групи запропонованого у ході виконання дисертаційної роботи способу лікування.

Величина ВІ, серед пацієнтів груп порівняння, становила 1,036 ум. од., підкреслюючи той факт, що використання нового способу лікування, безумовно, зумовлювало більш високий ступінь імовірності появи виражених позитивних наслідків серед хворих основної групи.

Зрештою, величини СПВІ (0,036 ум. од.), що визначає наявність підвищення ВІ появи позитивних за своїм змістом результатів, та ВШ (1,643 ум. од.), що визначає рівень переваги результатів, одержаних серед представників основної групи, над даними, властивими для представників порівняльної групи, цілком підтверджували наявність позитивного впливу (понад в 1,5 разів) запропонованого нового способу лікування хворих поверхневим раком СМ зі збереженою сталою концентрацією хіміопрепарату у його порожнині на характеристики летальності.

Про високу достовірність отриманих результатів свідчили дані щодо визначення довірчих інтервалів для різниці відносних частот (довірчий інтервал, як правило, не включав у свою структуру 0, і тому відмінності між представниками груп порівняння слід було вважати статистично значущими), для ВІ за методом Katz (довірчий інтервал в усіх випадках був розташований у правому від 1 просторовому полі і, отже, ВІ була вищою у першому рядку стандартної таблиці 2×2 , тобто серед хворих основної групи), а також для ВШ (довірчий інтервал в усіх випадках був більшим за 1 та був розташований справа від неї у просторі досліджуваних показників) і, отже, ВІ була суттєво вищою в першому рядку стандартної таблиці 2×2 , тобто також серед хворих основної групи.

Підсумовуючи вище наведені дані необхідно констатувати, що:

1. Із 78-ми хворих, які слугували порівняльною групою, та яким було проведено традиційне комбіноване лікування (хірургічна операція з курсом післяопераційної хіміотерапії) у 28-ми (35,9%) пацієнтів було виявлено рецидив хвороби. У 17-ти хворих рецидиви були виявлені у ранньому післяопераційному періоді, що склало (21,8%).

2. При лікуванні хворих з поверхневим раком сечового міхура, у яких був застосований спосіб збереження сталої концентрації сечі у сечовому міхурі (53 хворих) ранні рецидиви були виявлені у трьох хворих 5,7% проти 21,8% у пацієнтів порівняльної групи.

3. У трьох із чотирьох хворих порівняльної групи з T₁G₃ був встановлений ранній рецидив хвороби, тоді як у основній групі він був діагностований у одного із трьох хворих.

4. Запропоновані нами методи лікування поверхневого раку сечового міхура дозволяють зберігати сталу концентрацію хіміопрепарату у порожнині сечового міхура, що при традиційному способі лікування є неможливим.

5. Лікування пацієнтів з мультицентричним ростом поверхневого раку сечового міхура було ефективнішим при сталій концентрації хіміопрепарату у порожнині сечового міхура.

Поліпшення результатів лікування поверхневого раку сечового міхура у паці-

ентів основної групи хворих має своє пояснення:

1) збереження сталої концентрації хіміопрепарату протягом однієї години у порожнині сечового міхура дало можливість однакового впливу лікарського засобу на всю слизову оболонку зі сталою концентрацією;

2) виключена можливість затримки виділення сечі як лікувальними засобами, так і самим хворим;

3) термін перебування хіміопрепарату в порожнині сечового міхура можна продовжувати за необхідністю.

Вісімнадцять хворих з вадами розвитку сечового міхура і сечоводів склали другу групу спостережень. У даних хворих був застосований запропонований нами спосіб лікування раку сечового міхура. Даний спосіб дав можливість також зберігати сталу концентрацію хіміопрепарату протягом однієї години з необхідністю продовження експозиції хіміопрепарату в порожнині сечового міхура. Виникнення лише одного рецидиву із вісімнадцяти хворих з поверхневим раком сечового міхура в ранньому післяопераційному періоді, яким постійну концентрацію хіміопрепарату в порожнині сечового міхура підтримували шляхом регуляції подачі розчину хіміопрепарату та евакуації суміші (сечі з хіміопрепаратом) із сечового міхура є важливим та перспективним методом лікування.

