

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД  
«ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»

*На правах рукопису*

**ТОКАРУК НАДІЯ СТЕПАНІВНА**

УДК: 591.462+616.379-008+576.31+616-092.9

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СЕЧОВОГО МІХУРА  
ЩУРІВ У НОРМІ ТА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ  
ДІАБЕТІ**

14.03.01 – нормальна анатомія

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Науковий керівник

доктор медичних наук, професор  
Жураківська Оксана Ярославівна

Івано-Франківськ – 2016

## ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
<b>РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ СЕЧОВОГО МІХУРА В НОРМІ ТА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....</b>	<b>12</b>
1.1. Структурна організація сечового міхура в нормі .....	12
1.2. Особливості перебудови структурних компонентів стінки сечового міхура на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету.....	23
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>	<b>33</b>
2.1. Загальна характеристика дослідження .....	33
2.2. Моделювання стрептозотоцинового діабету в експериментальних щурів .....	34
2.3. Методи гістологічного та електронномікроскопічного досліджень .....	34
2.4. Методи біохімічних досліджень .....	36
2.5. Визначення водного балансу, маси тіла щура і маси сечового міхура.....	37
2.6. Методи морфометричного аналізу.....	37
2.7. Методи статистичного опрацювання отриманих даних.....	42
<b>РОЗДІЛ 3. БУДОВА СЕЧОВОГО МІХУРА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ-САМЦІВ У НОРМІ.....</b>	<b>46</b>
3.1. Характеристика уротеліоцитів переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі .....	49
3.2. Характеристика гладких міоцитів і колагенових волокон за результатами методу кольорової сегментації та електронно-мікроскопічного дослідження .....	68
3.3. Морфологічні, морфометричні та ультраструктурні	



## СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- БМ – базальна мембрана (основна перетинка)
- ГЕС – гладка ендоплазматична сітка
- ГМЦР – гемомікроциркуляторне русло
- ГрЕС – гранулярна ендоплазматична сітка
- ДЦ – діабетична цистопатія
- ЕЦД – експериментальні цукрові діабети, з яких одні індуковані алоксаном, а інші – стрептозотоцином
- КГ – комплекс Гольджі
- КЛ – кластери клітин уротелію
- ПЕ – перехідний епітелій
- Площа – площа профільного поля уротеліоцитів та їхніх ядер
- СД – стрептозотоциновий діабет
- СМ – сечовий міхур
- ЦД – цукровий діабет (у людини)
- ЯЦВ – ядерно-цитоплазматичне відношення
- $C_v$ . – коефіцієнт варіації
- НbA<sub>1C</sub> – глікозильований гемоглобін
- Mean±SD – середнє значення показника±стандартне відхилення

## ВСТУП

**Актуальність роботи.** Розповсюдженість цукрового діабету (ЦД) має пандемічний характер [11, 27, 53, 112, 149, 192]. За даними Міжнародної організації діабету [165], загальна кількість хворих на ЦД в усьому світі в 2040 році сягне 642 млн осіб, а захворюваність на цю недугу збільшується кожних 10 років на 50 % [181]. В Україні кількість хворих на ЦД щорічно збільшується на 5–7 % і продовжує неухильно зростати.

Діабетична цистопатія (ДЦ) є одним із специфічних ускладнень ЦД, яке спостерігається в 39–87 % його випадків [120, 151] і значно знижує якість життя хворих як із соціальної, так і економічної точки зору та ускладнює перебіг самого ЦД, що вказує на соціальну значимість подальших досліджень із цієї наукової тематики [67, 135, 154].

Із структурних компонентів стінки сечового міхура (СМ) людини і дослідних тварин найменш вивченим залишається уротелій як у нормі, так і за умови ДЦ [118, 160]. Морфометричні дослідження уротелію обмежуються тільки визначенням його товщини і рідше площі [25, 148], тоді як метричні ознаки його клітин вивчаються мало. Не використовується, як метод пізнання, кластерний аналіз клітинного складу уротелію, який може привести до нових результатів, як це показали окремі морфологічні дослідження [105, 167].

ДЦ пов'язують, у першу чергу, із дисфункцією м'яза-випорожнювача СМ, яка призводить до зміни його скоротливої здатності, але результати досліджень неоднозначні [128, 150, 180]. Зміни сечовидільної здатності СМ відбуваються в супроводі зі структурною перебудовою його м'язової оболонки, однак відомості щодо цього питання суперечливі [136, 174, 190].

Клінічно доведено зв'язок уродинамічних порушень при ЦД із мікросудинними ускладненнями [53, 102, 120]. Однак ці результати не підтвердженні морфологічними змінами судин та їхніми метричними характеристиками.

Роботи, в яких результати морфологічних і морфометричних досліджень структурних компонентів СМ узгоджені на тлі розвитку стрептозотоцинового діабету (СД) із біохімічними показниками сечі, яка є агресивною до уротелію, нечисленні [67, 154].

Тому дослідження перебудови уротеліоцитів, гладких міоцитів, колагенових волокон, гемосудин стінки СМ у ході розвитку ДЦ вимагає комплексного дослідження з використанням морфологічних, морфометричних, біохімічних методів та методів багатовимірної статистики.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини, оперативної хіургії та топографічної анатомії ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет” “Оптимізація комплексного лікування морфологічних ушкоджень травної, ендокринної та сечостатевої систем при цукровому діабеті” (№ держреєстрації 0113U000769), яка фінансувалася МОЗ України. Здобувач є виконавцем фрагменту роботи.

**Мета дослідження.** Встановити особливості морфофункциональної організації сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті.

#### **Завдання дослідження:**

1. Вивчити будову структурних компонентів стінки сечового міхура щурів у нормі, визначити відношення їхніх площ, морфометричні ознаки мікрогемосудин, провести кластерний аналіз клітин уротелію і встановити їхні гістометричні та електронномікроскопічні характеристики.
2. Визначити рівень глюкози в крові та сечі, вміст гліказильованого гемоглобіну, об’єм спожитої рідини і добового діурезу, pH сечі, масу тіла щурів і їхніх сечових міхурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті.
3. Дослідити світлооптичну, морфометричну і ультраструктурну перебудову клітин уротелію та їхніх кластерних структур на етапах перебігу експериментального цукрового діабету.

4. З'ясувати особливості електронномікроскопічних і метричних змін у будові гладких міоцитів і колагенових волокон сечового міхура в різні періоди розвитку експериментальному цукровому діабету.

5. Простежити хронологічні особливості змін мікрогемосудин у ході розвитку діабетичної мікроангіопатії в стінці сечового міхура.

6. Дати комплексну оцінку морфофункціонального стану сечового міхура на етапах перебігу експериментального цукрового діабету за результатами морфологічного, морфометричного і кластерного аналізів, методу кольорової сегментації, біохімічного дослідження крові та сечі, вивчення водного балансу.

*Об'єкт дослідження – особливості морфофункціональних змін структур стінки СМ щурів-самців при експериментальному ЦД.*

*Предмет дослідження – світлооптична та ультрамікроскопічна будова структурних компонентів стінки СМ, їхня морфометрична характеристика в нормі та при експериментальному ЦД.*

*Методи дослідження:* експериментальний метод – моделювання СД, гістологічні, електронномікроскопічний, біохімічні, масометричні, вимірювання спожитої води і добового діурезу, морфометричні, метод кольорової сегментації, кластерний аналіз, статистичний.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше дана комплексна оцінка морфофункціонального стану СМ щурів у нормі та на етапах перебігу СД за результатами морфологічного дослідження, морфометричного і кластерного аналізів, методу кольорової сегментації, біохімічного дослідження крові та сечі, вивчення водного балансу, що дозволило отримати нові наукові результати і доповнити існуючі, які підтверджуються значеннями відповідних показників.

Уперше дана метрична характеристика клітинного складу уротелію СМ щурів у нормі і статистично доведено, що уротеліоцити різних шарів перехідного епітелію (ПЕ) морфометрично різняться між собою за площами профільних полів клітин та їхніх ядер, а також виявлена значна неоднорідність

клітин проміжного шару ПЕ, що підтверджується високим коефіцієнтом варіації їхнього ядерно-цитоплазматичного відношення (ЯЦВ) (37,9 %).

Новим є застосування кластерного аналізу і встановлення в клітинному складі уротелю СМ щурів чотирьох кластерів, які різняться за ЯЦВ, гістометричними та ультраструктурними характеристиками, а також за частками клітин, що формують кожний кластер (КЛ): КЛ 1 (10,96 %), КЛ 2 (39,47 %), КЛ 3 (34,22 %), КЛ 4 (15,35 %).

Пріоритетними є отримані дані про наявність структурно-функціональної рівноваги між частками клітин КЛ 1 і 4, що відображають узгодженість між проліферативними потенціями базальних уротеліоцитів і цілісністю уротеліального клітинного бар'єра, та частками клітин КЛ 2 і 3, що вказують на баланс між початковим та кінцевим етапами диференціації проміжних клітин уротелю СМ.

Уперше в експерименті методом кластерного аналізу клітин уротелю СМ при СД встановлено порушення структурно-функціональної рівноваги між КЛ 1 і 4 та КЛ 2 і 3 зі збільшенням частки клітин КЛ 1 (в 1,90–2,53 раза) і зменшенням часток клітин КЛ 3 (у 1,41–1,83 раза) і КЛ 4 (у 2,25–2,09 раза).

Уточнено і доповнено дані про часові особливості патологічних змін, які супроводжують розвиток діабетичної мікроангіопатії СМ щурів: до 28-ї доби досліду розширення артеріол (в 1,19 раза), сладжі у венулах, інтерстиційні набряки; на 42-у – спазм артеріол і сладжі в капілярах, зменшення набряків, після 42-ї доби – наростання дистрофічних змін ендотеліоцитів, плазматичне просякання периваскулярної сполучної тканини і потовщенням базальної мембрани капілярів до 70-ї доби в 3,22 раза.

За результатами методу кольорової сегментації оцінено дані щодо розвитку діабетичної цистопатії, індукованої стрептозотоцином, які свідчать про те, що цистопатія до 70-ї доби експерименту залишається компенсованою (більший за контроль в 1,16 раза відсоток площі гладких міоцитів і менший від контролю в 1,23 раза відсоток площі колагенових волокон).

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблені та впроваджені в практику алгоритми оригінального способу визначення радіуса просвіту мікрогемосудин і товщини їхніх стінок, які суттєво підвищують точність результатів і усувають суб'єктивний фактор морфометричного аналізу мікросудин, що забезпечується багаторазовим автоматичним вимірюванням відстані від геометричного центра їхнього просвіту до кожного пікселя внутрішнього і зовнішнього периметра (Патент України № 102664 від 10.11.2015, Бюл. № 21).

Розроблена з використанням алгоритмів визначення радіуса просвіту і товщини стінок мікрогемосудин і впроваджена в наукові дослідження півавтоматизована комп'ютерна програма «VesselsMorpho Tools for ImageJ», суть якої полягає в тому, що користувач виділяє тільки внутрішній і зовнішній периметри гемосудини і в автоматичному режимі визначаються 7 їхніх метричних параметрів (Свідоцтво про реєстрацію авторського права № 59192 від 07.04. 2015).

Розроблений і концептуально обґрунтований спосіб автоматизованого визначення площ уротелію, колагенових волокон і гладких міоцитів на гістологічних зразках СМ, забарвлених трихромовим методом за Массоном, обумовлює принципово нові можливості проведення морфометричного аналізу стінки СМ, а саме: дозволяє визначати відносні площі вказаних структур в автоматичному режимі, що цілком усуває суб'єктивний фактор; площі структур СМ визначаються без урахування площі, яку займає основна речовина міжклітинного простору, об'єм якої міняється при гіпер- чи дегідратації та зміні об'єму при наповненні органу (Патент України № 97270 від 10.03.2015, Бюл. № 5).

Запропонована конструкція метаболічної камери «Метаболічна камера для збору сечі дрібних тварин» відрізняється від аналогів конструктивними змінами всіх деталей, що забезпечує низьку собівартість та суттєво вищі експлуатаційні характеристики за рахунок вищої сечопропускної та сечозбиральної здатностей і значно нижчим випаровуванням сечі, що дозволяє зібрати таку кількість сечі,

яка більш повно відповідає істинному діурезу тварин (Патент України № 97771 від 10.04.2015, Бюл. № 7).

**Впровадження результатів дослідження.** Основні результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес та наукову роботу на кафедрах анатомії людини імені М. Г. Туркевича; анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії; гістології, цитології та ембріології; медичної біології та генетики; патологічної анатомії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»; анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії; гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету; патоморфології та судової медицини; патофізіології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; анатомії людини ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є завершеним самостійним науковим дослідженням здобувача. Вибір теми дослідження та основних його напрямків здійснено разом із науковим керівником. Патентно-інформаційний пошук, аналітичний огляд наукових джерел, виконання експерименту та забір матеріалу проведений здобувачем самостійно. Автор особисто виконала морфометричний аналіз, здійснила статистичну обробку і інтерпретацію отриманих результатів, їхній аналіз, написала всі розділи дисертації. Висновки дисертаційного дослідження належать здобувачеві. У роботах, опублікованих у співавторстві, здобувачеві належить фрагмент, що стосується теми дисертаційного дослідження.

**Апробація результатів дисертації.** Основні наукові положення дисертаційного дослідження оприлюднені на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти ангіології» (Тернопіль, 2013); Научная конференция «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2014); XIX міжнародному медичному конгресі студентів

та молодих вчених (Тернопіль, 2015); II Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих вчених (Чернівці, 2015); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фундаментальні науки – практичній медицині: морфофункциональні методи дослідження онтогенетичних перетворень, фізіологічних та метаболічних процесів, змодельованих патологічних станів, при захворюваннях внутрішніх органів» (Івано-Франківськ, 2015); VI Конгресі анатомів, ембріологів та топографоанатомів України (Запоріжжя, 2015).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових праць, з яких 5 статей – у фахових наукових виданнях України, 1 стаття – у закордонному виданні (Польща), яке включено в наукометричну базу “Index Copernicus International”, 5 тез – у матеріалах наукових конференцій, 3 патенти України на корисну модель, 2 свідоцтва про реєстрацію авторського права на твір.

## РОЗДІЛ 1

# ОСОБЛИВОСТІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ СЕЧОВОГО МІХУРА В НОРМІ ТА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### **1.1. Структурна організація сечового міхура в нормі**

Сечовий міхур (СМ) – непарний порожнистий орган, функція якого полягає в накопиченні і збільшенні концентрації сечі та її виведенні. СМ щура має грушоподібну форму з розширенім сліпим краніальним кінцем – верхівкою [64]. Тіло каудально видовжене і переходить у вузьку шийку. У самців СМ вентрально і з боків оточують простата і сім'яні пухирці. Стінка СМ побудована з трьох оболонок: внутрішньої – слизової, середньої – м'язової і зовнішньої – серозної. Слизова оболонка складається з уротелю і власної пластинки слизової оболонки. Між слизовою та м'язовою оболонками знаходиться підслизний прошарок.

В уротелії СМ розрізняють три шари: поверхневий, проміжний та основний (базальний) [22, 116, 118, 166]. Клітини основного шару знаходяться на базальній мембрані, сполучаються з нею за допомогою напівдесмосом і характеризуються малими розмірами, великим овальним ядром, дрібними малопомітними ядерцями [23]. Ці клітини одні автори вважають стовбуровими [153, 160]. Натомість інші – рахують їх за камбіальні клітини, які є наступною ланкою гістогенетичного ряду. Це комітовані клітини, що здатні диференціюватися тільки в одному напрямку, тобто в клітини однієї лінії – уротелій верхівки і тіла СМ [116, 118, 158, 166]. Передбачувані регіональні уротеліальні стовбурові клітини, як вважають M. M. Nguyen et al. [216], знаходяться в ділянці вічок сечоводів і трикутника міхура. На користь даного припущення вказують результати експерименту, в якому здійснили тотальне

хірургічне відшарування слизової оболонки СМ собак [80]. Автори виявили, що активне наповзання уротелію на поверхню регенераційної тканини підслизового прошарку СМ відбувається зі сторони вічок сечоводів та отвору сечівника. Регіональні уротеліальні стовбурові клітини мають диференціючі потенції в межах різних типів уротеліальної тканини, з яких відомі, принаймні, три: уротелій ниркової миски і сечоводів; верхівки і тіла СМ; шийки міхура і проксимальної частини уретри [122]. Встановлено також, що ці клітини швидко проліферують при пошкодженні уротеліального клітинного бар'єру [119, 188]. Ініціювання їхньої проліферації відбувається за участю активації фактору росту фібробластів і фактору росту нервів [118].

Уротеліоцити проміжного шару ПЕ одноядерні, найчастіше грушоподібної форми. Ці клітини диференціюються і переміщуються до поверхневого шару ПЕ та перетворюються в парасолькові клітини [116, 118, 160]. Власне диференціювання і міграцію проміжних уротеліоцитів вважають одним із головних механізмів репаративного відновлення уротеліального пласта [166]. На диференціацію уротеліоцитів впливає ряд факторів, у тому числі: епідермальний фактор росту, тромбоцит-похідний фактор росту, фактор росту фібробластів, гама-рецептор-активатор проліферації пероксисом, ретиноєва кислота [141, 166].

Шар проміжних уротеліоцитів, що розміщені безпосередньо під парасольковими клітинами є особливим типом уротеліоцитів, які здатні швидко розпізнавати руйнування парасолькових клітин і швидко на них перетворюватися [115, 116, 166, 215]. Ці висновки були зроблені за результатами експериментів, в яких внутрішньоміхурово вводили різні речовини, що викликають вибіркове злущення парасолькових клітин, у результаті чого оголювалися клітини проміжного шару [119, 185, 188]. Автори встановили, що вже через годину уроплакін рясно експресується по всій оголеній поверхні проміжних уротеліоцитів. Уротеліоцити швидко проходять функціональні і структурні зміни і через кілька днів – уротелій самовідновлюється. Однак причини, які викликають чи сприяють швидкій

диференціації цих проміжних клітин ПЕ, невідомі [166, 188]. До того ж О. Г. Костюк і співавт. [80] встановили, що після тотального операційного видалення слизової оболонки СМ собак повне відновлення уротелію, який складався тільки з двох рядів клітин, відбулося вже через 12 діб. Результати цього дослідження додатково підтверджують, що існує особливий тип уротеліоцитів, які незалежно від особливостей травматичного фактору, сприяють швидкій репарації ПЕ.

Поверхневий шар ПЕ утворений парасольковими клітинами. Ці клітини великі, поліплоїдні чи двоядерні, грушоподібні, а при наповненні СМ – плоскі. Ці клітини мають специфічні утворення, що розміщуються в їхній люмінальній частині – інвагінації плазмолеми та веретеноподібні (адлюмінальні) пухирці. Останні служать депозитами, які вмонтовуються до плазмолеми при її розтягуванні [23, 166]. Саме парасолькові клітини забезпечують бар'єрну функцію ПЕ.

Для виконання бар'єрної функції люмінальна частина плазмолеми парасолькових клітин має специфічні структури – уротеліальні бляшки, які потовщують її з люмінального боку, утворюючи унікальні асиметричні мембрани одиниці [118, 166]. Між ділянками уротеліальних бляшок плазмолема має звичайну тришарову симетричну будову, утворюючи петлеподібні ділянки, в яких розміщаються рецептори і канали і має у своєму складі унікальний білок – урохідин [166]. Уротеліальні бляшки займають 3/4 площини люмінальної поверхні плазмолеми і утворені скupченнями щільноупакованих шестикутних субодиниць, які номенклатурно називаються уроплакіновими гранулами [22, 118]. Уроплакіни (UP) представляють собою родину специфічних кристалічних білків, які включають у себе UPІ $\beta$ , UPІІ, UPІІІ $\alpha$ , UPІІІ $\beta$ . Уроплакіни забезпечують непроникливість парасолькових клітин для малих молекул, таких як вода, сечовина, креатинін, іони  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$  [116]. Однак трансуротеліальний транспорт води і вказаних речовин та іонів все ж таки відбувається через спеціальні шляхи (канали), які розміщені в уротелії і за рахунок чого в СМ може змінюватися хімічний склад сечі.

Бар'єрна функція уротелію залежить також від неушкодженості сполучних комплексів, які зменшують рух іонів і розчинених речовин у міжклітинному просторі та з'єднують верхівково-бічні поверхні сусідніх парасолькових клітин [116, 118]. Бар'єрну функцію СМ виконують також сульфатовані гліказаміноглікани і глікопротеїни, які утворюють непроникний муциновий шар, що покриває люмінальну поверхню ПЕ, захищаючи його від проникнення мікроорганізмів, токсинів, канцерогенів і збагаченої каліем сечі [75, 118]. Склад ліпідів верхівкової частини плазмолеми парасолькових клітин є незвичайним і багатим на холестерин, фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін і цереброзид. У цілому ліпідний склад такої плазмолеми схожий на мієлін і має велике значення для уротеліальної бар'єрної функції [118, 166].