Підсумовуючи отримані результати усієї роботи, необхідно зазначити:

- створена модель поверхневого раку сечового міхура дала можливість морфологічно обґрунтувати нові способи його лікування;
- проведені нами експериментальні дослідження дали можливість встановити безпечність видалення слизової оболонки сечового міхура та визначити етапи відновлення її структурної будови;
- встановлені морфологічні зміни в тканинах сечового міхура експериментальних тварин при внутрішньоміхуровому введенні хіміопрепарату в концентрації згідно інструкції з використання в клініці;
- встановлена мінімальна концентрація хіміопрепарату при підслизовому введенні якого спостерігалася мінімальна запальна реакція тканин сечового міхура та відмічався терапевтичний ефект на індукований рак сечового міхура;
- підводячи підсумок лікування поверхневого раку сечового міхура у клінічних умовах необхідно відмітити, що застосування запропонованих нами способів лікування поверхневого раку сечового міхура значно зменшує кількість ранніх післяопераційних рецидивів, позитивно впливає на перебіг поверхневого раку сечового міхура та виживання хворих;
- перевагою запропонованих нами способів лікування поверхневого раку сечового міхура є збереження сталої концентрації хіміопрепарату в порожнині сечового міхура, що призводить до відсутності імперативного поклику, який при застосуванні традиційного способу лікування часто призводить до припинення продовження лікування.
- запропоновані нами методи лікування, направлені на збереження сталої концентрації хіміопрепарату в порожнині сечового міхура, не потребують використання додаткового урологічного обладнання і, за рахунок одноразового застосування, значно здешевлюють саме лікування.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично узагальнено, морфологічно і клінічно обґрунтовано новий напрямок вирішення науково-практичної проблеми онкології – нових методів лікування пацієнтів з поверхневим раком сечового міхура на основі пріоритетного використання способів збереження сталої концентрації хіміопрепаратів у порожнині сечового міхура.

1. Модель поверхневого раку сечового міхура у тварин створена шляхом щоденного додавання до корму, разом із м'ясним фаршем, 0,6 г β -нафтиламіну протягом 6-10 місяців дала можливість морфологічно обґрунтувати нові шляхи введення хіміопрепаратів та запропонувати нові способи лікування поверхневого раку сечового міхура.

2. Визначена реакція тканин сечового міхура на підслизове введення 0,1%, 0,05%, 0,025%, 0,0125% розчинів хіміопрепаратів доксорубіцину та мітоміцину-С. Встановлена найменша концентрація хіміопрепаратів (0,0125%), яка при підслизовому введенні викликає мінімальний набряк, незначну лейкоцитарну інфільтрацію, розширення судин мікроциркуляторного русла у перші 1-2-3 години та поступове зменшення їх інтенсивності на 7-му та 14-ту добу. У ранні терміни спостереження (до семи діб), реакція в тканинах сечового міхура на введення розчину доксорубіцину, була більш вираженою ніж на введення розчину мітоміцину-С. У віддалений термін (30 діб) значна різниця у реакції тканин сечового міхура на підслизове введення розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С була відсутня.

3. Внутрішньоміхурове введення розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С у концентрації 0,1% через одну-дві години призводить до вираженої вакуольної дистрофії та деструкції епітеліальних клітин слизової оболонки, інфільтрації його тканин нейтрофільними лейкоцитами, набряку всіх шарів стінки сечового міхура, гістіолімфоцитарної інфільтрації слизової оболонки та підслизової основи сечового міхура. У зв'язку з тим, що регенерація слизової оболонки сечового міхура відбувається на 14 добу, доцільно проводити повторні інстиляції хіміопрепаратів з інтервалом у два тижні, що значно зменшить кількість хімічних циститів.