Порушення жорсткої бар'єрної функції уротелію можуть викликати ряд факторів, таких як: pH сечі, механічна чи хімічна травма, гормональні зміни, бактеріальна інфекція. Порушення функції уротеліального бар'єру і його цілісності пов'язують зі змінами хімічних медіаторів, а саме: оксиду азоту (NO) і АТФ, ультраструктурними перебудовами уротеліоцитів, стресовою активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, спинно-мозковою травмою, антипроліферативним фактором. Останній може інгібувати проліферацію базальних уротеліоцитів, що негативно позначається на бар'єрній функції уротелію [118, 166].

На сьогодні вже доведено, що уротелій є не тільки пасивним бар'єром, але й бере участь у виявленні «вхідних» фізичних і хімічних подразників, які надходять із різних джерел [116, 118, 166]. Ці вхідні сигнали включають в себе: сигнали від розтягування стінки СМ при його наповненні; різні розчинні фактори сечі; хімічні медіатори/пептиди/трансмітери, які виділяються з нервів, клітин у стані запалення і кровоносних судин. Для розпізнавання аферентних сигналів в уротеліальних клітинах наявні численні рецептори/іонні канали («сенсорні молекули»), що включають: рецептори до норадреналіну, ацетилхоліну, пуринів, аденоzinу; рецептори активатори протеаз; амілорид- і

механочутливі епітеліальні натрієві канали; аквапоринові водні канали; канали для транспорту сечовини і креатиніну, канали для нейротрофінів, брадикініну, естрогенів, ендотелінів; різні канали транзиторних рецепторних потенціалів (TRP channels) [118, 143, 147, 163].

Результати досліджень останнього десятиріччя доводять, що уротеліальні клітини здатні після фізичної та хімічної стимуляції виділяти ряд речовин: АТФ, NO, субстанцію Р, ацетилхолін, аденоzin, антипроліферативний фактор, фактор росту нервів, цитокіни, простаноїди і різні трофічні фактори [111, 118, 160, 166]. Ці хімічні медіатори дозволяють утворювати функціональні зв'язки з сусідніми уротеліоцитами і змінювати активність глибше розташованих гладких м'язів, сенсорних і холінергічних нейронів [118].

Коли уротеліальний клітинний бар'єр пошкоджений, вода, сечовина і токсичні речовини можуть переміщатися в більш глибокі шари уротелію і через його БМ аж до м'язової оболонки і нервів, що спричиняє біль під час наповнення СМ і сечовипускання [116, 118, 166]. В уротелії транспорт води і розчинених речовин здійснюється, в основному, за градієнтом концентрації [166], але швидкість транспорту може бути змінена за участі відповідних переносників (транспортерів). Переносниками води в тканинах людини є родина аквапоринів, з яких в уротелії щурів виявлені аквапорини-4 і -7 і також аквапорини-2 і -3 [144]. Перші два – це апікальні аквапорини, які всмоктують воду через пори верхівкової частини плазмолеми парасолькових клітин. Вихід води з цих клітин відбувається через пори, які утворюються базолатеральними аквапоринами-2 і -3. Далі аквапорини-2 і -3 проміжних і базальних уротеліоцитів доправляють воду до підуротеліального гемомікроциркуляторного русла, звідки вода всмоктується у венозну частину русла [166]. Активність аквапоринів зростає на 50–200 %, коли уротеліоцити втрачають воду при збільшенні гіпертонічності сечі [144, 166], тобто аквапорини намагаються утримати воду в клітинах. При гіпотонічній сечі, коли уротеліоцити набухають у результаті надходження молекул води до клітин за градієнтом концентрації [116, 166, 199], активність аквапоринів знижується.

[144]. До регуляції транспорту води в уротелії мають відношення також переносники сечовини, особливо UT-B, який регулює концентрацію сечі, модулюючи при цьому об'єм уротеліоцитів [144, 199].

М'яз-детрузор як у людини, так і в щура, побудований із трьох шарів гладких міоцитів, які розрізняються тяжко – зовнішнього та внутрішнього поздовжніх і, розташованого між ними, колового шару [23, 64]. Товщина цих шарів є різною в різних ділянках, однак коловий шар є найбільш розвиненим [23].

При електронномікрокопічному дослідженні гладкі міоцити м'яза-детрузора на поперечному перерізі мають круглу або овальну форму і рівні краї. Вони утворюють м'язові пучки, що відокремлені прошарками сполучної тканини. Еластичну здатність м'яза-детрузора, тобто здатність його до розтягнення та скорочення, визначає присутність колагену – білка, який входить до складу колагенових волокон. Вміст його в м'язовій оболонці СМ становить 48–52 % від загальної кількості протеїну, але різні патологічні процеси можуть привести до склерозування м'язової тканини і зменшення в ній колагену, при тім вміст сполучної тканини – збільшується [16].

У ряді робіт наголошується, що для гладких міоцитів різних внутрішніх органів притаманний поліморфізм, який проявляється по-різному [6, 34, 35, 36, 37, 43]. Так, за результатами дослідження вказаних авторів, у м'язовій оболонці сечовивідних шляхів були виділені три групи гладких міоцитів – малі, середні та великі, які різняться не тільки за розмірами, але й за функцією. Для малих гладких міоцитів характерними є поліплоїдія, високий вміст білка в цитоплазмі і велике ядерно-цитоплазматичне відношення. Великі міоцити характеризуються низьким вмістом білка і малим ЯЦВ і належать до термінальної ланки лейоміоцитів. Вони характеризуються низьким рівнем адаптації до факторів і в подальшому піддаються елімінації. Міоцити середніх розмірів представляють собою зрілу і найбільш функціонально активну субпопуляцію.

А. Л. Зашихіним і Я. Селіним [34] було встановлено, що дефінітивна гладка м'язова тканина різних органів, у тому числі сечовивідних шляхів, має гладкі міоцити з різними структурно-функціональними ознаками і різним рівнем диференціації. Ультраструктурний аналіз показав, що поряд зі звичайними скоротливими міоцитами, виявляються інтерстиціальні клітини, які подібні до клітин Кахаля, що наявні в гладкій мускулатурі кишki. Наявність у СМ численних щілинних сполучень між цими клітинами, а також між ними і скоротливими міоцитами та нервовими закінченнями дало авторам [137] підставу стверджувати, що саме через ці клітини здійснюється вегетативна регуляція гладкої м'язової тканини. На думку інших дослідників [62, 81], гладкі міоцити СМ належать до так званих «фазових» м'язових клітин, які електромеханічно з'єднані між собою через щілинні сполучення і функціонують як єдиний синцитій.

Ряд авторів серед вісцеральних гладких міоцитів виділяють «світлі» і «темні». Одні з авторів вважають, що обидва типи цих міоцитів є зрілими формами, які знаходяться на різних фазах функціональної активності [37], а інші їх розглядають як детерміновані форми, які виникають у процесі розвитку, що супроводжується редукцією органел біосинтезу і нарощанням елементів скорочувального апарату [89]. Інші дослідники [62, 81] виявили у «світлих» гладких міоцитах гіперактивного СМ людини виражений лізис міофіламентів, що свідчить про їхню регенераторну недостатність. Водночас, в інших «світлих» міоцитах спостерігалися скучення рибосом, що вказувало на активацію процесів внутрішньоклітинної регенерації. У «темних» міоцитах визначалася компактна упаковка міофіламентів, поодинокі мітохондрії, непомітність інших органел, наявність вакуоль і «спустошених» ділянок цитоплазми, структурні зміни ядра. Автори вважають, що «темні» гладкі міоцити і «світлі» із вираженим лізисом міофіламентів у подальшому підлягають елімінації.

СМ постійно перебуває в стані функціональної напруги в результаті наповнення сечею і спорожнення, що пов'язують зі збудливістю та

скоротливістю м'яза-детрузора. Було встановлено, що перистальтика СМ здійснюється в три фази: 1) імпульсивне наповнення при скороченні зовнішніх і внутрішніх поздовжніх м'язових волокон та розслабленні колових; 2) випорожнення органа при скороченні колового шару гладких м'язів і розслабленні поздовжніх; 3) пасивне наповнення за рахунок тонусу стінки СМ при розслабленні всіх м'язових пучків [24]. Ці ж автори вважають, що дискінезії СМ власне обумовлені зміною будови їхньої м'язової оболонки.

Спорожнення СМ є результатом парасимпатичної активації мускаринових рецепторів гладких міоцитів детрузора. Тим не менше, утримування сечі і нормальне сечовипускання включає в себе складну взаємодію холінергічних, адренергічних, пептидергічних систем [196]. Холінергічний компонент контролю СМ включає 2 системи: ацетилхолін, що вивільняється з парасимпатичних нервів і ацетилхолін, який виділяється в межах уротелію [118, 166]. Дія ацетилхоліну на СМ здійснюється через мускаринові рецептори –  $M_3$  і  $M_2$ , що розташовані в м'язі-детрузорі. Рецептор  $M_3$  спричиняє скорочення гладких м'язових волокон за звичайних умов, а  $M_2$  – бере участь у скороченні за умови патології, коли  $M_3$  інактивується, наприклад гіпертрофією м'язової оболонки [194, 196]. Парасимпатична активація мускаринових рецепторів впливає на ряд структурних компонентів стінки СМ: пресинаптичні нервові закінчення, які збільшують або зменшують виділення ацетилхоліну і норадреналіну; чутливі нерви, що відповідають за доцентрову нервову активність; парасолькові клітини уротелію, які стимулюють вивільнення АТФ і NO; підуротеліальні інтерстиційні клітини, які виконують роль індуктора між уротелієм і м'язом-детрузором та нервовими волокнами; інші невідомі локуси уротелію, звідки вивільняються простагландини і гальмівні та посилюючі фактори [118, 160, 194, 196].

Рядом авторів [5, 36, 148] у дослідах на щурах було встановлено, що універсальним пусковим механізмом активації скорочення гладких м'язів є зміна концентрації внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$  у результаті його транспорту через потенціал-залежні  $Ca^{2+}$ -канали. Інші дослідники, також в експериментах

на щурах [186], виявили, що  $K^+$ -канали є ключовими в регуляції тонусу гладких м'язів СМ і відіграють певну роль у зміні фазової активності м'яза-детрузора.

Із м'язом-детрузором пов'язують сечовидільну функцію СМ. При цьому багато авторів схиляються до думки, що зміна сечовидільної функції СМ супроводжується структурною перебудовою його гладких міоцитів у вигляді гіпо- чи гіпертрофії [160, 172, 174]. Водночас колагенові волокна, які є однією з основних складових позаклітинного матриксу СМ, значно впливають на біомеханічні властивості його стінки і при їхній перебудові – змінюється здатність стінки СМ до розтягнення [129, 172]. На сьогодні встановлено також, що між уротеліальними клітинами і гладкими міоцитами є структурний та функціональний зв'язок [118, 128, 150]. Ураховуючи сказане, для об'єктивного порівняння контрольних даних із результатами експерименту доцільно використовувати числові показники кожної з трьох основних складових стінки СМ.

Для реалізації щойно сказаного часто використовують товщину різних оболонок стінки СМ [25, 148], але цей показник можна застосувати тільки для визначення загальної товщини стінки СМ і товщини уротелію, оскільки тільки вони мають чіткі межі. Більш об'єктивним є визначення площ складових стінки СМ. Однак спосіб визначення площин, яка «вручну» чи напівавтоматично обводиться межовою лінією [16, 203], можливий тільки для визначення площин уротелію, який є епітеліальною тканиною і практично не містить міжклітинної речовини. Отримані в такий спосіб значення площин колагенових волокон і гладких міоцитів викликають значні сумніви, оскільки їхня площа вираховується, у даному випадку, разом з основною речовиною позаклітинного матриксу, вміст якої значно змінюється при набряку чи зневодненні цих структур.

Вищевказані недоліки відсутні при визначенні площин структурних складових стінки СМ на цифрових зображеннях гістологічних зрізів, забарвлених трихромовим методом за Массоном, із подальшим використанням кольорової сегментації. Дане забарвлення дає можливість візуалізувати в

червоному і синьому кольорах відповідно гладкі міоцити і колагенові волокна. При цьому, основна речовина позаклітинного матриксу не забарвлюється. Слід відмітити, що забарвлення гістологічних зразків за Массоном використовують багато дослідників [168, 172, 174, 204, 217], але кольорову сегментацію – тільки окремі з них [172, 204]. Однак комп’ютерні програми для морфометрії, які дозволяють виконувати кольорову сегментацію, мають суттєвий недолік – користувач задає межі значень кольорів для кожного компонента зображення «вручну», що вносить значну суб’єктивність щодо отриманих даних.

Найбільша кількість досліджень внутрішньоорганних судин СМ припадає на 70–90-і роки минулого століття. На той час вивчення ангіоархітектоніки СМ і проведення морфометрії судин здійснювали з використанням внутрішньосудинних наливок різними хімічними сумішами. Проте усім способам з наливки судин притаманий значний суб’єктивний фактор, що пов’язаний із виконанням самої методики. Морфометрію судин проводили за допомогою окуляр-мікрометра і окулярних мікрометрических лінійок та сіток, які також вносили суб’єктивність в отримані результати. Тому результати досліджень цього періоду є різноманітними і часто суперечливими.

Найбільш об’єктивні дані щодо ангіоархітектоніки СМ людини представили A. J. Miodonski et J. A. Litwin [177], які використовували метод судинної корозії в поєднанні зі скануючою електронною мікроскопією. Автори встановили, що в СМ наявні два судинних сплетення (адвентиційно-серозне і слизової оболонки) і дві різні капілярні сітки (м’язової оболонки і підуротеліальна). Від адвентиційно-серозного сплетення відходять судинні гілки, які формували ГМЦР м’язової оболонки, а також прямі чи звивисті судини, що проходять через м’язову оболонку до підслизового прошарку, де формують судинне сплетення слизової оболонки. Від останнього відходять мікросудини до власної пластинки слизової оболонки, в якій формують підуротеліальне ГМЦР. Відмінною рисою майже всіх судин, крім капілярів, є їхня звивистість.

Доказову оцінку судинним ураженням можна дати тільки на основі їхніх об'єктивних морфологічних змін, які підтвердженні морфометричними даними. Однак відомі нам способи морфометрії судин, які доступні для виконання в нашій лабораторії [13, 19, 26, 31, 41, 93, 127], є суб'єктивними, неточними і недостатньо математично обґрунтованими.

Морфометрію СМ проводять не так часто. Будову його структурних компонентів як на світловому, так і на електронномікрокопічному рівнях частіше подають описово. При морфометрії, в основному, визначають діаметр СМ та діаметр його просвіту [203], товщину стінки СМ і, зрідка, товщину його оболонок [148]. Результати морфометричного дослідження переходного епітелію СМ ми виявили в небагатьох роботах [16, 25, 148], автори визначали тільки його товщину і рідше плошу. Морфометричні дослідження м'язадетрузора СМ щура ми знайшли також у небагатьох роботах. Так, J. Lincoln et al. [203] на поперечних гістологічних зрізах стінки СМ визначали товщину і плошу м'язової оболонки. Натомість, Л. М. Непомнящих и соавт. [62] та Лушникова Е. Л. и соавт. [81] оцінювали об'ємну щільність гладких м'язових клітин та їхніх ядер за допомогою тестових сіток, а інші – визначали товщину та плошу м'язової оболонки, а також відсоток площи м'язових волокон до площин сполучнотканинних прошарків між ними і до загальної площині стінки СМ [16].

Немало дослідників визначають масу СМ як у контролі, так і в експерименті [129, 148, 193, 203].

Підсумовуючи вищесказане, можна стверджувати, що на сьогодні є нестача даних щодо структурної організації епітеліальної, сполучної і м'язової тканин стінки СМ у нормі, які були би підтвердженні результатами морфометричних досліджень. Останні можна буде використовувати для об'єктивного порівняння з даними, які отримані за умови розвитку індукованого ЦД.

Зі структурних компонентів стінки СМ щурів найбільш недостатньо вивченим залишається уротелій. Відсутні результати морфометричного

дослідження клітин ПЕ СМ щурів у нормі, не встановлені пріоритетні морфометричні ознаки уротеліоцитів, за якими доцільно проводити порівняння з результатами, отриманими при СД. Не використовується кластерний аналіз клітинного складу ПЕ як метод пізнання, який може привести до отримання нових результатів, як це показує використання його в клінічних [12, 55, 58, 125, 126] та окремих морфологічних [105, 167] дослідженнях.

Ураховуючи, що м'яз-детрузор визначає сечовидільну функцію СМ, а колагенові волокна значно впливають на його здатність до розтягування, а також те, що спосіб визначення їхніх відносних площ є недосконалим, доцільно довершити даний метод, довівши його виконання до автоматичного режиму і визначити за цих умов відносні показники площ уротелію, гладких міоцитів і колагенових волокон стінки СМ щурів у нормі.

Потребують подального дослідження внутрішньоорганні судини СМ щурів у нормі, особливо метричні характеристики судин підуротеліального ГМЦР. Необхідно розробити новий спосіб морфометрії мікрогемосудин, оскільки існуючі способи неточні та суб'єктивні, і за допомогою нього встановити значення морфометричних показників, що будуть використовуватися для порівняння з даними, які отримані при СД.

## **1.2. Особливості перебудови структурних компонентів стінки сечового міхура на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету**

За період з 1990 по 2010 роки загальна кількість хворих на ЦД у світі збільшилася майже втричі [79], а за невтішними прогнозами Міжнародної організації діабету [165], до 2030 року очікується збільшення кількості хворих до 552 млн населення земної кулі, а в 2040 році вона сягне за 642 млн осіб. В Україні поширеність ЦД зросла з 1,8 % у 2009 році до 2,9 % у 2012 році, а кількість хворих наприкінці 2012 року становила більше 1,3 млн осіб [79].

За даними різних авторів, ЦД I типу, до якого належить експериментальний СД [28, 66, 142, 170], займає порівняно невелику частку від загальної кількості хворих на ЦД і складає від 5,9 до 15,0 % [50, 59, 68, 139].

Проте тяжкість перебігу, рання інвалідність хворих і висока летальність характеризують ЦД саме цього типу як найважчу форму [42, 145, 220]. Пандемічний характер розповсюдження ЦД, його агресивність і ранні ускладнення з боку багатьох органів і функціональних систем [15, 112, 140, 165, 181] визначають потребу в комплексному вивченні різних органів і систем при ЦД, зокрема, сечової системи, на що вказують ряд авторів [102, 129, 139, 154, 184, 214].

Серед ушкоджень сечової системи при ЦД виділяють специфічні ушкодження, до яких відносять діабетичну нефропатію і діабетичну цистопатію (ДЦ), яку в клініці називаю ще діабетичною дисфункцією СМ [38, 160]. Діабетична нефропатія, розвиток якої є небезпечним для життя, досліджується всебічно. Натомість ДЦ отримала куди менше уваги, не зважаючи на те, що вона знижує якість життя хворих, ускладнює перебіг самого ЦД і вимагає великих затрат на лікування. Попри значні публікації щодо етіології і патогенезу ДЦ, дане питання до цього часу далеке від вирішення і потребує комплексного підходу, на що вказують багато авторів [67, 120, 135, 139, 151, 154, 176, 182].

ДЦ включає класичну тріаду симптомів: зниження чутливості СМ, збільшення його об'єму і зменшення скоротливої здатності детрузора, що призводить до збільшення залишкової сечі [113, 154, 172, 182]. Натомість, інші автори [120, 160, 213] у хворих на ЦД виявили різні порушення СМ: від гіпо- до гіперактивності, а також його ригідність і, найчастіше, – детрузорно-сфінктерну диссинергію і нетримання сечі аж до імперативних позивів.

На даний час доведено, що ризик розвитку ДЦ залежить від статі і віку хворого та тривалості діабету [159, 210, 214]. При цьому, G. I. Christ et al. [139] констатують, що велике значення мають дослідження експериментальної ДЦ у короткі терміни (до 1 місяця) та довші періоди розвитку СД (4-8 місяців), а ряд авторів [128, 160, 200] наголошують, що СД переходить від компенсованого до декомпенсованого стану в часі від 9 до 12 тижнів після ін'єкції стрептозотоцину. Результати досліджень саме в цих часових проміжках

матимуть найбільше значення для встановлення механізмів, які відповідають за появу і розвиток ДЦ.