4. Підслизове введення розчину доксорубіцину, як і мітоміцину-С, у концентрації 0,0125% тваринам з поверхневим раком сечового міхура, як лікувальний засіб (без видалення пухлини), дало можливість уникнути летальності протягом двох років. Рецидив захворювання, у даній групі тварин, через 2 роки становив 44,4%. Тварини, яким не водили у підслизову основу хіміопрепарати загинули від генералізації пухлин сечового міхура, крововтрати, кахексії через 6-10 місяців.

5. Видалення слизової оболонки у інтактних тварин не призводить до летальних наслідків. Епітелізація поверхні сечового міхура після її видалення відбувається починаючи з третьої доби. Площа відновленого епітеліального покриву після видалення слизової оболонки сечового міхура через 3 місяці склала 90%, через 6 місяців вона дорівнювала $95,50 \pm 4,50\%$ ($p < 0,05$) та за гістологічною будовою стінки сечового міхура не відрізнялася від такої у контрольних тварин.

6. Відновлення об'єму сечового міхура до 95,0% після видалення слизової

оболонки у інтактних тварин спостерігається через 3 місяці. У тварин з поверхневим раком сечового міхура через два роки після лікування даним способом об'єм сечового міхура становив 71,4% від початкової величини, що наголошує на необхідності профілактики розвитку мікроцисту.

7. Видалення слизової оболонки, як самостійний лікувальний засіб, у собак з індукованим поверхневим раком сечового міхура призводить до виживання п'яти із восьми тварин (62,0%). Летальність у ранньому післяопераційному періоді спостерігали у 38,0% тварин. У тварин, що вижили, через 2 роки рецидив захворювання спостерігали у однієї тварини, що становить 12,5%. Гістологічно слизова оболонка у даних тварин була відновлена повністю, у підслизовій та м'язовій оболонках виявляли вогнища склерозу.

8. Розроблений нами метод із відведенням сечі з сечового міхура при лікуванні та профілактиці рецидиву поверхневого раку сечового міхура у хворих дав можливість протягом однієї години зберігати у його порожнині сталу концентрацію хіміопрепарату та ефективно впливати на пухлини, а також дозволив уникнути проблем пов'язаних із затримкою сечі хворими.

9. Застосування способу з відведенням сечі з сечового міхура, у ранньому післяопераційному періоді (до одного року) дозволило зменшити кількість ранніх рецидивів у 2 рази (до трьох випадків $5,7 \pm 3,2\%$) із 53 хворих основної групи, на відміну від 17-ти випадків ($21,8 \pm 4,7\%$) із 78 хворих порівняльної групи. У хворих з поверхневим раком сечового міхура в стадії T₁G₃ відсоток ранніх рецидивів в основній групі склав 10 %, на відміну від 36,4 % пацієнтів порівняльної групи.

10. Летальність за 5 років хворих основної групи, яких лікували запропонованим методом збереження сталої концентрації хіміопрепарату в порожнині сечового міхура, становила 3 випадки (5,6%), тоді як у хворих порівняльної групи, яких лікували традиційним способом – 7 випадків (8,9%).

11. Запропонований спосіб збереження сталої концентрації хіміопрепаратів у порожнині сечового міхура дав можливість знизити ризик розвитку рецидивів у пізньому післяопераційному періоді у 4-ох (7,5%) із 53 хворих основної групи на відміну від 11-ти (14,1%) із 78 хворих порівняльної групи.

12. Застосування способу лікування хворих з поверхневим раком сечового міхура, направлено на збереження сталої концентрації хіміопрепарату в порожнині сечового міхура при вадах його розвитку, дало можливість уникнути ранніх рецидивів у 17 хворих із 18.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО ТА ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗДОБУТИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

1. Видалення слизової оболонки сечового міхура як у інтактних тварин, так і у тварин з поверхневим раком сечового міхура, дасть можливість розробити нові методи лікування з метою уникнення розвитку рецидиву поверхневого раку сечового міхура.

2. Застосування підслизового введення хіміопрепаратів у експериментальних тварин у концентрації 0,0125% для лікування індукованого поверхневого раку сечового міхура, профілактики рецидиву пухлини, є перспективним напрямком у

створенні депо лікарської речовини.