Необхідно зауважити, що результати більшості наукових досліджень щодо вивчення ДЦ базуються на клінічних, патофізіологічних, біохімічних, біомеханічних, електроміографічних і сонографічних даних. Однак, морфологічні підтвердження даних результатів відсутні. Слід відмітити, що в доступній нам українсько- і російськомовній медико-біологічній літературі ми не знайшли жодних робіт, в яких би вивчалася морфологія СМ при експериментальному ЦД. Поряд із цим, результати досліджень, які представлені в англомовних джерелах, є неоднозначними і часто суперечливими. Аналіз і порівняння результатів утруднені ще й із тієї причини, що дослідження проводилися в різні терміни розвитку ЦД, у різних лабораторіях, різними дослідниками. Одні з них досліджували СМ на мікро-, а інші – на ультраструктурному рівні. Використовувалися різні тварини (щурі, миші), різного віку та маси, різної статі. Різні підходи були до моделювання ЦД і проведення морфометрії.

Ураховуючи те, що на даний час в Україні та країнах Європи і Північної Америки ЦД не є показанням для проведення біопсій СМ у хворих – єдиним і раціональним напрямом дослідження структурної організації СМ при діабетичній цистопатії є використання експериментальних моделей ЦД, на що вказують ряд авторів [139, 154, 168, 172, 174, 187, 204, 209, 211]. Із великої кількості експериментальних моделей ЦД у наукових дослідженнях найчастіше використовують алоксанову і стрептозотоцинову моделі [28]. Із цих двох стрептозотоцинову модель використовують удвічі частіше [142]. Останнє пов’язано з тим, що алоксан погано дозується, нестійкий у розчині і має значний нейро- і нефротоксичний вплив [66, 170].

Зі структурних компонентів стінки СМ при різних експериментальних патологіях найбільш недослідженим залишається уротелій [116, 118, 160], зокрема, і за умови розвитку ЕЦД. Дуже мало даних щодо нетривалого впливу СД на уротелій СМ [118, 160].

Результати експериментальних досліджень показують, що СД впливає на уротеліальний гомеостаз і є причиною розвитку ДЦ [160]. Виникає десквамація парасолькових клітин, що призводить до порушення бар'єрної функції ПЕ і метаболічне навантаження на уротеліоцити, яке пов'язане з хронічною гіперглікемією [133, 160]. У більш пізні терміни спостерігається десквамація клітин проміжного і базального шару ПЕ. Виявляються: дезорганізованість ультраструктурної будови уротеліоцитів, зруйновані сполучення між сусідніми клітинами, багато розривів верхівкових частин плазмолеми парасолькових клітин, дегенерація клітин, проліферація базальних уротеліоцитів [160]. Відмічається значне посилення активності рецепторів, які пов'язані з механочутливістю уротелію, а також з автокриновим і паракриновим його сигналізуванням [124, 160].

Скелетні м'язи, серцевий м'яз, жирова тканина поглинають глюкозу за допомогою транспортера глюкози GLUT-4, який є інсулін-залежним. Тому при ЦД (нестачі інсуліну) цей транспортер не в змозі ефективно транспортувати глюкозу в ці тканини, у результаті чого виникає гіперглікемія. Натомість, уротеліоцити належать до клітин, які поглинають глюкозу за допомогою транспортера GLUT-1, який є інсулін-незалежним. Тому при хронічній гіперглікемії в цитозолі цих клітин нагромаджується багато гідрофільних молекул глюкози, які спричиняють осмотичний і окиснювальний стрес, які вважаються факторами, що ведуть до їхньої дисфункції чи пошкодження [118, 160, 166].

Розвиток ДЦ найбільше пов'язують із дисфункцією м'яза-випорожнювача міхура, що веде до зміни його сечовидільної здатності. Ми виявили, що результати досліджень щодо цього питання є різними. Так, одні автори при ЦД встановили збільшення скоротливої здатності СМ [139, 204], а інші – зменшення [180], а ще інші [150] указують, що ЦД може як зменшувати, так і збільшувати скоротливість детрузора. Ряд авторів стверджують, що на ранніх етапах розвитку СД (3–9-й тижні) скоротлива здатність СМ зростає, а на більш пізніх (12 і 20 тижні) – зменшується [128, 160, 200]. Вони припускають,

що в щурів і мишей перехід до декомпенсованої стадії дисфункції СМ відбувається на 9–12-й тижні ЕЦД. При цьому спостерігається структурна перебудова гладких міоцитів [198]. Так, гіпертрофію м'яза-детрузора дослідники спостерігали в різні терміни від початку розвитку експериментального цукрового діабету: на 3-й [172], 4-й [136], 5-й [204], 8-й [203] і 3–9-й [190] тижні, а також через 6 місяців [168], а A. A. Rodrigues et al. [174] гіпертрофію детрузора при алоксановому діабеті не спостерігали.

При ЕЦД зміни у фізіології м'яза-детрузора пояснюються різними механізмами, такими як зміною міжклітинних зв'язків і збудливості, щільності і розподілу рецепторів, внутрішньоклітинними сигналами і генетичними змінами [190]. Детрузор показує підвищену реакцію на мускаринові агоністи у хворих на ЦД, що пов'язано з підвищеннем щільності мускаринових рецепторів, або зі збільшенням чутливості гладких м'язів до кальцію [124, 150, 161].

Ряд авторів вказують, що в розвитку ДЦ неабияку роль відіграє апоптоз, рівень якого значно зростає як в уротеліальних клітинах, так і в гладких міоцитах [171, 202].

Колагенові волокна стінки СМ впливають на її біомеханічні властивості [172]. Автори вважають, що саме зменшення відсотка площин колагенових волокон при СД вказує на збільшенну здатності СМ до розтягнення. С. C. Wang et al. [129], досліджуючи біомеханічні властивості смужок СМ, встановили, що СД збільшує підатливість його тканини до розтягування впродовж 4–8 тижнів його розвитку. На зростання пластичності СМ при СД указують також інші автори [217]. Однак є роботи, в яких встановлено, що вміст колагену і відсоток площин фіброзу до загальної площин стінки СМ при ЕЦД не змінюються [174, 203].

Клінічно доведено зв'язок уродинамічних порушень при ЦД із мікросудинними ускладненнями, які об'єднуються в поняття діабетичної мікроангіопатії [52, 102, 108, 120, 190, 201], які відіграють велику роль у структурно-функціональних порушеннях різних органів [87, 92, 132, 146, 157]. При діабетичних ангіопатіях у 80 % випадків розвивається дисфункція

ендотеліальних клітин, яка виявляється на ранніх етапах розвитку ЦД [4, 108, 145, 152, 179, 191]. Вона супроводжується зміною на різних етапах співвідношення вазодилататорів і вазоконстрикторів [17, 109, 145]. Встановлено, що на первинну гіперглікемію ендотелій артерій і артеріол реагує виділенням оксиду азоту, який є одним із найсильніших вазодилататорів [3, 109].

Ряд дослідників на кінець 2-го тижня перебігу СД спостерігали розширення просвіту внутрішньониркових артерій і приносних клубочкових артеріол [121, 219], капілярів підніжньощелепної залози [169], міжчасточкових артерій і синусоїдних капілярів печінки [88], капілярів гіпоталамуса і гіпофіза [32], капілярів періодонта [59, 69]. Натомість, інші автори вказують на звуження в даний термін експерименту просвіту артеріол і капілярів сідничого нерва [56], капілярів судинної оболонки очного яблука [41], артеріол і капілярів яєчка [82], артерій нирки і приносних клубочкових артеріол [77], а Р. Я. Борис [14] не виявив зміни просвіту артеріол і капілярів різних шарів шкіри.

Із нарощанням рівня глюкози в крові і тривалості гіперглікемії ендотеліоцити судин втрачають здатність синтезувати вазодилататори, а співвідношення концентрації вазодилататорів і вазоконстрикторів змінюється на користь останніх [3, 109, 132, 146, 157]. На 28-у і 42-у доби від початку розвитку СД зменшення діаметру просвіту міжчасточкових артерій і приносних клубочкових артеріол нирки спостерігали П. Б. Покотило [77], а артеріол і капілярів різних шарів шкіри – Р. Я. Борис [14]. Натомість інші автори в ці ж терміни виявили розширення просвіту артеріол яєчка [82] і артеріол періодонта [59].

При СД відбувається відкриття артеріо-венозних і артеріоло-венулярних анастомозів, які мають компенсаторне значення, оскільки скидають кров у дренуючі венулярно-венозні судинні системи [54, 106]. Такі судинні анастомози визначалися в яєчку щурів на 42-у добу перебігу СД [82], у різних шарах шкіри – на 28-у [14], а в ендоневрії сідничого нерва – на 14-у [56].

На 56–70-у доби розвитку СД дослідники спостерігали розширення гемосудин шкіри щурів [14] і судинної оболонки очного яблука [39, 41]. Однак інші відмічали звуження судин нирки [77] й артеріол сідничого нерва [56].

Останнім часом у розвитку мікроангіопатій почали приділяти увагу реологічним порушенням, які виражаються агрегацією еритроцитів у вигляді «монетних стовпчиків» та їхньою адгезією впродовж експеременту [10, 40]. Ці патологічні зміни пов’язують із впливом глікозильованого гемоглобіну. Еритроцити, які містять такий гемоглобін, мають змінений поверхневий спотенціал, що спричиняє їхній сладж і аглютинацію [59]. Генералізації процесу сприяє тромбоцитарна агрегація, яка відбувається в парі з агрегацією еритроцитів, і спричиняє виділення тромбоцитами в плазму крові біологічно активних речовин, які сприяють ще більшій агрегації еритроцитів, спазму судин, пошкодженню ендотелію капілярів [10]. Агрегація еритроцитів звужує просвіт судин аж до їхньої обтурації, створює турбулентність і сповільнення течії крові, сприяє збільшенню її в’язкості, набряку і десквамації ендотелію; усе це призводить до циркуляторної гіпоксії і до більшого порушення мікроциркуляції крові [10, 18]. Є результати клінічних досліджень, які підтверджують експериментальні дані. Так, у пацієнтів з ускладненими формами ЦД шляхом біомікроскопії бульбарної кон’юнктиви, сублінгвальної слизової оболонки та нігтьового ложа, були зареєстровані агрегація еритроцитів в артеріалах, збільшення кількості нефункціонуючих капілярів, розширення венул, уповільнення кровотоку [63]. У жінок із ДЦ за допомогою внутрішньоміхурової ультразвукової допплерографії визначили зменшення лінійного кровотоку в артеріальній і венозній ланці ГМЦР СМ [52].

Усі дослідники, які вивчали гемосудини при експериментальному ЦД, указують на збільшення товщини БМ капілярів, що може слугувати ультраструктурним маркером розвитку діабетичної мікроангіопатії [29, 210, 212, 218]. Ці судження ґрунтуються на результатах тільки спогляданого характеру. Морфометрію БМ капілярів проводили окремі автори [212], які на основі цифрових даних довели, що при СД потовщується БМ капілярів у

клубочках нирки, сітківці ока, легеневих альвеолах і грудопоперековій діафрагмі. Реакція на гіперглікемію БМ капілярів скелетних і серцевого м'язів, судинної оболонки ока, периферичних нервів, підшлункової залози була статистично незначимою. Т. Kotyk [169] морфометрично встановив, що потовщення БМ гемокапілярів піднижньощелепної залози щурів при СД виявляється вже з 14-ї доби і нарastaє до 70-ї доби експерименту.

За даними літератури, патологічні зміни БМ гемокапілярів при ЕЦД зводяться до основних чотирьох моментів. По-перше. Відбувається потовщення БМ, що пов'язують із надмірним утворенням колагену IV типу [59]. По-друге. Має місце глікозилювання лізинових залишків ламініну, що порушує архітектоніку БМ [59], і в результаті БМ стає багатошаровою – у вигляді окремих паралельних пластин [210]. По-третє. Підвищується неспецифічна проникливість БМ для білків плазми крові, що спричиняється метаболічними порушеннями, в основі яких лежать процеси ферментативного чи неферментативного глікозилювання її білків [51, 152, 218], які ведуть до нездатності глікозильованих молекул колагену БМ взаємодіяти з протеогліканами [42]; зниження кількості гепарансульфату – протеоглікану, що сприяє інфільтрації БМ білками плазми [78]; зменшення вмісту ламініну, який знижує аніонний заряд БМ і збільшує адгезію ендотеліальних клітин [208]. По-четверте. Гемічна і циркуляторна гіпоксії активують перекисне окиснення ліпідів БМ [131], що посилює її структурну дезорганізацію.

Деякі дослідники симптоматику ДЦ пов'язують із розвитком вегетативної діабетичної нейропатії [67, 102, 173, 190]. Однак у роботі K. Sasaki et al. [134], в якій на щурах вивчався зв'язок рівня зниження фактору росту нервів із симптоматикою стрептозотоцинової ДЦ, було доведено, що рівень фактору росту нервів статистично значимо знижується в гангліях стінки СМ і чутливих гангліях L6–S1 сегментів спинного мозку тільки на кінець 12-го тижня після індукції ЦД і корелює зі зниженням болювої чутливості та збільшенням залишкової сечі. До того ж клінічно встановлено, що неврологічна симптоматика пов'язана з діабетичною дисфункцією СМ, відмічається у хворих

із тривалістю ЦД від 6–10 років і більше [113, 182, 213]. Окрім того є дослідження, в яких встановлено, що при ЦД спочатку уражаються *vasa nervorum*, а вже вони спричиняють патологічні зміни в нервових пучках [120].

Підсумовуючи вищесказане, можна стверджувати, що незважаючи на незаперечні успіхи сучасної теоретичної та клінічної діабетології, залишається не вирішеними питання щодо визначення чинників, які безпосередньо зумовлюють і посилюють розвиток ДЦ, а також щодо встановлення пріоритетності впливу кожного з чинників на етапах розвитку СД, а саме: гіперглікемії, вмісту гліказильованого гемоглобіну, поліурії, полідипсії, діабетичної мікроангіопатії.

Наявність неоднозначних і часто суперечливих результатів щодо перебудови уротеліоцитів, гладких міоцитів і колагенових волокон СМ у ході розвитку ДЦ вимагає від подальших досліджень об'єктивних і незаперечних даних, які можна отримати тільки на основі морфометричних параметрів. Необхідно також встановити часову залежність у розвитку патологічних змін з боку цих структур.

Незважаючи на те, що діабетична мікроангіопатія досліджувалася багатьма авторами, на сьогодні залишаються маловивченими питання щодо особливості її розвитку в СМ, відсутні також дані про морфометричні зміни внутрішньоорганних мікрогемосудин на етапах розвитку СД.

Немає робіт, в яких би на тлі розвитку СД порівнювалися результати морфологічних і морфометричних досліджень структурних компонентів СМ із біохімічними показниками крові та сечі. Є окремі повідомлення, в яких висловлена думка, що збільшений діурез і біохімічні зміни сечі при ЦД є агресивними по відношенню до уротелію і м'язової оболонки СМ, що може бути пусковим моментом розвитку ДЦ.

Таким чином, можна констатувати, що тема дисертаційної роботи розроблена недостатньо і має багато суперечливих результатів та різних підходів щодо методів досліджень. Це вказує на необхідність проведення комплексної оцінки морфофункціонального стану СМ на кожному з етапів

перебігу СД за результатами світлооптичного і ультраструктурного дослідження клітин ПЕ, гладких міоцитів, колагенових волокон і мікрогемосудин, морфометричного та кластерного аналізів, методу кольорової сегментації, біохімічного дослідження крові та сечі, вивчення масометричних даних і водного балансу.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### **2.1. Загальна характеристика дослідження**

Дисертаційне дослідження проведено в навчально-науковій лабораторії морфологічного аналізу та центрі біоелементології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» та сертифікованій лабораторії «Діамеб».

Експеримент проводили з урахуванням науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботі з ними [61], «Порядком проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», які були затверджені наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. Інтактних, дослідних і контрольних щурів утримували у віварії навчально-наукової лабораторії морфологічного аналізу ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» за однакових умов мікроклімату, добового раціону та вільного доступу до води. Годування тварин здійснювали за допомогою повнораціонного гранульованого корму.

Виконана робота не суперечить основним біоетичним нормам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977 р.), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародному кодексу медичної етики (1983 р.), Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту та Ради Європи про захист тварин, що використовуються з науковою метою, та законам України (експертний висновок комісії з питань етики ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», протокол № 87/16 від 17.02.2016 р.).

Дослідження проведено на 94 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 214–256 г, з яких 14 загинуло (3 – до 14-ї доби досліду, 4 – із 14-ї до 28-ї,

3 – із 42-ї до 56-ї, 4 – із 56-ї до 70-ї доби). Тварини були розподілені на три групи (табл. 2.1). Перша група – інтактні тварини (норма), яку склали 10 тварин. Друга група – дослідна (50 щурів), тваринам якої моделювали стрептозотоциновий ЦД. Третя група (20 тварин) – слугувала контролем.

## **2.2. Моделювання стрептозотоцинового діабету в експериментальних щурів**

Цукровий діабет моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревенного введення стрептозотоцину фірми «Sigma» (США), на 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5) із розрахунку 6 мг / 100 г маси тіла [71]. Тваринам контрольної групи вводили в еквівалентній кількості тільки цитратний буфер. Рівень глюкози в крові щоденно вимірювали вранці натще глюкометром “Accu-Chek Active” (“Roche Diagnostics GmbH”). Забір матеріалу проводився зранку натще на 14-у, 28-у, 42-у, 56-у і 70-у доби експерименту. Евтаназію тварин здійснювали під тіопенталовим наркозом (вміст флакона, в якому був 1 г сухої речовини тіопенталу натрію, розчиняли в 10 мл ізотонічного розчину і вводили внутрішньом'язово з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси тіла). Після цього здійснювали контрольне зважування тварин. Декапітацію проводили з одночасним забором крові в пробірку для біохімічних досліджень. Далі забирали та зважували сечовий міхур і одразу поміщали його у фіксуючі розчини для подальшого морфологічного дослідження.

## **2.3. Методи гістологічного та електронномікроскопічного досліджень**

Для гістологічного дослідження шматочки СМ фіксували 14 діб в 10% нейтральному формаліні. На санному мікротомі з парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм. Останні фарбували гематоксиліном і еозином згідно прийнятої методики [83].

Для візуалізації структурних компонентів стінки СМ, його кільцеві зrizi зафарбовували трихромним методом за Массоном, який забарвлює уротелій у рожевий колір із фіолетовим відтінком, колагенові волокна – у синій колір,

гладкі м'язові волокна – у червоний. При цьому, основна (міжклітинна) речовина не забарвлюється. Фіксацію матеріалу, його проводку і виконання методу здійснювали за рекомендаціями Д. С. Саркісова і Ю. Л. Псрова [83].

Таблиця 2.1

## Загальний розподіл тварин за групами і етапами проведення експерименту

Методи дослідження	Норма	Термін дослідження, доба									
		14		28		42		56		70	
		Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Макрометричний	10	4	10	4	10	4	10	4	10	4	10
Гістологічні	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5
Гематоксилін і еозин	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5
За Массоном	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5
Електронномікроскопічний	5	4	5	4	5	4	5	4	5	4	5
Біохімічне дослідження крові	10	4	10	4	10	4	10	4	10	4	10
Біохімічне дослідження сечі	10	4	10	4	10	4	10	4	10	4	10
Усього щурів на термін	10	4	10	4	10	4	10	4	10	4	10
Разом							80				

Гістологічні зрізи вивчали у світловому мікроскопі Micros Austria MC300 і фотографували цифровою фотокамерою ToupCam 5,1M UHCCD C-Mount Sony з адаптером ToupTek Photonics AMA075 за допомогою програмного забезпечення ToupView v. 3 (при збільшенні  $\times 40$ –1000 разів).

Забір матеріалу, фіксацію, проводку і виготовлення блоків для електронномікроскопічного дослідження проводили згідно рекомендацій

Д. Саркісова і Ю. Л. Перова [83]. Одержані на ультрамікротомі Tesla BS-490A зрізи монтували на мідні бленди і для збільшення контрастності зрізи дофарбовували уранілацетатом за Рейнольдсом. Вивчення і фотографування матеріалу проводили на мікроскопі ПЭМ-125К при напрузі 75, 80, 100 кВ із наступною фотозйомкою. Електронограми оцифровували на сканері Epson Perfection V550 Photo при розширенні 1200 dpi. Півтонкі зрізи товщиною 1 мкм забарвлювали 1% розчином метиленового синього і вивчали та фотографували як гістологічні.