3. При лікуванні поверхневого раку сечового міхура комбінованим способом, після проведення трансуретральної резекції або трансабдомінальної резекції пухлин сечового міхура, та з метою профілактики рецидиву раку сечового міхура доцільно застосовувати методи збереження постійної концентрації хіміопрепарату в порожнині сечового міхура на встановлений проміжок часу (1-2 год.).

4. З метою вивчення дії нових протипухлинних препаратів, при моделюванні злоякісних пухлин сечового міхура, необхідно використовувати обидва методи лікування поверхневого раку сечового міхура (створення сталої концентрації хіміопрепарату в порожнині сечового міхура та підслизове введення хіміопрепарату).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Костюк О. Г. Вплив видалення слизової оболонки сечового міхура на виживаємість тварин / О. Г. Костюк // Вісн. морфології. - 2007. - Т. 13, № 2. - С. 239-240. *(Здобувач провів відбір клінічного матеріалу, систематизував, обробив та проаналізував результати, написав статтю)*

2. Костюк О.Г. Морфологічні зміни сечового міхура під дією доксорубіцину / О. Г. Костюк // Клініч. анатомія та оперативна хірургія. -2007. -Т. 6, №3.-С. 97-98.

3. Думанський Ю. В. Лікування поверхневого раку сечового міхура / Ю. В. Думанський, О. Г. Костюк, М. П. Кавка // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Серія «Медицина». - 2008. - Вип. 33. - С. 179-181. *(Здобувачем проаналізовано наукову літературу, провів клінічні дослідження та сформулював висновки)*

4. Костюк О. Г. Відновлення об'єму сечового міхура після повного видалення слизової оболонки / О. Г. Костюк, Г. Я. Костюк, О. В. Гусак // Таврич. медико-біологіч. вестн. - 2008. - Т. 11, № 3. - С. 42-44. *(Здобувач провів експериментальні дослідження, підготував статтю до друку)*

5. Костюк О.Г. Морфологічна оцінка особливостей регенерації слизової оболонки сечового міхура після її видалення / О. Г. Костюк, М. С. Гнатюк // Вісн. Вінниц. нац. мед. ун-ту. - 2008. - Т. 12, № 1. - С. 21-24. *(Здобувач виконав дослідження)*

6. Костюк О. Г. Новий спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура / О. Г. Костюк, М. П. Кавка, О. Е. Безкоровайний // Клініч. анатомія та оперативна хірургія. - 2008. - № 1. - С. 85-86. *(Здобувач провів клінічні дослідження, аналіз та узагальнення результатів)*

7. Костюк О.Г. Вплив доксорубіцину та мітоміцину-С на тканини сечового міхура при їх підслизовому введенні / О. Г. Костюк // Укр. мед. альманах. - 2009. - Т. 12, № 2. - С. 88-90.

8. Костюк О. Г. Перспективи використання моделі поверхневого раку сечового міхура / О. Г. Костюк // Університет. клініка. - 2008. - Т. 4, № 2. - С. 74-76.

9. Костюк О.Г. Експериментальне моделювання поверхневого раку сечового міхура / О. Г. Костюк // Клініч. анатомія та оперативна хірургія. -2009.-Т. 8, № 2. - С. 89-91.

10. Костюк О. Г. Модель поверхневого раку сечового міхура в експеримен-

тальних дослідженнях / О. Г. Костюк // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісн. Укр. мед. стомат. акад. - 2009. - Т. 9, вип. 2 (26). - С. 72-74.

11. Костюк О. Г. Морфологічні зміни в тканинах сечового міхура у віддалені терміни на підслизове введення розчину доксорубіцину / О. Г. Костюк // Вісн. морфології. - 2009. - Т. 15, № 1. - С. 24-26.

12. Костюк О. Г. Морфологічні зміни підслизової основи сечового міхура при введенні мітоміцину С / О. Г. Костюк, Іяд Фахід Хурані // Здобутки клініч. експеримент, медицини. - 2009. - № 1. - С. 55-57. *(Здобувач виконав дослідження, провів аналіз отриманих даних, підготував статтю до друку)*

13. Костюк О. Г. Раціональна хіміотерапія при поверхневому раку сечового міхура / О. Г. Костюк // Вісн. наук, досліджень. - 2009. - № 4. - С. 124-125.

14. Думанський Ю. В. Новий підхід до лікування поверхнього раку сечового міхура / Ю. В. Думанський, О. Г. Костюк, Г. Я. Костюк // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологич. наук и практик. здравоохранения: сб. статей. - 2010. - Т. 146, Ч. 2. - С. 59-61. *(Здобувач виконав дослідження, статистичну обробку матеріалу, аналіз отриманих результатів)*

15. Костюк О.Г. Поліпшення фармакокінетики протипухлинних хіміопрепаратів, введених у порожнину сечового міхура / О. Г. Костюк // Урологія. - 2010. - Т. 14. - Додаток: Матеріали з'їзду асоціації урологів України, (Одеса, 16-18 верес. 2010 р.). - С. 30-32.

16. Костюк О.Г. Реакція тканин сечового міхура на внутрішньоміхурове введення протипухлинних хіміопрепаратів / О. Г. Костюк // Галиц. лікарський вісн. - 2010. - № 2. - С. 62-64.

17. Костюк О. Г. Спосіб лікування неінвазивного раку сечового міхура в експерименті / О. Г. Костюк // Вісн. Вінниц. нац. мед. ун-ту. - 2010. - Т. 14, № 1. - С. 63-65.

18. Костюк О. Г. Способи покращення фармакокінетики протипухлинних хіміопрепаратів у лікуванні поверхнього раку сечового міхура / О. Г. Костюк // Клініч. анатомія та оперативна хірургія. - 2011. - № 1. - С. 75-78.

19. Костюк О.Г. Нове у лікуванні поверхнього раку сечового міхура / О.Г. Костюк, О.С. Хіміч // Вісник Вінницького національного медичного університету. - 2011. - Т.15-№1. - С. 88-90. *(Здобувачем проведено підбір хворих, інтерпретацію)*

20. Черкасов В.Г. Особливості морфологічних змін тканин сечового міхура тварин при внутрішньоміхуровому та підслизовому введенні 0,1% розчину доксорубіцину або мітоміцину-С / В.Г. Черкасов, О.Г. Костюк // Biomedical and Biosocial Antropology. - 2012. - № 18. - С. 6-8. *(Здобувачем самостійно проаналізовано наукову літературу, проведено морфологічне дослідження та аналіз результатів, зроблено узагальнення даних і написання роботи)*

21. Черкасов В.Г. Ультраструктурний аналіз стінки сечового міхура при лікуванні експериментального поверхнього раку сечового міхура / В.Г. Черкасов, О.Г. Костюк // Вісник морфології. - 2012. - № 1(Т.18). - С. 16-19. *(Здобувачем самостійно проаналізовано наукову літературу, проведено морфологічне дослідження та аналіз результатів, зроблено узагальнення даних і написання роботи)*

22. Костюк.О.Г. Порівняльна характеристика результатів лікування поверхневого раку сечового міхура / О. Г. Костюк // Вісн. Вінниц. нац. мед. ун-ту. - 2012. - Т. 16, № 1. - С. 8-11.

23. А. с. 1673129 СССР, МКИ А 61 М 25/00. Дренаж / Г. Я. Костюк, С. П. Жученко, Т. А. Кадошук, А. С. Жученко, А. Г. Костюк, П. Л. Потолочный (СССР). - № 4415906/14, 4415907/14; заявл. 25.04.88 ; опубл. 30.08.91, Бюл. № 32. - 17 с. *(Здобувачем особисто зібрані та проаналізовані літературні джерела з даної проблеми, проведені експериментальні дослідження)*

24. Пат. 24666 Україна, МПК А 61 К 31/00. Спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура / Костюк О. Г., Гусак О. В. ; заявник і патентовласник Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова. - № u 200702031 ; заявл. 26.02.07 ; опубл. 10.07.07, Бюл. № 10. - 2 с. *(Здобувач провів клінічні дослідження, розробив теоретичні викладки методики, впровадив спосіб у медичну практику)*