#### **2.4. Методи біохімічних досліджень**

Забір крові щурів для подальшого біохімічного дослідження здійснювали одразу після евтаназії та декапітації тварин. У центрі біоелементології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» визначали глюкозооксидазним методом рівень глюкози крові (ммоль/л) за допомогою набору реактивів виробництва ТОВ НВП “Філісіт-Діагностика” і концентрації глюкози в сечі (ммоль/л) за допомогою набору «ГЛЮКОЗА – ФКД». Між заборами матеріалу рівень глюкози в крові, забраної з хвостової вени, визначали глюкометром “Accu-Chek Active” фірми “Roche Diagnostics GmbH” (Німеччина).

Вміст глікозильованого гемоглобіну ( $\text{HbA}_{1c}$ ) у крові (у відсотках, %) визначали в сертифікованій лабораторії «Діамеб» за допомогою діагностичного набору «ACCENT-200  $\text{HbA}_{1c}$  DIRECT» (PZ Cormay S.A., Польща).

Вимірювання pH сечі проводився кишеньковим pH-метром «Checker 1» виробництва фірми «Hanna Instruments» (Італія). Тонкий електрод цього pH-метра дає можливість провести вимірювання в обмеженому просторі в діапазоні від 0 до 14 pH, із точністю вимірювання  $\pm 0,2$  pH.

## **2.5. Визначення водного балансу, маси тіла щура і маси сечового міхура**

Визначення спожитої води і добового діурезу проводили за допомогою розробленої нами оригінальної метаболічної камери [73], креслення і зовнішній вигляд якої представлений на рис. 2.1.

Запропонована корисна модель метаболічної камери, у порівнянні з метаболічною камерою російського виробника «НПК Открытая Наука», яка була доступна для придбання, забезпечує більш високі експлуатаційні характеристики, що аргументуються її вищою сечопропускною та сечозбиральною здатностями, значно нижчим випаровуванням сечі, покращеними умовами перебування тварин та дає змогу зібрати таку кількість сечі, яка більш повно відповідає істинному діурезу тварин. До того ж собівартість даної моделі метаболічної камери в 5-8 разів нижча за існуючі аналоги.

Визначення маси тіла щура виконували на базі лабораторній (тип ВНЦ, ГОСТ 7327-55), а маси СМ – на базі електронній (тип ВТУ 210, ГОСТ 24104-88). Повірку ваг проводили згідно запланованого регламенту.

Щоб нівелювати індивідуальну мінливість тварин за масою тіла, об'ємом спожитої і виділеної рідини, як і в інших лабораторіях, останні два розраховували на 1 кг маси тіла [12].

## **2.6. Методи морфометричного аналізу**

Морфометрію клітин кластерних структур уротелію здійснювали на гістологічних зразках, забарвлених гематоксиліном і еозином, за допомогою ImageJ версії 1.47t, яка розроблена співробітниками National Institutes of Health (USA) [195] і розповсюджується з відкритим вихідним кодом без ліцензійних обмежень, із використанням розробленого нами оригінальної комп'ютерної програми «MorphoTools for ImageJ» [84]. Визначили: площа профільних полів (далі – площа) уротеліоцитів та їхніх ядер, площа цитоплазми, яка вираховувалась як різниця площі кожної клітин і її ядра, ядерно-

цитоплазматичне відношення (ЯЦВ), а також коефіцієнт варіації, який характеризує мінливість ознаки і є відношенням середнього квадратичного відхилення до середнього арифметичного у відсотках [33].

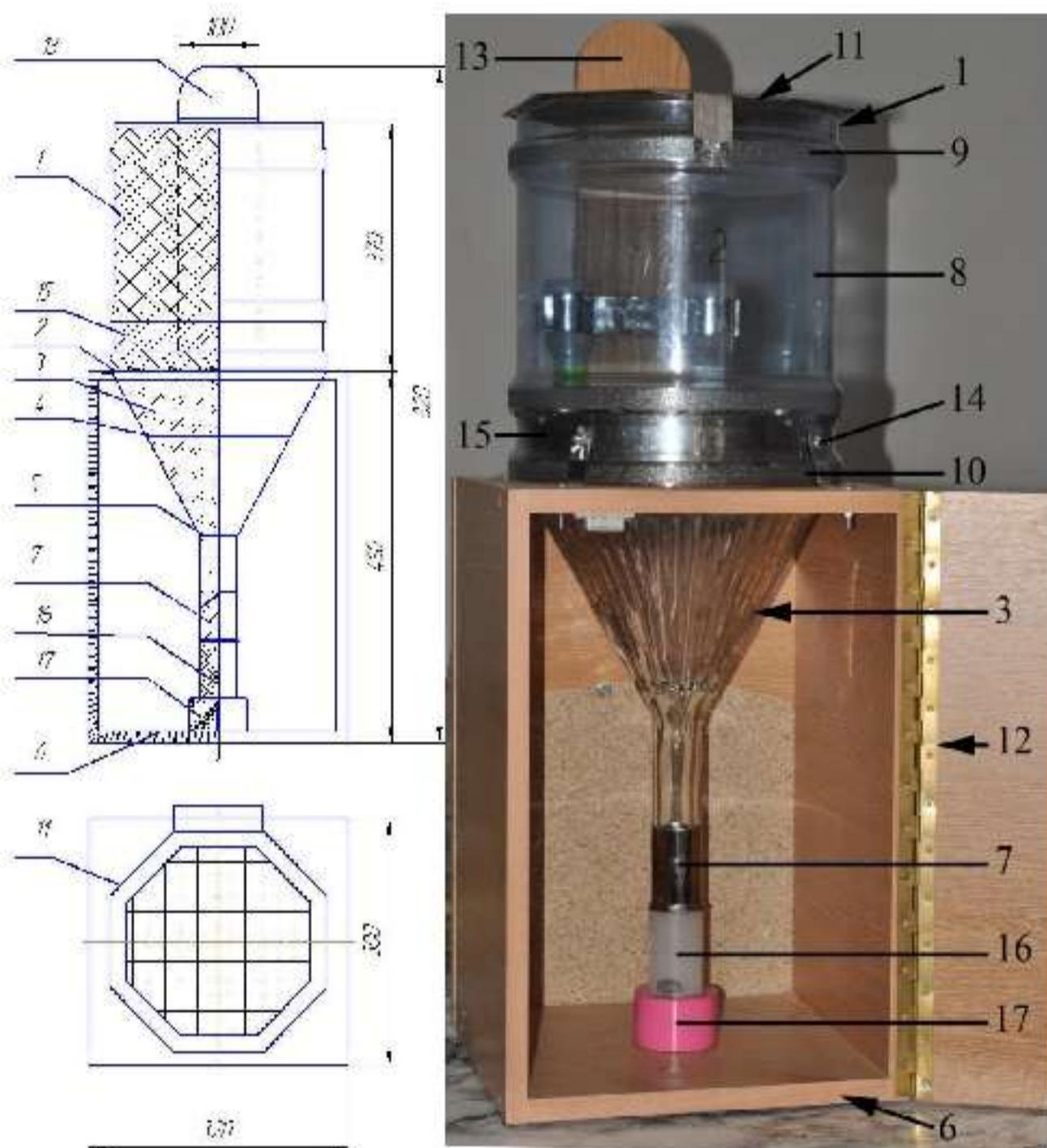


Рис. 2.1. Метаболічна камера для збору сечі дрібних тварин.

Позначення: 1 – циліндричний відсік; 2 – днище відсіку для тварин; 3 – скляна ребриста лійка; 4 і 5 – великий і менший круги з тканою нержавіючої сітки у скляній лійці; 6 – корпус; 7 – металевий циліндр; 8 – звужена середня частина відсіку для тварин; 9 і 10 – верхній і нижній периметри відсіку для тварин; 11 – кришка відсіку; 12 – рояльна завіса дверцят; 13 – спинка корпуса; 14 – металева смужка для скріplення відсіку для тварин із корпусом; 15 – металеве нержавіюче кільце; 16 – контейнер; 17 – підставка для контейнера.

Визначення структурних компонентів стінки СМ і відношення (у %) їхніх площ (метод кольорової сегментації) здійснювали на екваторіальних зрізах досліджуваного органа, забарвлених трихромним методом за Массоном, із використанням оригінального розробленого автоматизованого способу [72]. Його алгоритм полягає в наступному. Із цифрового зображення фрагменту стінки СМ, що забарвлений за методом Массона (рис. 2.2 а), виділяли червоний і зелений колірні канали (рис. 2.2 б–в); за допомогою калькулятора зображень (Image Calculator) виконували відповідні арифметичні дії між оригіналом зображення та його окремими колірними каналами (рис. 2.2. г–е); отримані зображення конвертували в бінарні зображення (чорно-білі) із наступним застосуванням бінарних морфологічних операторів і зменшували шуми для покращення зображення (рис. 2.2 ж–з). У такий спосіб із початкового зображення виокремлювали зображення гладких м'язів і колагенових волокон та визначали їхню площину (див. рис. 2.2 ж–з). Далі визначали площину фрагменту стінки СМ із врахуванням трьох кольорів (рис. 2.2 е) і вираховували площину уротелію, а також встановлювали відсоток площині кожної з трьох тканини.

Розроблений нами спосіб аналізу структурних компонентів стінки СМ в ImageJ дозволяє визначати величини площ (%), що припадають на уротелій, гладкі м'язи і колагенові волокна до загальної їхньої площині в автоматичному режимі. Це обумовлює принципово нові можливості проведення морфометричного аналізу стінки СМ, які виражаються в усуненні суб'єктивного фактору та нівелюванні індивідуальної мінливості будови уротелію, гладких міоцитів і колагенових волокон у тварин. Основна перевага даного методу полягає в тому, що площині вказаних структур визначаються без урахування площини, яку займає основна речовина міжклітинного простору, об'єм якої міняється при інтерстиційному набряку, дегідратації, розтягненні стінки СМ різного ступеня.

Морфометричне дослідження артеріол, гемокапілярів і венул підуротеліального ГМЦР здійснювали за допомогою розроблених нами оригінальних алгоритмів визначення радіуса просвіту кровоносних судин і

товщини їхньої стінки [70], які були реалізовані у вигляді «Набору інструментів для морфометрії гемосудин «VesselsMorpho Tools for ImageJ» [85].

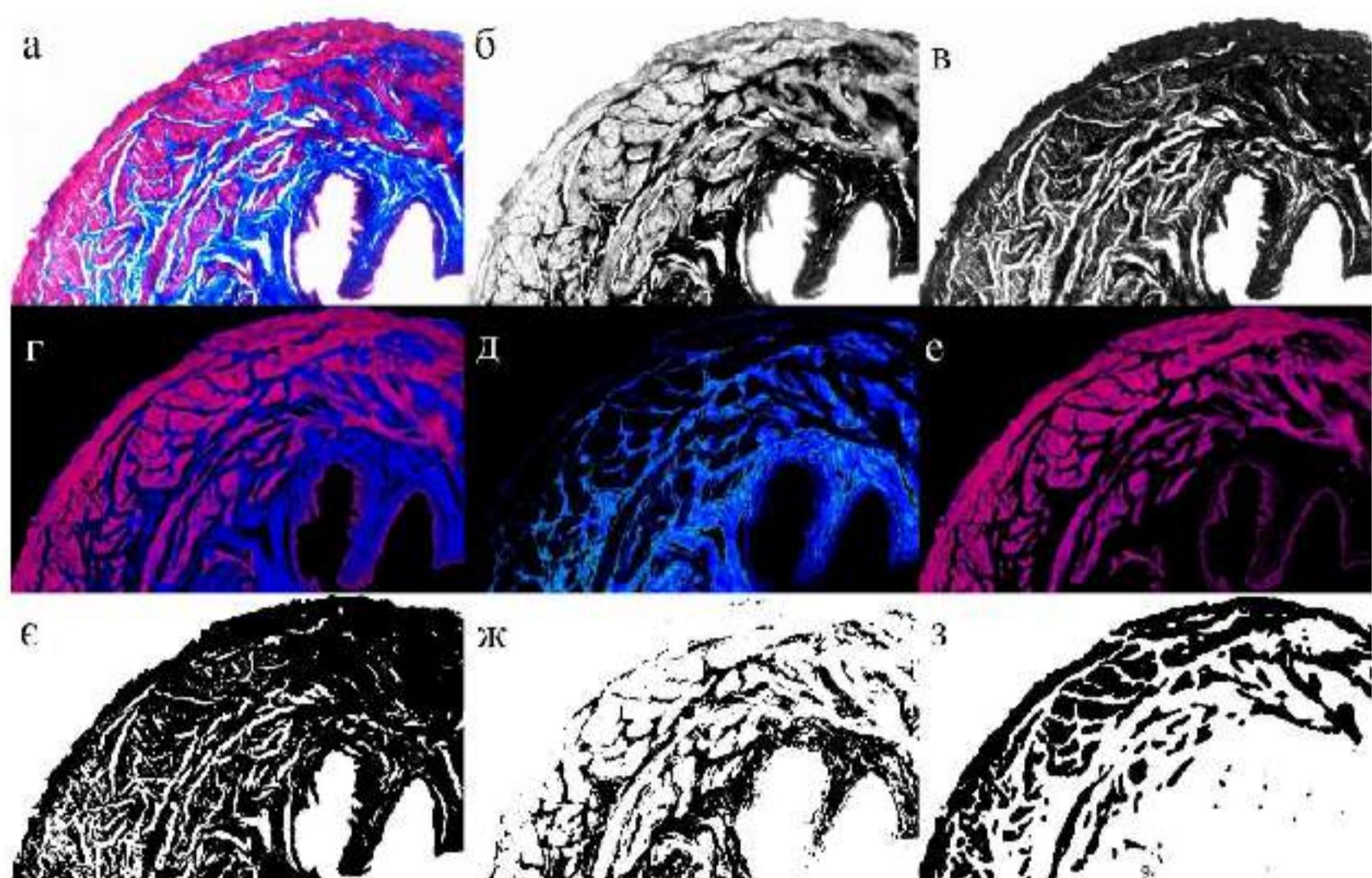


Рис. 2.2. Покрокова сегментація зображення стінки сечового міхура. (Див. пояснення в тексті).

Алгоритм визначення радіуса просвіту мікросудин полягав у тому, що спочатку встановлювали геометричний центр їхнього просвіту, від якого далі автоматично вимірювали відстані до кожного пікселя внутрішнього периметру судин. Таких промірів може бути десятки, сотні і тисячі, у залежності від розміру судини. З отриманих значень обчислювали середнє значення радіуса. Такий неординарний підхід і велика кількість замірів нівелюють неточності вимірювань, які пов'язані з нерівностями внутрішньої поверхні мікрогемосудин.

Складність визначення товщини стінки будь-якої мікрогемосудини пов'язана з двома проблемами. По-перше, товщина стінки судини є

високомінливою ознакою в результаті нерівностей зовнішнього і внутрішнього периметрів. По-друге, відрізок, який визначає товщину стінки має бути перпендикулярним до дотичної до внутрішнього периметра, що вручну здійснити практично неможливо. Першу проблему, знову ж таки, вирішували тим, що морфометрію проводили від геометричного центра просвіту судини. Для вирішення другої проблеми ми використали правило трикутника, згідно якого сума довжин двох його сторін є більшою за довжину третьої сторони. У нашому випадку, сторонами такого трикутника був внутрішній та зовнішній радіуси (проведені з геометричного центра) і відрізок, який з'єднував їхні кінцеві точки та визначав товщину стінки судини. Алгоритм проводить багаторазове вимірювання цього відрізка до кожного пікселя зовнішнього периметра, допоки сума його довжини і довжини внутрішнього радіуса не буде дорівнювати зовнішньому радіусу. Тільки в цьому випадку даний відрізок приймався як товщина стінки мікросудини. З отриманих значень обчислювали середнє.

Для морфометричного аналізу виділяли тільки артеріоли, капіляри і венули. Такий підхід був вибраний із наступних міркувань. За даними А. Хема і Д. Кормака [104], на світлооптичному рівні можна чітко виділити капілярну судину, бо в неї товщина стінки завжди менша від діаметра просвіту в 2–5 разів. Стінка капіляра може бути потовщеною за рахунок ядра ендотеліоцита чи перицита і тоді виглядає як темний замкнений півмісяць. Відрізнисти артеріолу від метартеріоли неможливо, оскільки в цих обох судинах товщина стінки лише дещо менша від діаметра просвіту. Причому таке співвідношення між стінкою і просвітом зберігається, незалежно від розмірів артеріол. Натомість, дрібні артерії чітко ідентифікуються на півтонких зрізах, забарвлених метиленовим синім, при збільшенні в  $\times 400$  разів по внутрішній еластичній перетинці. Еластична сітка, яка є в інтимі артеріол при вказаному збільшенні і забарвленні не виявляється. На півтонких зрізах усі венули (закапілярна, збиральна і м'язова) виглядають також подібно – тонка стінка, але товстіша за капілярну, і

великий, полігональної форми просвіт. Венули різняться тільки за розмірами просвіту.

Визначення товщини базальної мембрани (БМ) гемокапілярів і уротелю проводили на їхніх оцифрованих електронограмах. Вимірювання БМ гемокапілярів здійснювали від зовнішнього периметра гемокапіляра до зовнішнього контуру *lamina densa* БМ цього ж капіляра. Указаний зовнішній контур виділяли тільки в тих ділянках, де чітко видно плазмолему ендотеліальної клітини і де відсутній перицит. Фотографували капіляр при збільшенні  $\times 4800 - 6000$ , а заміри БМ здійснювали при масштабі, який дозволяє чітко виділити її темну пластинку. Товщину БМ ПЕ здійснювали від зовнішнього периметра плазмолеми базального уротеліоцита до зовнішнього контуру *lamina densa* БМ уротелю.

## **2.7. Методи статистичного опрацювання отриманих даних**

Статистичне опрацювання здобутих даних виконували в програмному середовищі R версії 3.0. [189]. Числові дані представляли у вигляді середнього $\pm$ стандартне відхилення (Mean $\pm$ SD). Для порівняння результатів незалежних груп тварин використовували методи непараметричної статистики (Wilcoxon-Mann-Whitney test). Різницю вважали статистично значимою при досягнутому рівні значимості  $p < 0,05$ .

Кластерний аналіз належить до класифікаційного методу, тільки на вищому рівні – на рівні багатовимірної статистики. Як будь-який класифікаційний аналіз, кластерний аналіз дозволяє розбити загальну сукупність елементів (що можуть бути як об'єктами, так і ознаками) на окремі більш однорідні групи, які називаються кластерами [103]. Основна перевага кластерного аналізу полягає в тому, що він дозволяє формувати кластери не за однією ознакою, а за цілим набором ознак. Причому обмежень щодо їхньої кількості немає. Немає також обмежень щодо однорідності ознак: одна ознака може бути кількісною, а інша – якісною. Ми проводили кластерний аналіз тільки за двома кількісними ознаками – за площею уротеліоцитів та їхніх ядер.

Доцільність використання тільки цих двох ознак була обґрунтована в ході проведення морфометричного дослідження клітин ПЕ СМ [101, 205].

Кластерний аналіз класично передбачає застосування двох груп методів – агломеративних ієрархічних та ітераційних, які різняться між собою за метою, алгоритмом виконання і способом представлення результатів [103, 110, 125]. Для норми ми використовували агломеративний ієрархічний метод Варда (Уорда), який дозволяє підтвердити чи відкинути висунуту гіпотезу щодо наявності кількості кластерів [65, 103]. Цей метод передбачає процес агломерації – покрокове об'єднання в кластери спочатку найближче розташованих елементів (у нашому випадку уротеліоцитів з урахуванням двох гістометричних ознак), а потім усе більше віддалених один від одного. Іншими словами, послідовно об'єднуються елементи за їхнім підпорядкуванням, тобто вибудовується ієрархія. На останньому кроці всі елементи об'єднуються в один кінцевий найбільший кластер. Агломеративні ієрархічні методи передбачають графічне представлення результатів у вигляді дендрограми. Для виділення тієї чи іншої кількості кластерів проводять її «розрізання», яке рекомендується робити на тому кроці, на якому відбувся значний скачок у зміні міжкластерної відстані, але не на останньому кроці.

Під віддаллю між об'єктами – метрикою – розуміють близькість об'єктів між собою за сукупністю всіх ознак, які використовуються для кластеризації (у нашему випадку тільки за двома). Найбільш доступною для сприйняття і розуміння є так звана «евклідова метрика», яку вираховують як довжину гіпотенузи трикутника за теоремою Піфагора [103].

Із метою визначення морфометричних показників кожного кластера був вибраний метод k-середніх (алгоритм Hartigan-Wong) [125], який є найбільш популярним з ітераційних. У цьому випадку сам користувач задає кількість кластерів («k»). Алгоритм цього методу працює наступним чином [110]: 1) спочатку, випадковим чином, вибираються первинні центри кластерів; 2) далі кожний об'єкт приписується до того кластера, до центра якого він знаходиться найближче; 3) після призначення всіх об'єктів до окремих

кластерів виконується заміна первинних кластерних центрів на кластерні середні, що певним чином змінює координати центрів; 4) попередня ітерація повторюється до тих пір, поки зміни координат кластерних центрів не стануть мінімальними. Даний метод передбачає графічне представлення результатів у координатному полі у вигляді «хмарок», в яких елементи кожного кластера позначаються маркерами різного кольору. Попарні множинні порівняння метричних показників кластерів виконували процедурою «pairwise.wilcox.test», а часток клітин, що формують кластери – процедурою «pairwise.prop.test». В обох випадках використовували поправку за методом Холма.

Для проведення кластерного аналізу клітин ПЕ в діабетичних шурів використовували тільки ітераційний метод кластеризації k-середніх, який дає можливість отримати метричні показники. Визначали площу уротеліоцитів усіх кластерів, та площу їхніх ядер, а також відсоток клітин, які формують кожний кластер.

Матеріали даного розділу опубліковані в роботах:

1. Пат. № 97270. Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01), A61B 5/107 Автоматизований спосіб визначення площ уротелію, колагенових і гладком'язових волокон на екваторіальних поперечних гістологічних зрізах сечового міхура експериментальних тварин / Токарук Н. С. – № u201408837; заяв. 04.08.2014; опубл. 10.03.2015, Бюл. № 5 [72].
2. Пат. № 97771. Україна, МПК A61B 5/20 (2006.01). Метаболічна камера для забору сечі дрібних тварин / Токарук Н. С., Котик Т. Л., Юрах О. М., Жураківська О. Я., Попович Ю. І.; заявки і патентовласники Токарук Н. С., Котик Т. Л., Юрах О. М., Жураківська О. Я., Попович Ю. І. – № u201408798; заяв. 04.08.2014; опубл. 10.04.2015, Бюл. № 7 [73].
3. Пат. 102664 Україна, МПК A61B 5/107 (2015.01). Спосіб напівавтоматизованого визначення діаметра просвіту і товщини стінки гемосудин / Котик Т. Л., Токарук Н. С., Юрах О. М.; заявники і патентовласники Котик Т. Л., Токарук Н. С., Юрах О. М. – № u201504992;

заяв. 21.05.2015; опубл. 10.11.2015, Бюл. №21 [70].

4. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 57116 від 17.11.2014. Комп'ютерна програма “Набір інструментів для морфометрії “MorphoTools for ImageJ” (“MorphoTools for ImageJ”). Автори Котик Т. Л., Токарук Н. С. [84].

5. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 59192 від 07.04.2015. Комп'ютерна програма “Набір інструментів для морфометрії гемосудин “Vessels MorphoTools for ImageJ” (“VesselsMorphoTools for ImageJ”). Автори Котик Т. Л., Токарук Н. С., Юрах О. М. [85].

## РОЗДІЛ 3

### БУДОВА СЕЧОВОГО МІХУРА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ-САМЦІВ У НОРМІ

За норму ми приймаємо сечовий міхур (СМ) клінічно здорових статевозрілих щурів-самців 12-місячного віку, що підтверджується відповідними документами. Маса тіла таких щурів коливалася в межах 214–256 г, їхні тіла покриті рівномірною густою блискучою шерстю, шкіра вух і хвоста чиста, щурі активно рухаються, у міру активно споживають їжу і воду та набирають вагу.

Стінка СМ щурів-самців утворена трьома оболонками (рис. 3.1) – зовнішньою (серозною чи адвентиційною), м'язовою та слизовою. Товщина стінки складає  $(619,43 \pm 183,28)$  мкм (тут і далі надається Mean $\pm$ SD) із коефіцієнтом варіації ( $C_V$ ) високого ступеня ( $C_V=49,72\%$ ), що вказує на дуже високу мінливість даної ознаки. Слизова оболонка представлена перехідним епітелієм (ПЕ) товщиною в  $(30,88 \pm 9,4)$  мкм (рис. 3.2), що має майже вдвічі меншу мінливість ( $C_V = 29,59\%$ ). Епітеліальні клітини лежать на двошаровій базальній мембрани (БМ), під якою знаходиться власна пластинка слизової оболонки товщиною  $(46,79 \pm 33,33)$  мкм, яка має високу варіабельність ( $C_V=71,97\%$ ). Вона утворена пухкою сполучною тканиною, в якій між пучками колагенових волокон розміщаються клітини сполучної тканини: фіброцити, дещо менше фібробластів, рідко лімфоцити, макрофаги і мастоцити. У глибоких ділянках власної пластинки спостерігається тонка пластинка нерегулярно розташованих гладких міоцитів, а глибше ніж – підслизовий прошарок, товщина якого сягає  $(218,93 \pm 157,89)$  мкм, яка є високою мінливою ознакою ( $C_V=72,12\%$ ).



Рис. 3.1. Пошарова будова стінки сечового міхура щурів у нормі. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Збільшення: об.4, ок. 10.

Позначення: 1 – адVENTицiя; 2 – судини адвентицiйного/серозного сплетення; 3 – зовнiшнiй поздовжнiй м'язовий шар; 4 – коловi м'язовi пучки; 5 – внутрiшнiй поздовжнiй шар гладких мiоцитiв; 6 – пiдслизовой прошарок; 7 – власна пластинка слизової оболонки; 8 – уротелiй.

У пiдслизовому прошарку пучки колагенових волокон розташованi бiльш пухко, а клiтини трапляються рiдше. Власне вiн заходить у довгi та товстi складки слизової оболонки.

М'язова оболонка СМ щурiв побудована з трьох шарiв, якi визначаються нечiтко: зовнiшнього та внутрiшнього поздовжнiх гладких м'язових пучкiв i середнього колового (див. рис. 3.1). Iз них найкраще розвинutий коловий. Iз поздовжнiх шарiв краще розвинutий поверхневий поздовжнiй шар, який спостерiгається нечасто. Найменше розвинutий внутрiшнiй поздовжнiй шар гладких мiоцитiв i визначається не завжди. У цiому м'язовiй оболонцi займає найбiльшу площу поперечного зrзу стiнки СМ. Показник iї товщини є високомiнливою ознакою ( $C_V = 25,21\%$ ) i складає  $(322,83 \pm 81,39)$  мкм.

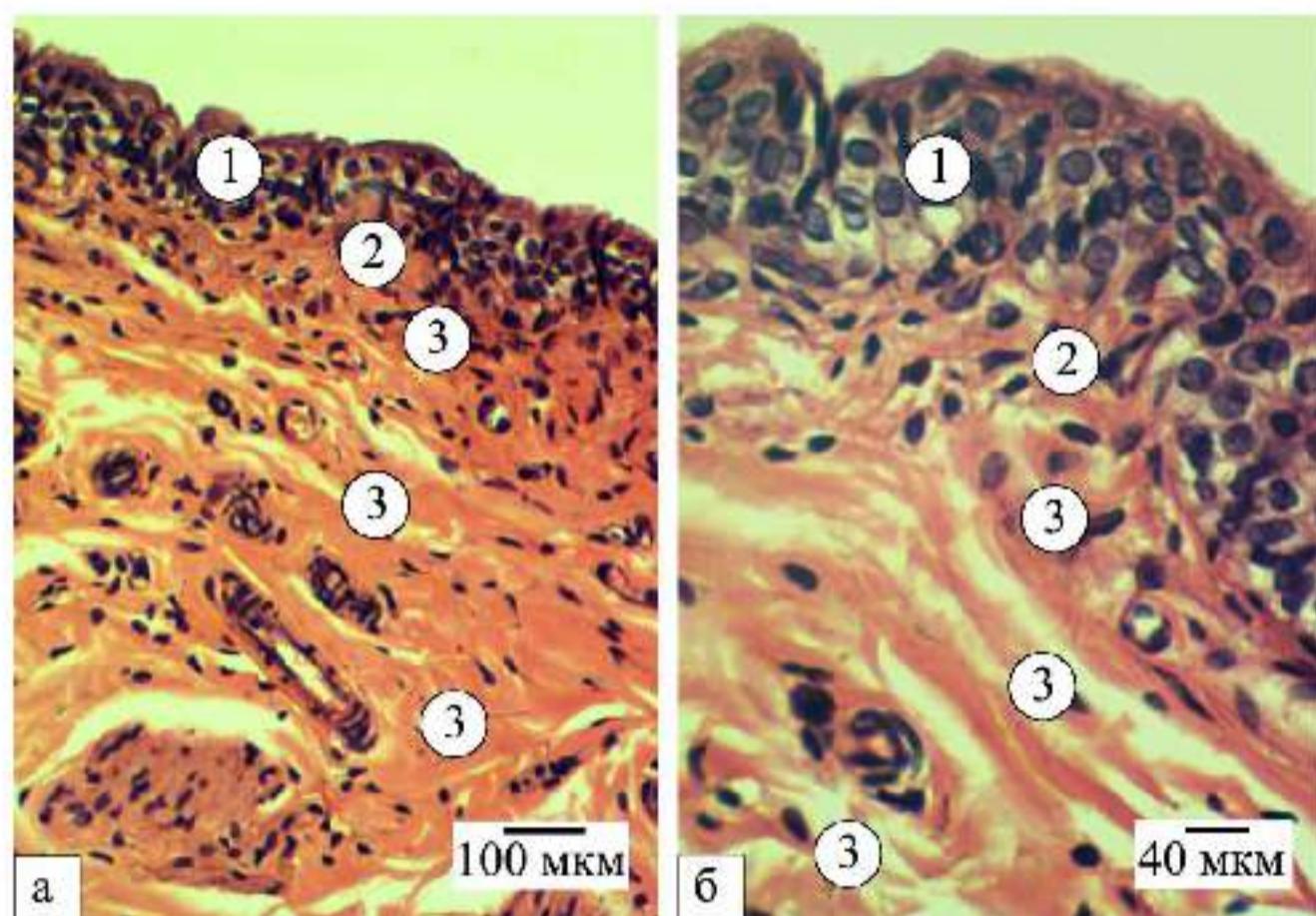


Рис. 3.2. Гістоструктура стінки сечового міхура в нормі. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Збільшення: а) об.10, ок. 10; б) об.20, ок. 10.

Позначення: 1 – перехідний епітелій; 2 – власна пластинка слизової оболонки; 3 – підслизовий прошарок.

Високі коефіцієнти варіації товщини структурних компонентів стінки СМ, які ми визначали, указують на те, що отримані результати вже за умови норми мають дуже високу мінливість, а значить – низьку точність. Тому використання даної метричної ознаки, яка часто використовується в дослідженнях для порівняння результатів контрольних тварин з дослідними, є недоцільним. Для цього краще використовувати показники їхніх площ. Результати такого дослідження подані нижче.

На верхівці і більшій частині передньої та задньої стінки СМ зовнішня оболонка представлена серозною оболонкою, яка є тонкою і має плоскі полігональні клітини мезотелію з інтенсивно забарвленими ядрами. У ділянці шийки та нижніх відділів тіла СМ, де відсутня очеревина, зовнішня оболонка утворена адвентицією (див. рис. 3.1), яка побудована з волокнистої сполучної

тканини з присутністю невеликої кількості еластичних волокон, що без видимих меж переходить у сполучну тканину стінки малого тазу.

### **3.1. Характеристика уротеліоцитів переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі**

Слизова оболонка СМ вкрита тришаровим ПЕ. Поверхневий шар утворений поверхневими уротеліоцитами, які номенклатурно називаються ще парасольковими клітинами, оскільки кожна клітина вкриває 2-3 уротеліоцити проміжного шару. Світлооптично це великі клітини круглої, овальної, видовженої чи полігональної форми зі світлою, нерівномірно забарвленою цитоплазмою. Ядра цих клітин, здебільшого, округлої форми з різним ступенем конденсації хроматину, який розподілений по-різному в кожному ядрі. Часто ідентифікуються ядерця. Нерідко спостерігаються парасолькові клітини з двома і трьома ядрами (рис. 3.3 а, б). Ці ядра в клітині розташовуються поряд і тому часто накладаються одне на одне та бувають недостатньо сфокусовані в полі зору, оскільки знаходяться на різній глибині. Виявляються поодинокі поверхневі клітини або невеликі пласти ПЕ, які злущуються в просвіт СМ (рис. 3.3 г). На рис. 3.3 в показаний уротеліоцит звичайної будови, який буде злущуватися, на що вказує стоншення цитоплазми під його ядром. Справа від нього вільна ділянка, яка утворилася після десквамації клітини. Це явище вважається фізіологічною десквамацією поверхневих шарів ПЕ.

Клітини проміжного шару ПЕ, у більшості випадків, розміщуються в два шари, рідше в один чи три. Їхні ядра овальні або круглі. У залежності від кількості шарів проміжних уротеліоцитів, ПЕ в різних ділянках може бути 3-, 4- і 5-шаровим (рис. 3.4 а–в). Трапляються ділянки ПЕ, де 3-шаровий уротелій може переходити в 4- чи 5-шаровий (рис. 3.4 г). Такий перехід, найчастіше, відбувається в глибині інвагінацій або на верхівках складок слизової оболонки СМ. Деякі клітини середнього шару ПЕ мають клітинні ніжки, що досягають БМ уротелію (рис. 3.5 а, б). Суцільний пласт утворюють також уротеліоцити основного шару ПЕ, що розміщені в один шар (рис. 3.5 в, г).

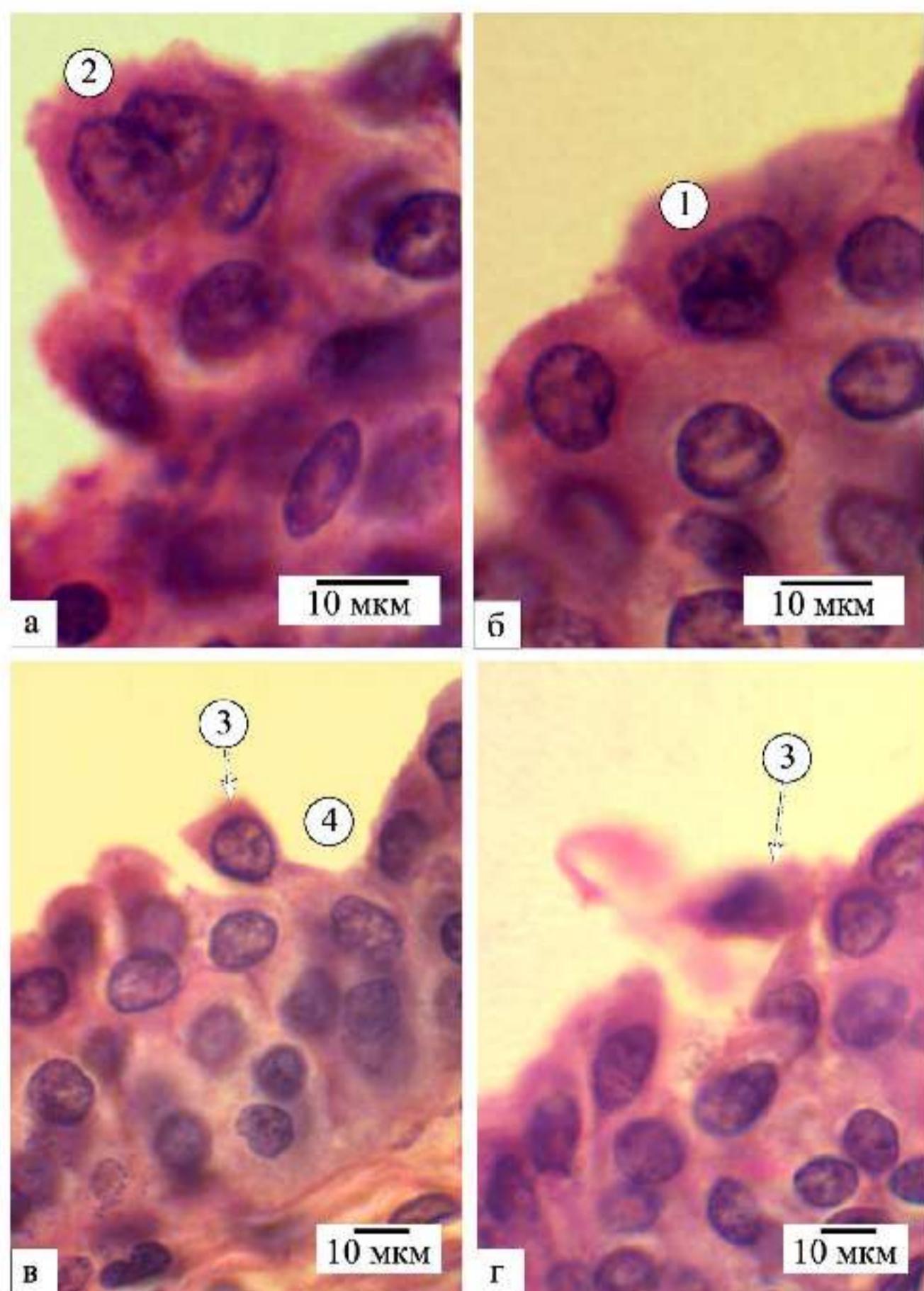


Рис. 3.3. Парасолькові клітини з кількома ядрами (а, б). Фізіологічна десквамація уротелю (в, г). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Збільшення: об.100, ок. 10.

Позначення: 1 – двоядерні; 2 – триядерні; 3 – уротеліоцит, який буде злущуватися; 4 – вільна ділянка після десквамації клітини.

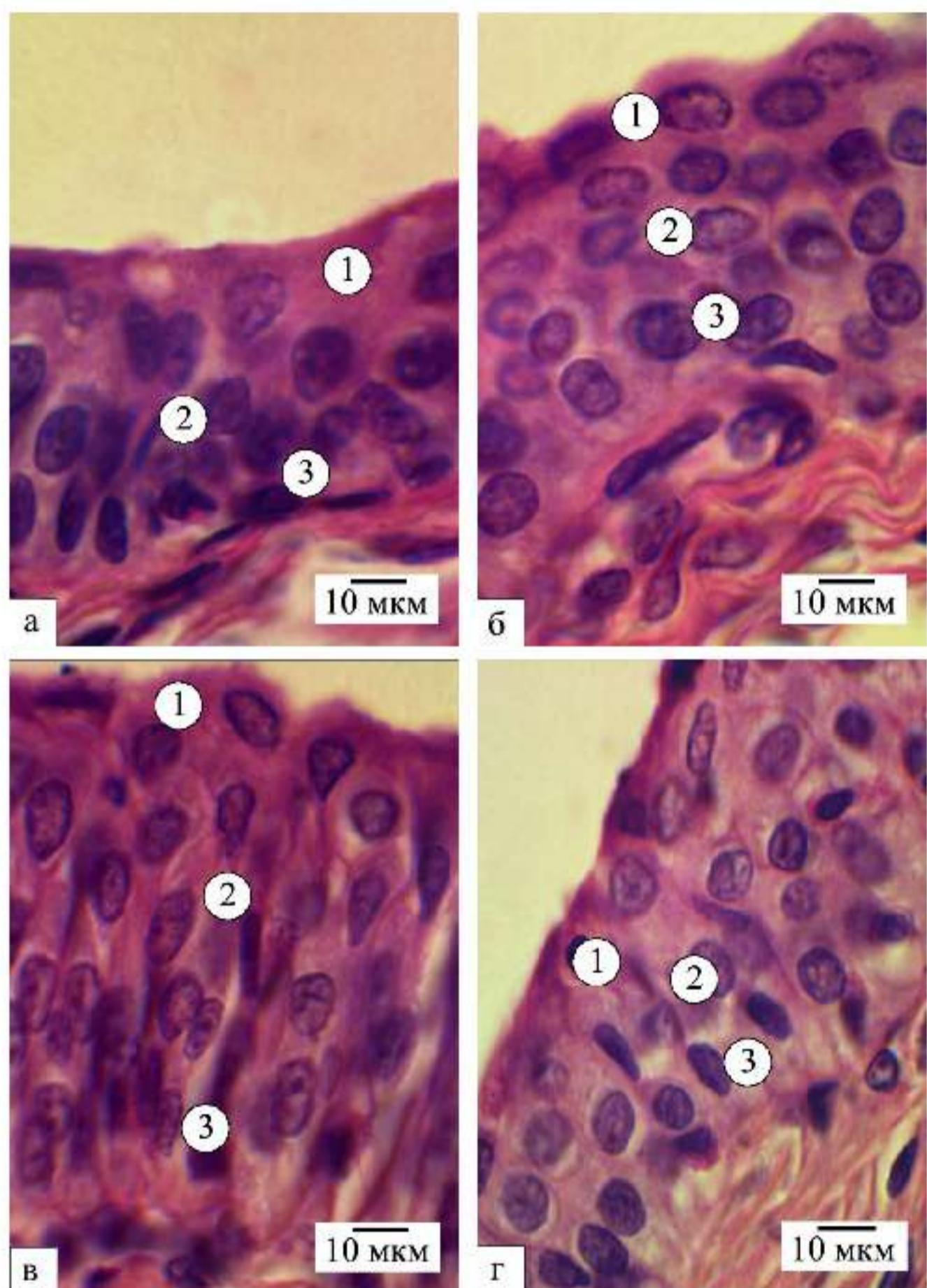


Рис. 3.4. 3-, 4- і 5- шаровий (а – в) уротелій сечового міхура. Перехід 3-шарового уротелію сечового міхура щура в 4-шаровий (г). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Збільшення: об.100, ок. 10.