25. Пат. 24668 Україна, МПК А 61 В 17/00. Спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура / Костюк О. Г., Кавка М. П. ; заявник і патентовласник Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова. - № u 200702050 ; заявл. 26.02.07 ; опубл. 10.07.07, Бюл. № 10. - 2 с. *(Здобувач сформулював ідею, провів дослідження, оформив патент)*

26. Пат. 85610 Україна, МПК А 61 В 17/00. Спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура / Костюк О. Г., Гусак О. В. ; заявник і патентовласник Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова. - № а 200702847 ; заявл. 19.03.07 ; опубл. 10.02.09, Бюл. № 3. - 2 с. *(Здобувач сформулював ідею способу, здійснив його обґрунтування, оформив патент)*

27. Пат. 88097 Україна, МПК А 61 В 17/00. Спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура / Думанський Ю. В., Костюк О. Г., Кавка М. П. ; заявник і патентовласник Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова. - № а 200800388 ; заявл. 11.01.08 ; опубл. 10.09.09, Бюл. № 17.-2с. *(Здобувач провів обстеження хворих, провів дослідження, оформив патент, впровадив спосіб в медичну практику)*

28. Костюк О. Г. Цитологічне дослідження сечі у хворих на поверхневий рак сечового міхура / О. Г. Костюк // XIV університет, наук.-практ. конф. молодих вчених та фахівців: матеріали конф., (Вінниця, 14 трав. 2008 р.). - Вінниця, 2008. - С. 63.

29. Костюк О. Г. Метод лікування і профілактики раку сечового міхура / О. Г. Костюк, М. П. Кавка // Актуальні питання медицини : зб. наук, робіт до 90-річного ювілею Вінниц. обл. лікарні ім. М. І. Пирогова. Вип. 7. - Вінниця, 2007. - С. 271-273. *(Здобувач провів клінічні дослідження, розробив теоретичні викладки методики, впровадив спосіб у медичну практику)*

30. Костюк О. Г. Спосіб профілактики рецидиву поверхневого раку сечового міхура: реєстр № 142/28/08 / О. Г. Костюк, М. П. Кавка // Реєстр галузевих нововведень. Вип. 28-29 / МОЗ України, Укр. центр наук. мед.інформації і патентно-ліцензійної роботи. - К., 2008. - С. 97. *(Здобувач сформулював ідею, провів дослідження, оформив патент)*

31. Костюк О. Г. Метод створення депо лікарської речовини у підслизовій оболонці сечового міхура / О. Г. Костюк // Актуальні проблеми функціональної

морфології та інтегративної антропології; Прикладні аспекти морфології: матеріали наук.-практ. конференцій, (Вінниця, 20-21 трав. 2009 р.) - Вінниця, 2009. - С. 159-160.

32. Костюк О.Г. Реакція тканин сечового міхура на підслизове введення розчину мітоміцину-С / О. Г. Костюк // Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології : матеріали наук.-практ. конф., (Тернопіль, 10-11 черв. 2009 р.) - Тернопіль, 2009. - С. 96-97.

33. Костюк О.Г. Підвищення ефективності протипухлинних хіміопрепаратів / О. Г. Костюк // Анатоми-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології : матеріали 2-го нац. симп., (Чернівці, 21 трав. 2010 р.) - Чернівці, 2010. - С. 131.

34. Думанський Ю.В. Спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура: реєстр № 164/32/10 / Ю.В. Думанський, О. Г. Костюк, М. П. Кавка // Реєстр галузевих нововведень. Вип. 32-33 / МОЗ України, Укр. центр наук. мед.інформації і патентно-ліцензійної роботи. - К., 2010. - С. 95. *(Здобувач сформулював ідею, провів дослідження, оформив патент)*

АНОТАЦІЯ

Костюк О.Г. Морфологічне обґрунтування нових способів лікування поверхневого раку сечового міхура (експериментально-клінічне дослідження) – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальностями 14.03.01 – нормальна анатомія та 14.01.07 – онкологія. - Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України, Вінниця, 2012.