Позначення: 1 – парасолькові клітини; 2 – проміжні уротеліоцити; 3 – клітини базального шару сечового міхура.

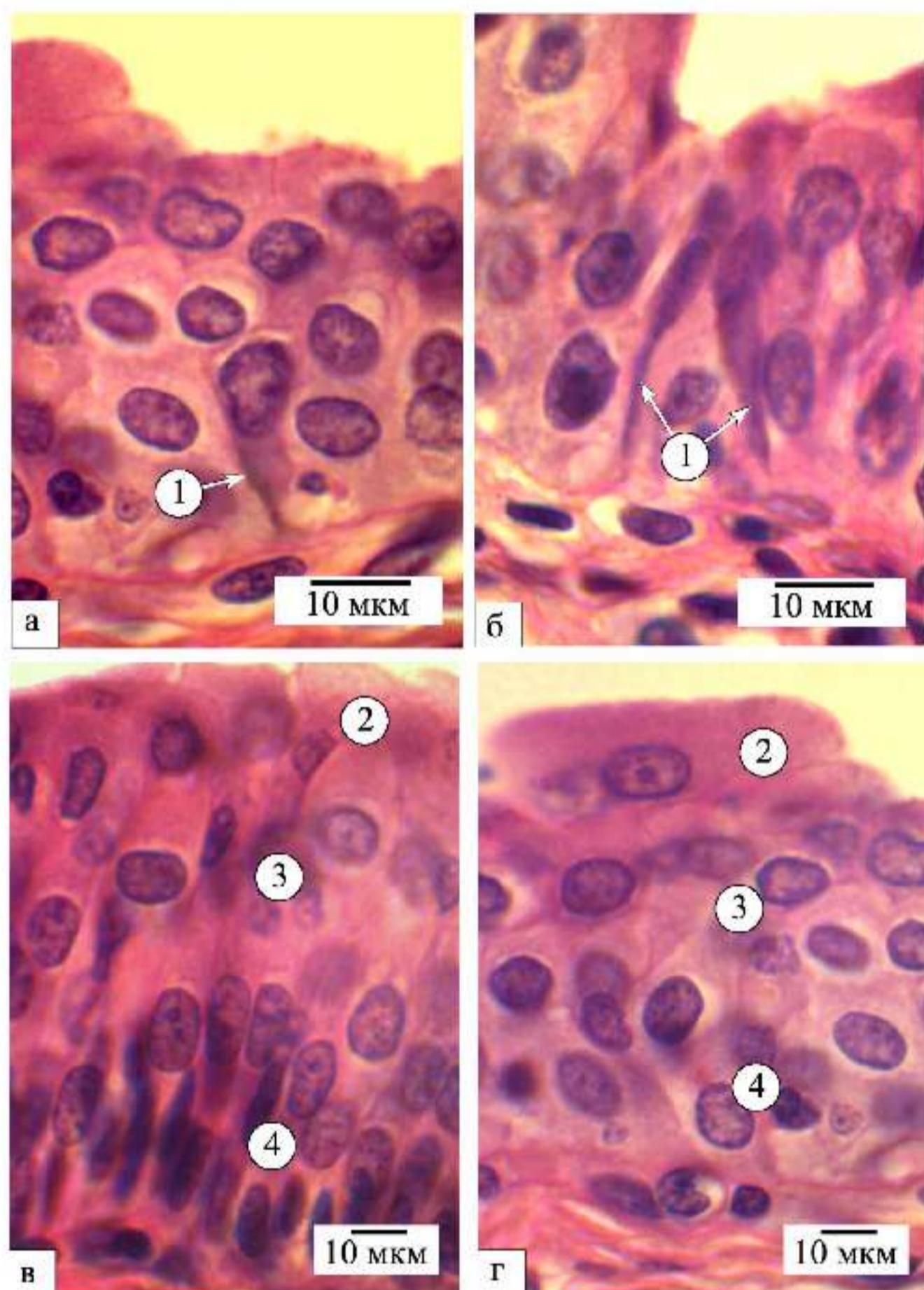


Рис. 3.5. Клітинні ніжки проміжних уротеліоцитів (а, б). Клітини базального шару переходного епітелію, які розміщені у вигляді “частоколу” (в). Овальні чи полігональні базальні уротеліоцити (г). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Збільшення: об.100, ок. 10.

Позначення: 1 – клітинні ніжки; 2 – парасолькові клітини; 3 – уротеліоцити проміжного шару; 4 – клітини базального шару.

Уротеліоцити основного шару ПЕ – це найменші за розмірами, видовжені чи овальні клітини, що прикріплюються до БМ уротелію. Інтенсивність забарвлення та їхня форма на гістологічних препаратах залежить від площини зрізу клітин. Якщо базальні уротеліоцити були зрізані перпендикулярно до їхньої широкої площини, то вони мають вигляд видовжених сплющених клітин із темною гомогенною цитоплазмою, яка вінчиком оточує довгасте, інтенсивно забарвлене ядро. У цьому випадку їхнє розташування на базальній мембрани має вигляд “частоколу” (див. рис. 3.5 в). Натомість, якщо зріз пройшов паралельно до широкої площини цих клітин, то вони мають вигляд овальних чи полігональних клітин з овальними чи круглими ядрами (див. рис. 3.5 г). Виходячи з цього, морфометрію базальних уротеліоцитів ми проводили на зрізах, які вказані останніми.

Для одержання об'єктивних числових показників ми провели морфометричний аналіз клітин ПЕ СМ. Морфометрію здійснили на гістологічних зрізах, забарвлених гематоксиліном і еозином. Згідно міжнародної гістологічної номенклатури [22], були виділені три групи клітин ПЕ – клітини базального, проміжного і поверхневого шарів. Результати морфометричного дослідження представлені в табл. 3.1. Із таблиці видно, що найбільшу площа мають парасолькові клітини, а найменшу – клітини базального шару. Проміжні уротеліоцити менші від поверхневих в 1,86 раза ( $p<0,01$ ), але більші за базальні в 2,03 раза ( $p<0,001$ ). Відмінності між площами ядер клітин різних шарів ПЕ подібні. Так, площа ядер проміжних уротеліоцитів менша в 1,21 раза ( $p<0,05$ ) за таку клітин поверхневого шару, але більша в 1,63 раза ( $p<0,05$ ) від площи ядер базальних. При цьому варіабельність показника площи парасолькових клітин є помірною, а площи клітин проміжного і базального шарів ПЕ – високою. Натомість мінливість показника площи ядер клітин змінюється в зворотному напрямку – вона є високою тільки для клітин базального шару ПЕ, а для клітин інших його шарів даний показник є середньоваріаційним. Відмінності між коефіцієнтами форми і коефіцієнтами

елонгації як уротеліоцитів різних шарів ПЕ, так і їхніх ядер статистично незначимі ( $p>0,05$ ).

*Таблиця 3.1*

**Метричні показники клітин різних шарів переходного епітелію сечового міхура інтактних тварин (норма)**

Показники		Парасолькові клітини та їхні ядра		Клітини проміжного шару та їхні ядра		Клітини базального шару та їхні ядра	
		Mean±SD	C <sub>v</sub> , %	Mean±SD	C <sub>v</sub> , %	Mean±SD	C <sub>v</sub> , %
Площа, мкм <sup>2</sup>	кл	117,3±13,86	11,8	63,0±13,73*	21,5	31,1±6,86* <sub>#</sub>	22,1
	я	32,5±4,16	12,9	26,9±3,08*	11,5	16,5±4,34* <sub>#</sub>	25,9
Коефіцієнт форми	кл	0,73±0,04	4,7	0,84±0,02	3,7	0,86±0,02	1,9
	я	0,86±0,02	3,4	0,87±0,02	1,3	0,85±0,02	2,4
Коефіцієнт елонгації	кл	1,73±0,18	10,7	1,56±0,09	6,5	1,58±0,11	7,5
	я	1,55±0,16	9,8	1,52±0,09	5,4	1,62±0,13	8,7
ЯЦВ		0,39±0,04	9,9	0,90±0,34*	37,9	1,27±0,20* <sub>#</sub>	15,9

Примітки: 1) кл – клітини, я – ядра; 2) статистично значима різниця між показниками парасолькових клітин і клітин глибших шарів уротелію (\*), а також між клітинами проміжного і базального шарів (#) ( $p<0,05$ ).

Таким чином встановлено, що з кількісних показників, які ми визначали на гістологічному рівні, статистично значиму різницю між клітинами різних шарів ПЕ мають тільки такі морфометричні ознаки як площа уротеліоцитів та їхніх ядер.

Ми також встановили, що ЯЦВ клітин ПЕ прогресивно збільшується від люмінальної поверхні СМ до БМ уротеліального пласта. Водночас відмічається надто висока мінливість цього показника для клітин проміжного шару ПЕ

( $C_v=37,9\%$ ), що вказує на значну неоднорідність його клітинного складу (у поверхневому і базальному шарах уротелію коефіцієнт варіації ЯЦВ клітин становить відповідно тільки 9,9 і 15,9 %). До того ж під світловим мікроскопом серед клітин проміжного шару ПЕ спостерігаються великі уротеліоцити з малими ядрами і малі – із великими.

Виходячи з вищесказаного, був проведений кластерний аналіз, який виділив серед клітинного складу ПЕ СМ щурів чотири групи уротеліоцитів – кластери (КЛ). Для цього використали агломеративний ієрархічний метод кластерного аналізу Варда. Кластеризацію проводили за площею уротеліоцитів та їхніх ядер. Результати аналізу представлені у вигляді дендрограмами (рис. 3.6).

Вертикальна вісь дендрограми являє собою вісь міжкластерних відстаней, а на горизонтальній осі відмічені номери елементів, які покроково об'єднуються. Горизонтальні лінії з'єднують вертикальні відрізки, що виходять із центрів КЛ після кожного кроку об'єднання. Із дендрограми видно, що на передостанньому кроці вперше відбувся значний скачок у зміні міжкластерних відстаней – у межах 400–700 одиниць (на попередніх кроках ці відстані є меншими – від 200 до 300 одиниць). Саме на такому кроці рекомендується проводити розрізання дендрограми для виділення кількості КЛ [103]. У результаті отримано чотири КЛ, які виділені червоною лінією.

Для подальшого кластерного аналізу був вибраний метод k-середніх Мак-Кіна (алгоритм Hartigan-Wong), який дозволяє створити кількість КЛ, що задається так, щоб КЛ були максимально різними між собою, наскільки це можливо. Отримані значення метричних показників клітин різних КЛ представлені в табл. 3.2. Із таблиці видно, що площа уротеліоцитів, як і їхніх ядер, зростає з кожним наступним номером кластера. Так, площа уротеліоцитів та їхніх ядер КЛ 2 збільшується, у порівнянні з такими КЛ 1, відповідно в 1,48 і 1,46 раза ( $p<0,001$ ), а КЛ 3 є більшою в 1,37 і 1,19 раза ( $p<0,001$ ) за відповідні показники КЛ 2, але меншими в 1,35 і 1,16 раза ( $p<0,001$ ) від даних КЛ 4.

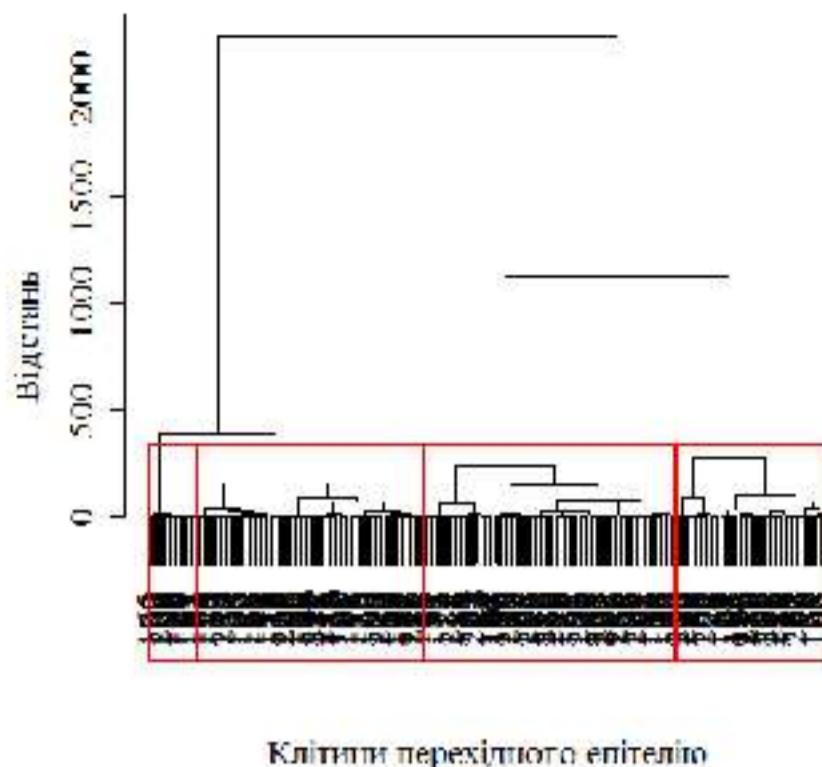


Рис. 3.6. Дендрограма кластеризації клітинного складу перехідного епітелію (евклідова метрика, метод Варда). Червоною лінією окреслені чотири кластери.

*Таблиця 3.2*

**Метричні показники клітин кластерів перехідного епітелію сечового міхура щурів у нормі**

КЛ клітин	Площа клітин, мкм <sup>2</sup>		Площа ядер, мкм <sup>2</sup>		ЯЦВ		% клітин кожного КЛ
	ПЕ	Mean±SD	C <sub>v</sub> , %	Mean±SD	C <sub>v</sub> , %	Mean±SD	C <sub>v</sub> , %
КЛ 4	115,6±11,18	9,7	36,7±7,84	21,4	0,49±0,18	35,9	15,35
КЛ 3	85,4±7,48	8,8	31,7±6,58	20,7	0,62±0,20	32,9	34,22
КЛ 2	62,5±6,21	9,9	26,8±5,05	18,9	0,79±0,28	34,7	39,47
КЛ 1	42,2±5,09	12,1	18,3±4,79	26,2	0,81±0,30	37,7	10,96

Примітки: КЛ – кластери; ПЕ – перехідний епітелій; ЯЦВ – ядерно-цитоплазматичне відношення.

При цьому площа ядер є показником високомінливим, а площа клітин – помірномінливим, на що вказують їхні коефіцієнти варіацій. Найбільш варіабельними є клітини та їхні ядра КЛ 1, водночас його уротеліоцити та їхні

ядра за площами – найменші. Значення ЯЦВ є найбільш мінливими серед показників, наведених у табл. 3.2, і прогресивно збільшуються в напрямку до базальної мембрани ПЕ так, що ЯЦВ клітин КЛ 4 є меншим від такого КЛ 1 в 1,65 раза ( $p<0,001$ ). Це вказує на те, що з клітин ПЕ найменш диференційованими є уротеліоцити КЛ 1, а найбільш – клітини КЛ 4. Між відсотками сукупної вибірки клітин, які формують КЛ 1 і 2, а також КЛ 3 і 4 наявна значима різниця ( $p<0,001$ ), але частки клітин, що припадають на КЛ 1 і 4 та КЛ 2 і 3 між собою значимо не відрізняються ( $p>0,05$ ). Тобто, наявна певна структурно-функціональна рівновага між клітинним складом КЛ 1 і 4 та КЛ 2 і 3.

Для встановлення адекватності проведеного кластерного аналізу важливо порівняти отримані показники кожного КЛ між собою, використовуючи попарне множинне порівняння для кожного показника. Порівнювали за чотирма показниками: площами уротеліоцитів та їхніх ядер, ЯЦВ і відсотком клітин, які формують кожний кластер. У нашому випадку таких порівнянь за кожним метричним показником шість. Результати проведено попарного множинного порівняння представлені в табл. 3.3.

Із табл. 3.3 видно, що значима різниця відсутня між відсотками клітин КЛ 1 і 4 та відсотками клітин КЛ 2 і 3. Водночас такі показники як площа клітин, площа їхніх ядер і ЯЦВ між собою статистично значимо різняться в усіх КЛ. Останнє вказує на те, що кластерний аналіз клітин ПЕ проведений коректно. Окрім того, на ступінь адекватності проведеної кластеризації вказує також відношення суми квадратів стандартних відхилень кожного КЛ до квадрату стандартного відхилення всієї вибірки, яке вираховували у відсотках. Чим більше це відношення, тим кращий результат. У дослідженнях, які були проведенні, воно становило 70–85 %, що вказує на хороший результат.

На рис. 3.7 кластерна структура клітинного складу ПЕ СМ шурів представлена в координатному полі, де вісь абсцис – це площа клітин, а вісь ординат – площа їхніх ядер. Уротеліоцити кожного КЛ позначені маркерами

різного кольору: клітини КЛ 1, 2, 3 і 4, відповідно, – червоним, зеленим, синім і оранжевим кольорами.

*Таблиця 3.3*

**Результати попарного множинного порівняння показників різних кластерів клітин переходного епітелію**

Порівняння КЛ за	Досягнутий рівень статистичної значимості		
	КЛ 1	КЛ 2	КЛ 3
площею клітин			
КЛ 2	p<0,001	–	–
КЛ 3	p<0,001	p<0,001	–
КЛ 4	p<0,001	p<0,001	p<0,001
площею ядер			
КЛ 2	p<0,001	–	–
КЛ 3	p<0,001	p<0,001	–
КЛ 4	p<0,001	p<0,001	p<0,01
ЯЦВ			
КЛ 2	p<0,001	–	–
КЛ 3	p<0,001	p<0,001	–
КЛ 4	p<0,001	p<0,001	p<0,01
% клітин КЛ			
КЛ 2	p<0,001	–	–
КЛ 3	p<0,001	p>0,05	–
КЛ 4	p>0,05	p<0,01	p<0,01

На графіку КЛ розміщені поряд, але взаємно не перекриваються, що ще раз переконує в тому, що кластеризація проведена коректно. Маркером «зірочка» позначені центри КЛ, координати яких є середніми значеннями морфометричних показників. За формую КЛ видовжені, дещо нагадують еліпс, різняться між собою приблизно однаково як по осі абсцис, так і по осі ординат,

а їхні центри розміщені по висхідній прямій (ледь вигнутої в бік осі ординат). За площею, яку кластер займає в координатному полі, найменшим є КЛ 1, а найбільшим – КЛ 4. Натомість, найщільнішими є КЛ 2 і 3, а клітини КЛ 4 розташовані найбільш дифузно. До того ж, багато об'єктів останнього КЛ значно відхиляються від його центра, що свідчить про певну їхню аномальність. Такі елементи в літературі називаються викидами.

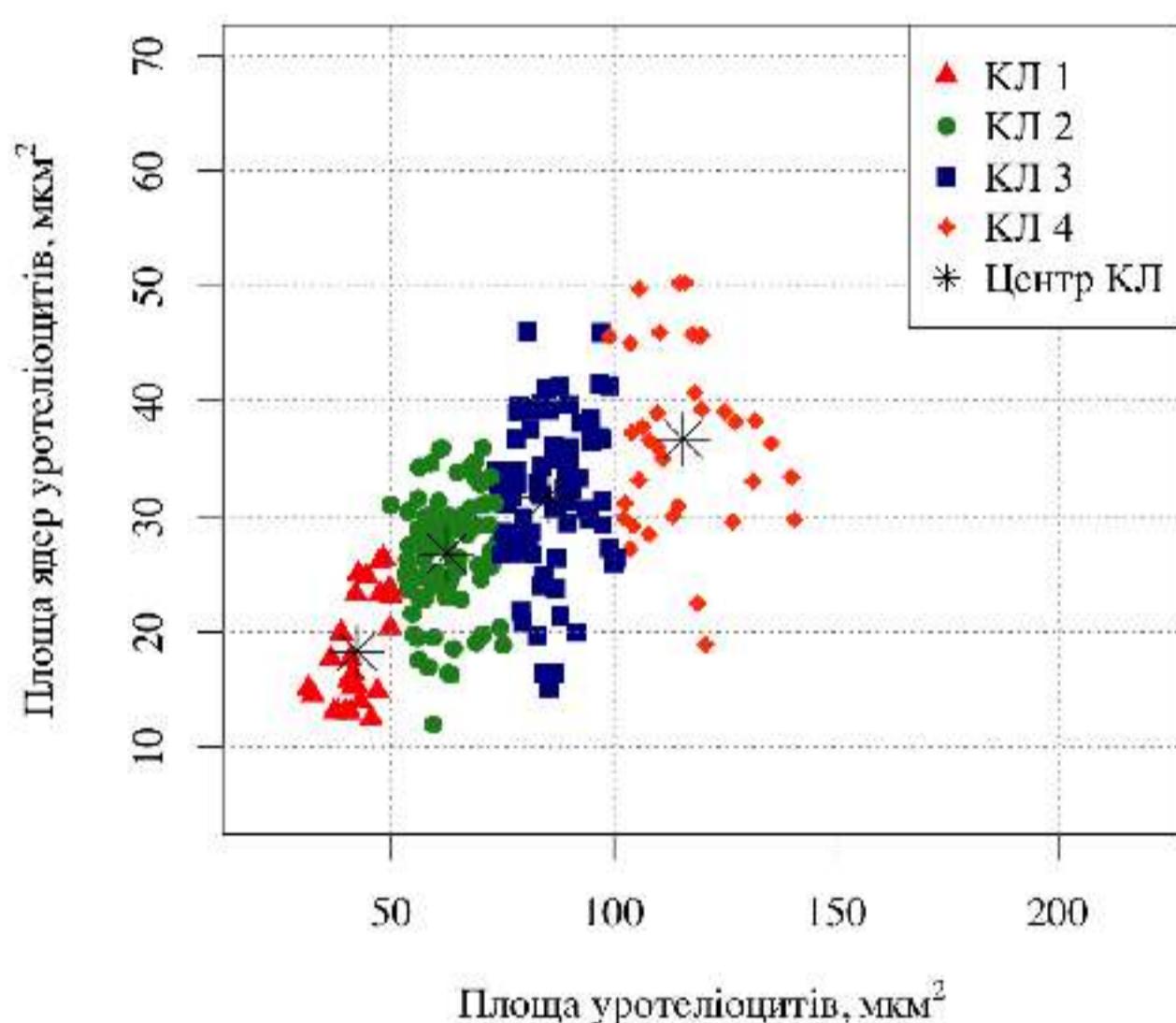


Рис. 3.7. Розміщення кластерів клітин уротелію сечового міхура шура в координатному полі в нормі. Метод k-середніх, алгоритм Hartigan-Wong.

Проведене нами ультраструктурне дослідження показало, що клітини поверхневого, проміжного та базального шарів ПЕ мають ряд характерних властивостей, які визначають їхнє функціональне призначення. Виявлена неоднорідність уротеліоцитів за вмістом і характером розподілу органел слугувала приводом для виділення високо-, помірно- і низькодиференційованих клітин ПЕ СМ (рис. 3.8).

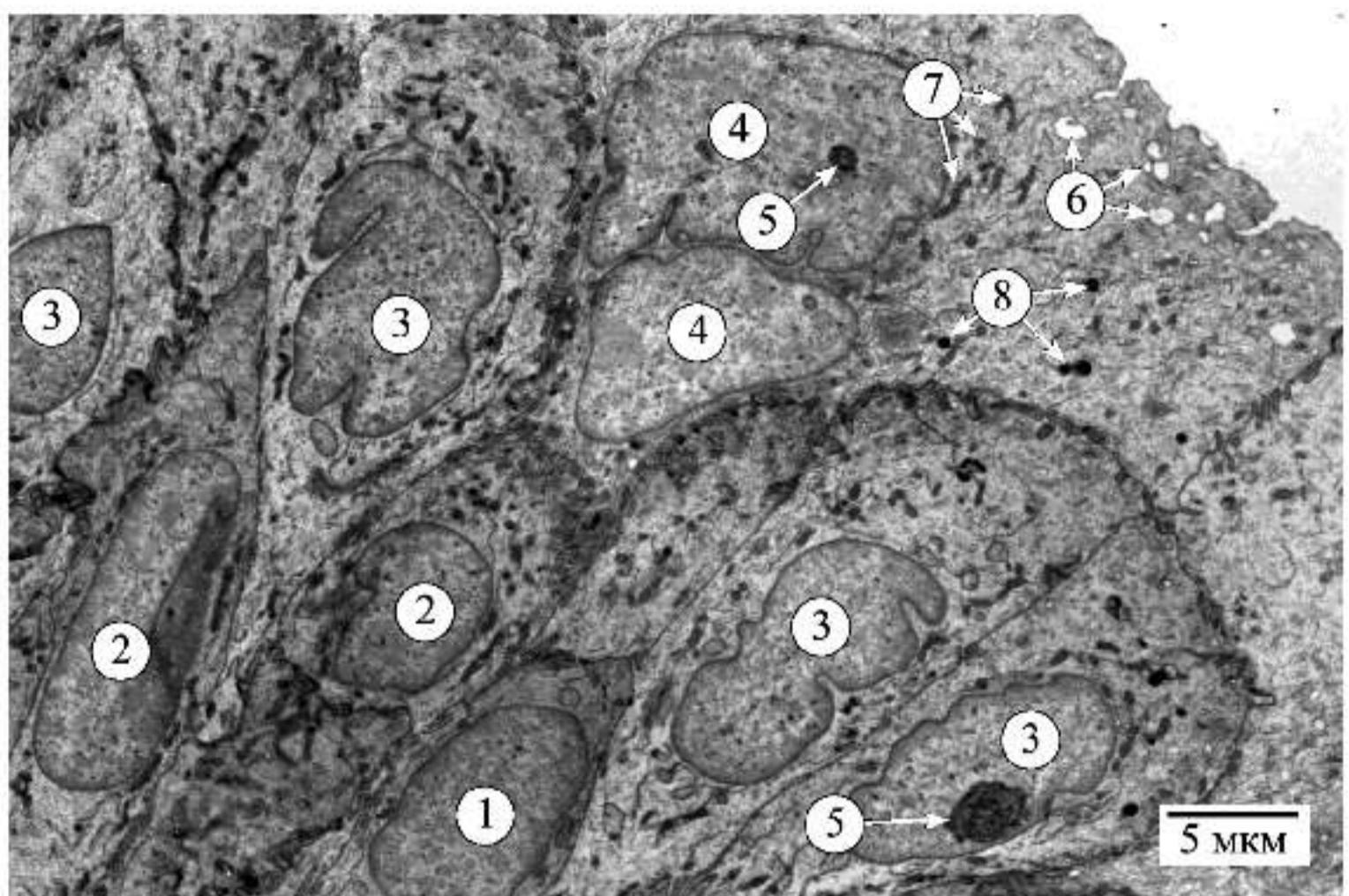


Рис. 3.8. Уротеліоцити різних кластерів переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі. Електронна мікрофотографія Збільшення:  $\times 1600$ .

Позначення: 1 – ядро уротеліоцита кластера 1; 2 – ядра уротеліоцитів кластера 2; 3 – ядра уротеліоцитів кластера 3; 4 – ядра парасолькової клітини; 5 – ядерця; 6 – адлюмінальні уротеліальні пухирці; 7 – мітохондрії; 8 – лізосоми.

Особливої уваги заслуговують поверхневі, представлені одним шаром, високодиференційовані парасолькові клітини (КЛ 4) (див. рис. 3.8). Вони характеризуються полярністю, тобто апікальним розташуванням більшості органел. Округле чи полігональне ядро розташоване базально і містить евхроматин. Ядерна оболонка рівна або злегка хвиляста, деколи утворює поодинокі неглибокі інвагінації. Ядерця є найменшими з усіх типів уротеліоцитів і розміщуються частіше в центральній частині нуклеоплазми.

Ці клітини вирізняються особливим рельєфом люмінальної ділянки плазмолеми – наявністю кутових структур (мікрогребінців), які чергуються з

серпоподібними інвагінаціями, що надає профілю плазмолеми фестончастого вигляду (рис. 3.9, також див. рис. 3.8).

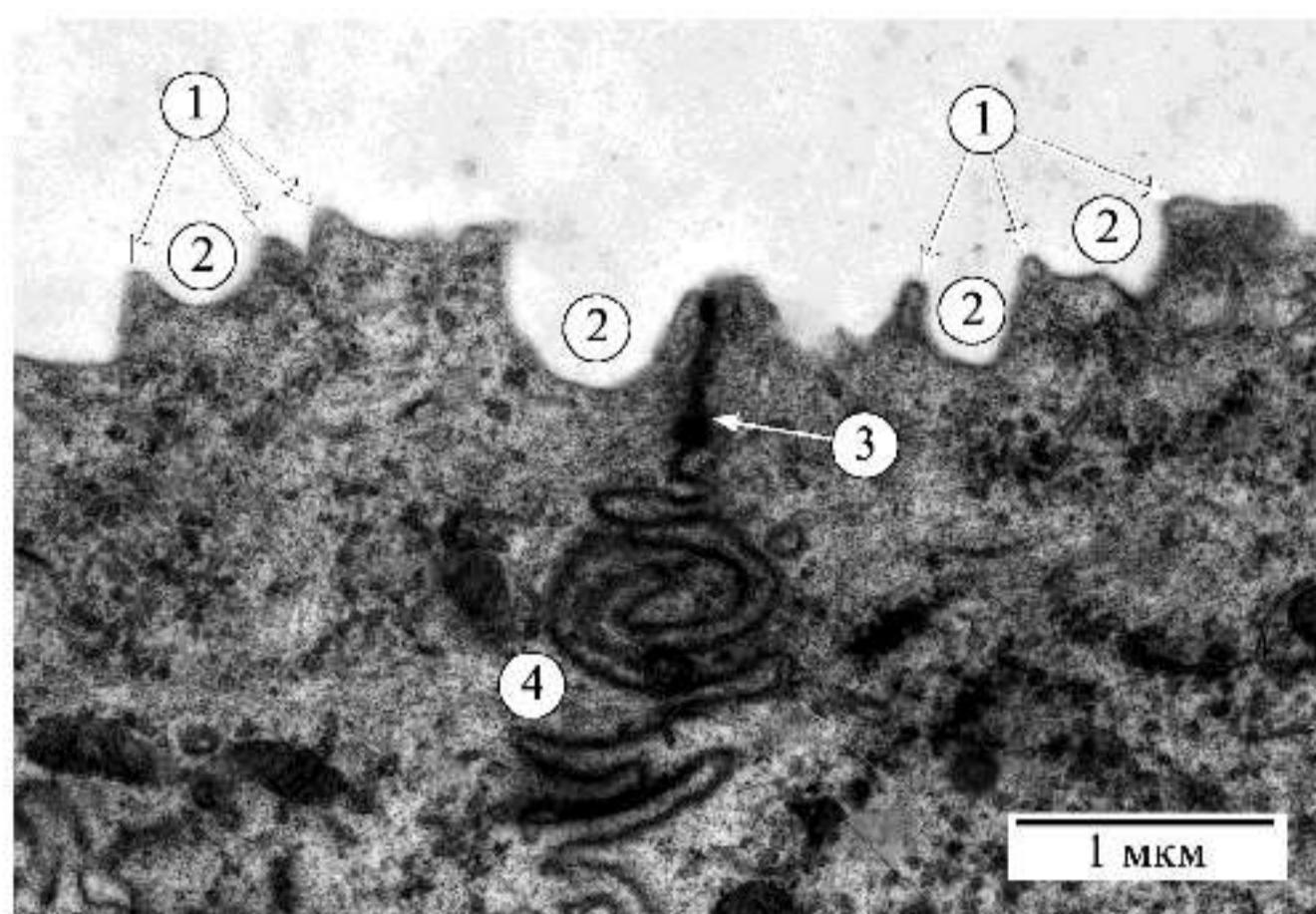


Рис. 3. 9. Апікальна частина парасолькової клітини. Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 16000$ .

Позначення: 1 – кутові структури; 2 – серпоподібні інвагінації; 3 – сполучний комплекс; 4 – пальцеподібні та зубчасті міжклітинні сполучення.

Між апікально-латеральними поверхнями плазмолеми наявний сполучний комплекс, який складається (у напрямку від люмінального до базального полюсів) із щільного сполучення (TJ, tight junction), злиплого сполучення (AJ, adhering junction) і однієї чи двох десмосом (D, desmosome). На зразках у ділянках щільного сполучення спостерігається піднятій валок, що виступає в просвіт СМ. Нижче сполучного комплексу бічні ділянки плазмолеми сусідніх парасолькових клітин утворюють злиплі міжклітинні сполучення у вигляді пальцеподібних чи, рідше, зубчастих простих міжклітинних сполучень (див. рис. 3.8). Клітинні оболонки з'єднуються також за допомогою десмосом.

Подібним чином сполучаються поверхневі клітини з клітинами проміжного шару ПЕ.

Цитоплазма парасолькових клітин має електроннопрозорий матрикс. Серед органел переважають адлюмінальні уротеліальні пухирці, лізосоми і мітохондрії. Адлюмінальні уротеліальні пухирці є не тільки веретеноподібної форми, але й круглими, овальними, сплющеними, полігональними, дископодібними та витягнутими (рис. 3.10; також див. рис. 3.8). Характерною ознакою є наявність пухирців Гольджі – транспортерів лізосомних ензимів (первинних лізосом), які оточені біомембрanoю, і автофаголізосом (вторинних лізосом). Автофаголізосоми облямовані симетричною мембрanoю і містять фрагменти мембран і пухирців, з яких одні заповнені електроннощільною речовиною, а інші – електроннопрозорі. Мітохондрій небагато, вони мають матрикс середньої електронної щільності і мітохондріальні гребені. ГрЕС розвинута добре і представлена окремими трубочками і цистернами різної довжини, до яких з боку гіалоплазми прикріплені рибосоми. Вільних рибосом багато, полірибосом менше. Зазначені органели найчастіше розміщаються у верхівковій частині парасолькових клітин, але можуть розміщуватися в основній і, рідше, у бокових частинах. КГ розвинутий добре (рис. 3.11). У залежності від глибини зрізу парасолькової клітини, він може бути представлений рядами вузьких трубочок або окремими трубочками і множинними транспортними пухирцями різної величини. В окремих клітинах деякі пухирці мають потовщену мембрану підвищеної електронної щільності. У різних ділянках присутня різна кількість глікогену у вигляді окремих бета-гранул – електроннощільних гранул, дещо світліших і більших за рибосоми.

Уротеліоцити КЛ 3 – це клітини проміжного шару ПЕ, які є меншими за розмірами від парасолькових клітин, розташовуються під ними та мало відрізняються від останніх за якісними ознаками (див. рис. 3.8). Основна їхня відмінність від клітин КЛ 4 виявляється за вмістом і виразністю органел. Полярність виражена менше.

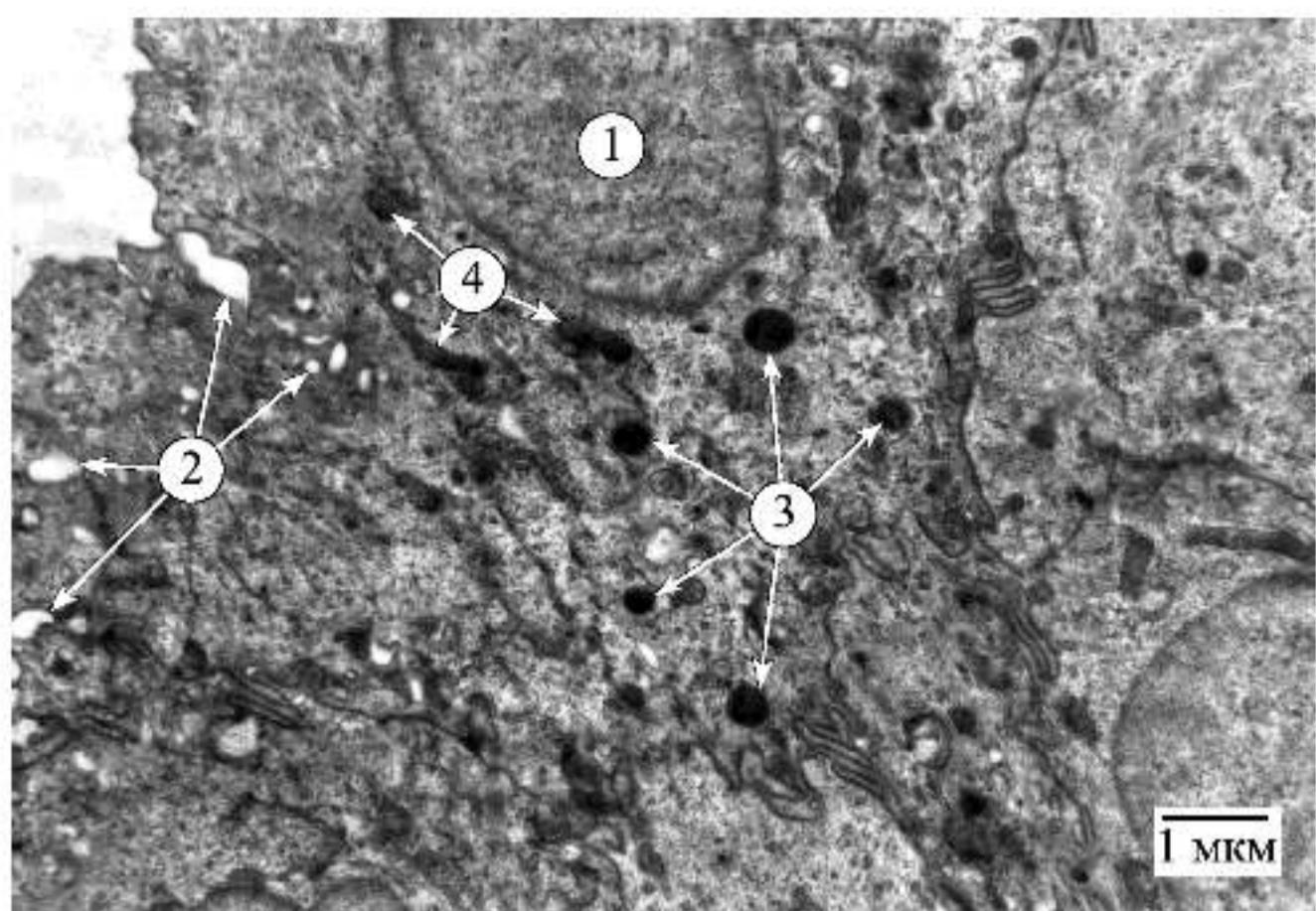


Рис. 3.10. Ультраструктура парасолькової клітини в нормі. Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 6400$ .

Позначення: 1 – ядро 2 – уротеліальні пухирці 3 – лізосоми; 4 – мітохондрії.