У експериментальній частині дисертаційної роботи встановлена виражена реакція тканин на внутрішньоміхурове введення 0,1 % розчину хіміопрепаратів. Представлені нові дані відносно можливості підслизового введення хіміопрепаратів та визначена реакція тканин сечового міхура на підслизове введення 0,1 %, 0,05 %, 0,025 % та 0,0125 % розчинів доксорубіцину та мітоміцину-С. Встановлено, що найбільш безпечним для підслизового введення був хіміопрепарат у концентрації 0,0125%. Дана концентрація хіміопрепаратів при підслизовому введенні була застосована для лікування поверхневого раку сечового міхура у тварин. Вперше проведене нами видалення слизової оболонки сечового міхура у інтактних тварин не призвело до летальних наслідків. Застосування видалення слизової оболонки як лікувального заходу, у 8 тварин з поверхневим раком сечового міхура, сприяло виживанню більшості тварин (62,0 %).

Клінічна частина роботи представлена трьома групами хворих. Першу групу склали 78 хворих у яких вперше був встановлений поверхневий рак сечового міхура і які лікувались за загальноприйнятою у клініці методикою. Друга група – 53 хворих з вперше встановленим поверхневим раком сечового міхура, лікувались новим способом направленим на збереження сталої концентрації хіміопрепаратів у порожнині сечового міхура. У 18 хворих третьої групи з вадами розвитку сечового міхура був застосований новий спосіб лікування, який дав можливість зберегти сталу концентрацію хіміопрепарату у порожнині сечового міхура.

Ключові слова: сечовий міхур, морфологія, поверхневий рак сечового міхура, лікування.

АННОТАЦІЯ

Костюк А.Г. Морфологическое обоснование новых способов лечения поверхностного рака мочевого пузыря (экспериментально-клиническое исследование). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.03.01 – нормальная анатомия и 14.01.07 - онкология. - Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Украины, Винница, 2012.

В диссертационной работе представлены результаты экспериментальных и клинических исследований. В экспериментальной части представлены новые данные относительно возможности подслизистого введения и определения реакции тканей мочевого пузыря на подслизистое введение 0,1 %, 0,05 %, 0,025 % и 0,0125 % растворов доксорубина и митомицина-С. В динамике изучения реакции тканей мочевого пузыря на каждую концентрацию препаратов было определено, что наименьшая воспалительная реакция тканей мочевого пузыря наблюдается при концентрации растворов доксорубина и митомицина-С 0,0125%, которая через 1, 2, и 3 часа, постепенно уменьшается. В меньшей степени реакция тканей наблюдалась на введение раствора митомицина-С начиная с 7 суток, постепенно уменьшаясь на 14 и 30 сутки. Данная концентрация химиопрепаратов была применена для лечения поверхностного рака мочевого пузыря у животных. Двое животных без лечения (после отмены кормления β-нафтиламином) погибли. Остальные животные (13) были выведены из опыта через 1 и 2 года. Полученные результаты показали возможность создания депо химиопрепаратов в подслизистой основе мочевого пузыря при лечении поверхностного рака мочевого пузыря. Введение внутривезикулярно 0,1 % раствора химиопрепаратов показали наличие выраженной воспалительной реакции в тканях в первые 3 часа, которая сохранялась на 7 сутки и в меньшей степени на 14 сутки. Полученные результаты показали, что развитие воспалительной реакции в тканях мочевого пузыря не дает возможности раннего повторного применения химиопрепаратов. Проведенное удаление слизистой оболочки мочевого пузыря у интактных животных не привело к летальным исходам. Восстановление слизистой оболочки у них наблюдали в течение 1-3 месяцев после ее удаления. Применение у восьми животных с поверхностным раком мочевого пузыря удаления слизистой оболочки, как лечебного мероприятия, позволило выжить большинству животных (62,0 %) без рецидива болезни и полным восстановлением слизистой оболочки и подслизистой основы мочевого пузыря. Небольшие склеротические изменения наблюдались в подслизистой основе и в меньшей степени в мышечной оболочке мочевого пузыря.

Клиническая часть работы представлена тремя группами больных. Первую группу составили 78 больных, у которых впервые был выявлен поверхностный рак мочевого пузыря и лечились они по общепринятой комбинированной методике (трансуретральная резекция мочевого пузыря с последующей внутривезикулярной

химиотерапией) в урологическом отделении областного онкодиспансера. Вторая группа состояла из 53 больных, у которых также был впервые выявлен поверхностный рак мочевого пузыря. Пациенты данной группы лечились новым способом, направленным на сохранение постоянной концентрации химиопрепаратов в полости мочевого пузыря на протяжении одного часа, с возможностью, при необходимости, увеличить экспозицию препарата до двух и более часов. Ранние рецидивы были обнаружены у 17 пациента первой группы (21,7 %) против трех больных второй группы (5,6 %) ($p < 0,01$). Применение данного способа лечения дало возможность одинаково действовать лечебному препарату на всю слизистую оболочку с постоянной концентрацией. Он также дал возможность исключить задержку выделения мочи непосредственно самым больным, которая в ряде случаев приводит к прерыванию процедуры. У 18 больных третьей группы с пороками развития мочевого пузыря с диагнозом «Поверхностный рак мочевого пузыря», был применен новый способ лечения, который дал возможность сохранять постоянную концентрацию химиопрепарата в полости мочевого пузыря в течение одного часа. Он дал возможность избежать рецидив в раннем послеоперационном периоде до одного года.

Ключевые слова: мочевой пузырь, морфология, поверхностный рак мочевого пузыря, лечение.

ANNOTATION

Kostyuk O.G. Morphological study of new methods of treatment of superficial bladder cancer (experimental clinical research). – As Manuscript.

Thesis for the Degree of Doctor of Medicine in the specialties 14.03.01 - normal anatomy and 14.01.07 - Oncology. - Vinnitsa National Medical University, MI Pirogov Ministry of Health of Ukraine, Vinnitsa, 2012.

In the experimental part of the thesis set of expressed tissue reaction to intravesical injection of 0.1% solution of chemotherapy medicine. Presented new data regarding possible submucosal administration chemotherapy medicine and determined response of tissues to the bladder submucosa of 0.1%, 0.05%, 0.025% and 0.0125% solutions of doxorubicin and mitomycin-C. Determined that the safest for submucosal administration had chemotherapy medicine in the concentration of 0.0125%. This concentration of chemotherapy medicine in the submucosal administration was used for the treatment of superficial bladder cancer in animals. For the first time we remove the bladder mucosa in intact animals did not result in lethal consequences. Application of removing the mucosa as therapeutic measure in 8 animals with superficial bladder cancer, contributed to the survival of most animals (62.0%).

The clinical part of the work represented by three groups of patients. The first group consisted of 78 patients which was first established superficial bladder cancer and who were treated by conventional methods in the clinic. The second group - 53 patients with first set superficial bladder cancer, treated with a new method aimed at preserving a constant concentration of chemotherapy in bladder lumen. In 18 patients of the third group of malformations of the urinary bladder was used a new method of treatment that made it possible to maintain a constant concentration of chemotherapy in bladder lumen.

Key words: urinary bladder, morphology, superficial bladder cancer, treatment.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

ВОКОД	– Вінницький обласний клінічний онкологічний диспансер
СМ	– сечовий міхур
РСМ	– рак сечового міхура
ПРСМ	– поверхневий рак сечового міхура
АлТ	– аланінамінотрансфераза
АсТ	– аспартатамінотрансфераза
ТУР	– трансуретральна резекція
ГЛІ	– гістіолімфоцитарна інфільтрація
МЦР	– мікроциркуляторне русло
АІ	– абсолютна імовірність
РАІ	– різниця абсолютної імовірності
ВІ	– відносна імовірність
СПВІ	– ступінь підвищення відносної імовірності
ВШ	– відношення шансів

Підписано до друку 5.11.2012 р. Замовл. №.
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 1,0 Друк офсетний.
Тираж 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І.Пирогова, Пирогова, 56.