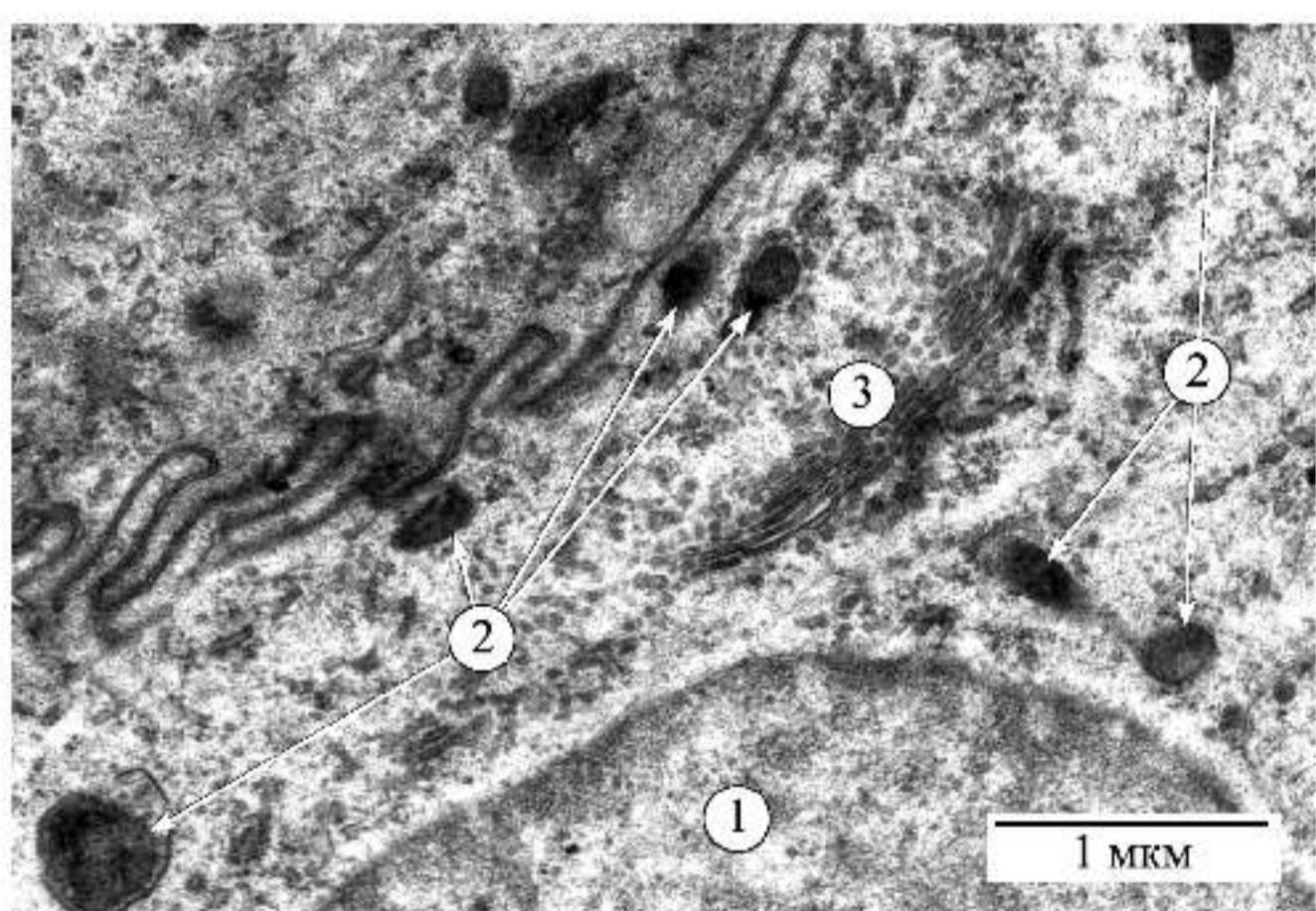


Рис. 3.11. Комплекс Гольджі та автофаголізосоми парасолькової клітини. Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 16000$ .

Позначення: 1 – ядро 2 – автофаголізосоми; 3 – комплекс Гольджі.

Ядра частіше овальні, рідше круглі, частіше розміщені в центральній частині клітин і містять евхроматин. Ядерна оболонка багатьох клітин більш хвиляста, ніж парасолькових, часто утворює від однієї до трьох інвагінацій. Ядерця більші за такі від клітин КЛ 4 з добре видимою зернистою та волокнистою частинами, розташовуються частіше в периферійній частині нуклеоплазми (рис. 3.12, див. рис. 3.8). Плазмолеми цих клітин із сусідніми уротеліоцитами формують злиплі міжклітинні сполучення у вигляді простих, пальцеподібних і, рідше, зубчастих сполучень. Міжклітинні сполучення можуть бути представлені також десмосомами, які розміщуються в ділянках поряд розташованих двох плазмолем.

Цитоматрикс клітин КЛ 3 електроннопрозорий. Більшість органел, особливо лізосом, розміщені в апікальній частині цитоплазми, а також, у меншій мірі, в основній і бокових частинах. Численні дрібні уротеліальні пухирці розміщені під верхівкою частиною плазмолеми. Первінних лізосом менше і набагато менше автотаголізосом. Мітохондрії мають різну форму, розміри, щільність та погано виражені мітохондріальні гребені. ГрЕС та вміст рибосом і полірибосом такі ж як і в клітин КЛ 4. У біляядерній зоні знаходиться добре розвинутий КГ (рис. 3.12), який представлений кількома паралельними трубочками і численними транспортними пухирцями. Глікоген визначається у вигляді бета-гранул. Описані уротеліоцити КЛ 3 за ультраструктурними ознаками можуть належати до високодиференційованих клітин.

Клітини КЛ 2 також належать до клітин проміжного шару ПЕ, але знаходяться більше до клітин основного шару (рис. 3.13). Вони є меншими від уротеліоцитів КЛ 3, а їхня поздовжня вісь знаходиться під кутом або перпендикулярно до БМ уротелію. Ядра клітин КЛ 2 можуть бути круглими, овальними або довгастими, містять евхроматин і розташовуються в більшості в центрі клітин, часто виявляється загостреність їхнього верхівкового полюса (див. рис. 3.8). Ядерна оболонка частіше рівна, хвилястість та неглибокі інвагінації трапляються рідко. Ядерця невеликі, розміщуються в нуклеоплазмі по-різному.

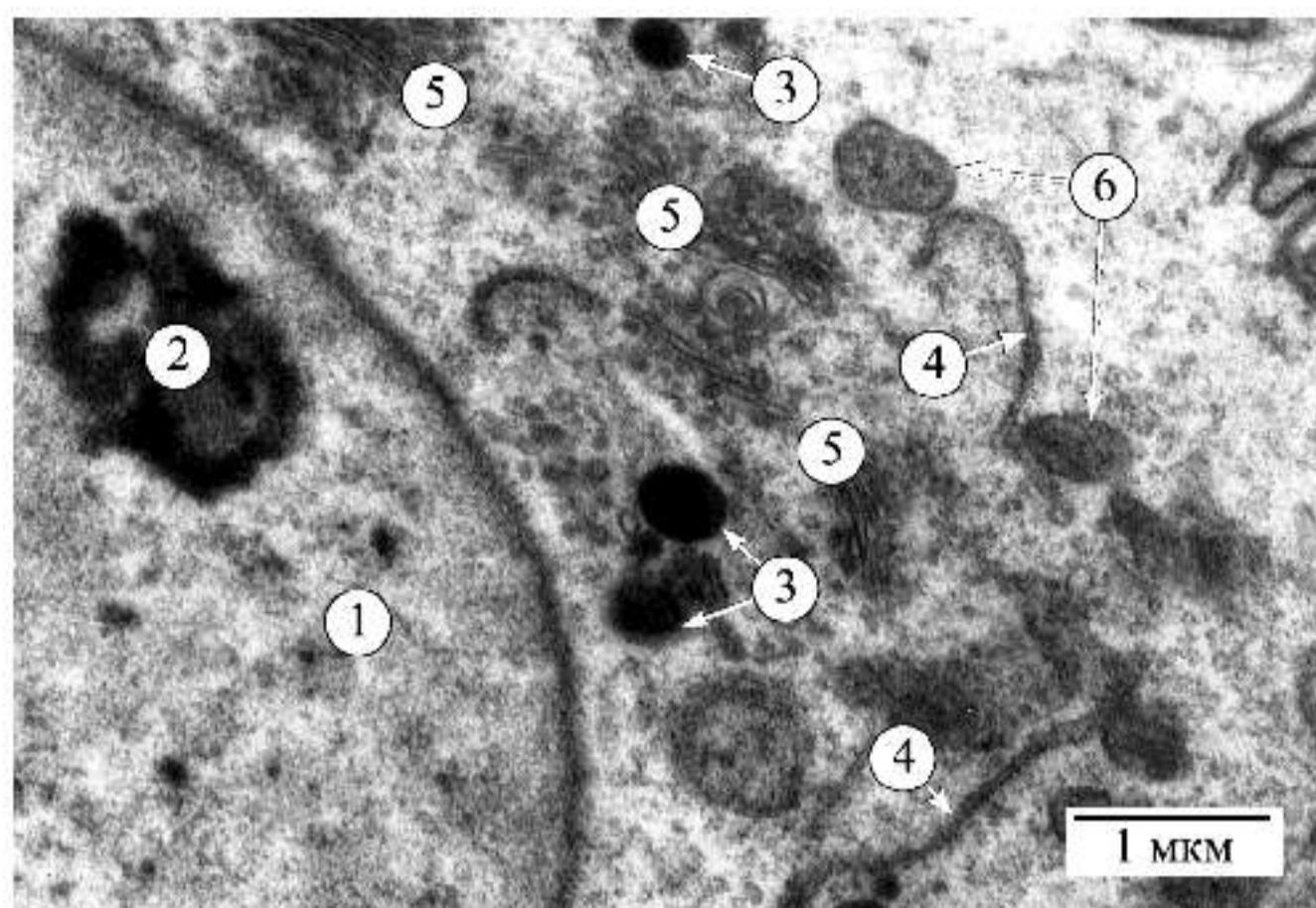


Рис. 3.12. Виражений комплекс Гольджі в уротеліоцитах кластера 3. Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 16000$ .

Позначення: 1 – ядро; 2 – ядерце; 3 – пухирці-транспортери лізосомних ензимів; 4 – гранулярна ендоплазматична сітка; 5 – комплекс Гольджі; 6 – мітохондрії.

Рідко виявляються більш великі ядерця, в яких чітко проглядаються зерниста та волокниста частини. Плазмолеми сусідніх уротеліоцитів формують прості та пальцеподібні міжклітинні сполучення.

Матрикс цитоплазми уротеліоцитів КЛ 2 електроннопрозорий. Серед органел переважають мітохондрії, які, у залежності від площини їхнього зрізу, є круглими чи довгастими з видимими мітохондріальними гребенями (див рис. 3.13). Уротеліальні пухирці представлені невеликою кількістю більш дрібніших пухирців, ніж у клітинах КЛ 3. Пухирці-транспортери лізосомних ензимів ідентифікуються рідко. Автофаголізосоми відсутні. ГрЕС менш розвинута і представлена невеликою кількістю дрібних та середніх розмірів трубочок. КГ також менш розвинутий і визначається окремими короткими трубочками та невеликою кількістю пухирців. Кількість вільних рибосом і полісом незначна.

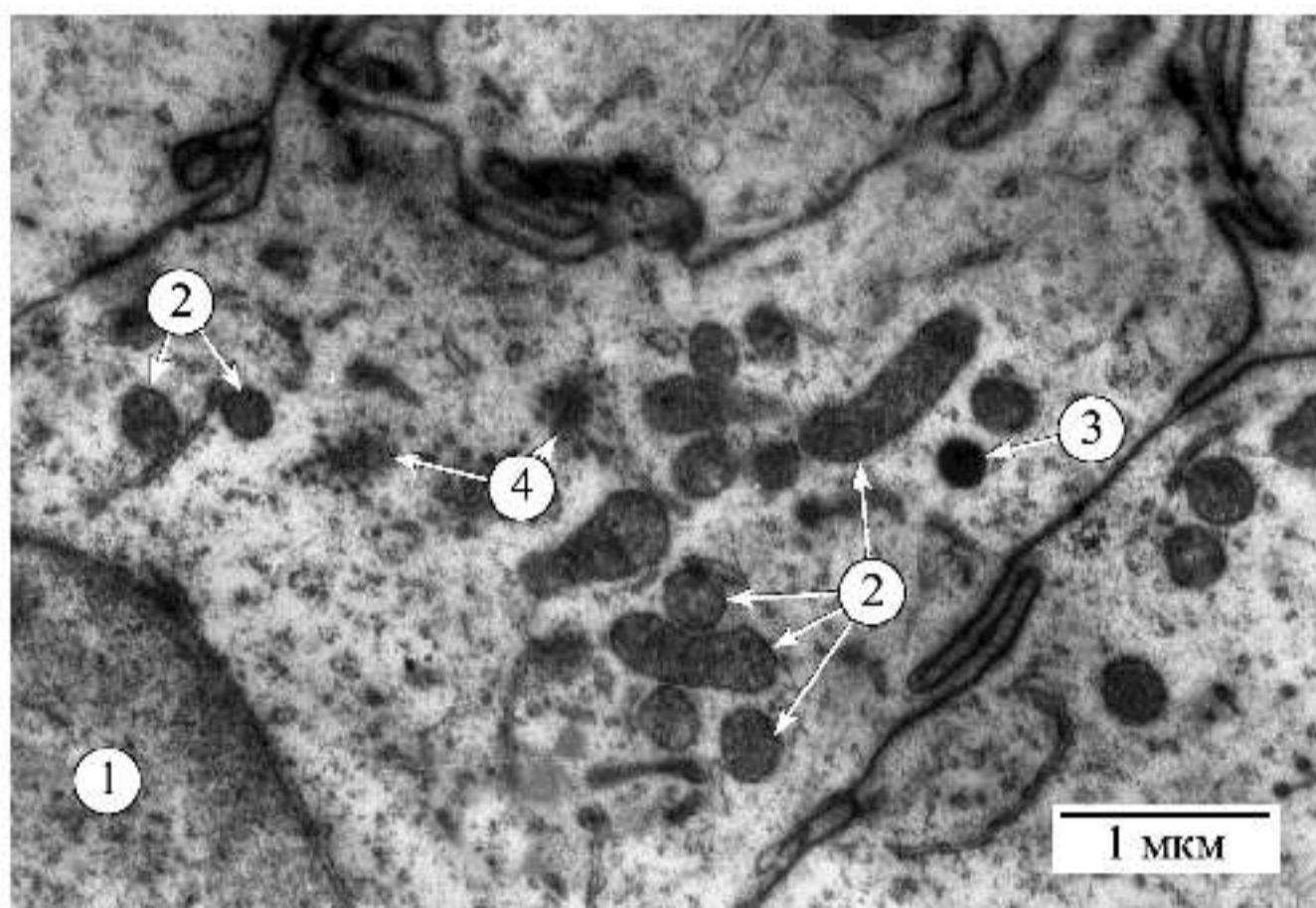


Рис. 3.13. Численні мітохондрії клітини кластера 2. Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 12000$ .

Позначення: 1 – ядро 2 – мітохондрії; 3 – лізосоми; 4 – комплекс Гольджі.

Наявні в невеликій кількості бета-гранули глікогену. Клітини КЛ 3 ми відносимо до помірнодиференційованих уротеліоцитів.

Уротеліоцити КЛ 1 – це клітини основного (базального) шару ПЕ, які безпосередньо прикріплюються до БМ уротелію за допомогою напівдесмосом (рис. 3.14). Латеральні поверхні плазмолем сусідніх клітин з'єднуються простими міжклітинними сполученнями, десмосомами і рідко – пальцеподібними. Велике ядро, яке займає більшу частину клітини, містить евхроматин, який більше конденсується під ядерною оболонкою та біля ядерця. Ядерна оболонка має рівні контури, зрідка може бути ледь хвилястою. Ядра частіше довгастої форми і розміщуються як паралельно до БМ уротелію, так і перпендикулярно до неї. Ядра можуть бути круглими. В уротеліоцитах вони найчастіше розташовані по центру. Ядра можуть також знаходитися у верхівковій частині клітини. Останні уротеліоцити мають більший вміст

цитоплазматичних органел, які розміщаються тільки в основній частині цитоплазми. У невеликих ядерцях переважає зерниста частина.

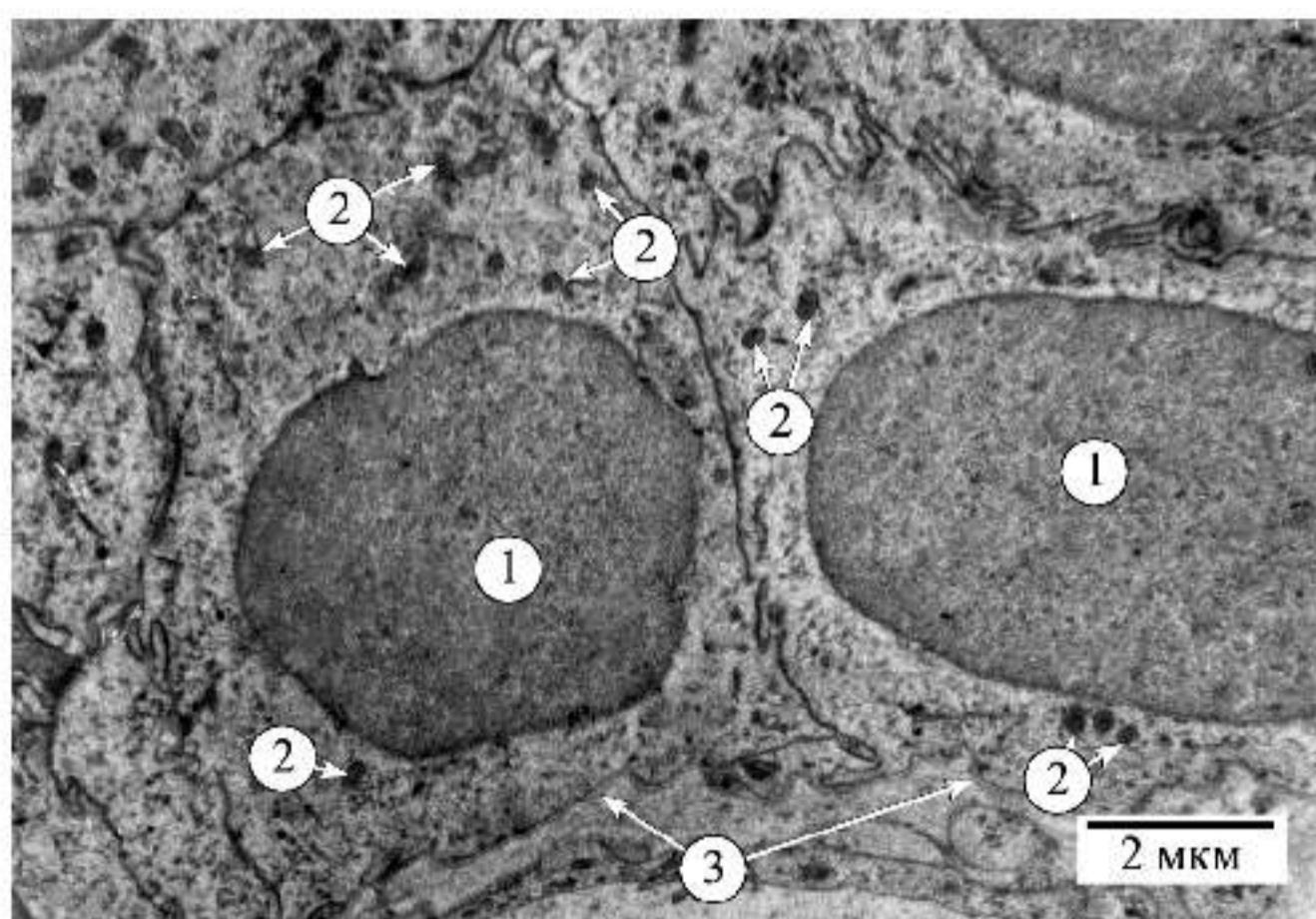


Рис. 3.14. Типові уротеліоцити основного шару перехідного епітелію сечового міхура. Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 4000$ .

Позначення: 1 – ядра; 2 – мітохондрії; 3 – базальна мембрана уротелію.

Цитоматрикс клітин КЛ 1 електроннопрозорий (див. рис. 3.14). Серед органел переважають малочисленні мітохондрії зі світлим матриксом і слаборозвинутими мітохондріальними гребенями. Автофаголізосоми відсутні. Наявні лише поодинокі і дрібні пухирці-транспортери лізосомних ензимів. ГрЕС слаборозвинута і представлена невеликою кількістю коротких трубочок і цистерн. КГ розвинутий недостатньо і визначається за наявністю невеликої кількості пухирців та розташовується між апікальною частиною плазмолеми і ядром. Гранули глікогену відсутні. Вільних рибосом і полірибосом багато. Наявні дрібні піноцитозні пухирці, які розміщаються більше на межі з БМ. Уротеліоцити базального шару ПЕ СМ належать до низькодиференційованих клітин.

На ультраструктурному рівні ми визначили, що БМ уротелю СМ щурів у нормі становить  $(84,34 \pm 26,61)$  нм.

### 3.2. Характеристика гладких міоцитів і колагенових волокон за результатами методу кольорової сегентації та електронномікроскопічного дослідження

Функцію СМ пов'язують зі скоротливою здатністю м'яза-випорожнювача міхура, вмістом колагенових волокон і структурно-функціональним станом уротелю. Ураховуючи це, ми визначали на гістологічних зразках СМ, забарвлених за методом Массона (рис. 3.15), площу (%) цих складових його стінки. Дослідження показало, що відсоток площі, яка припадає на уротелій становить  $(7,62 \pm 2,24)$  %, а на пучки колагенових волокон і гладких міоцитів, відповідно  $(38,57 \pm 6,13)$  % і  $(53,81 \pm 6,66)$  %.

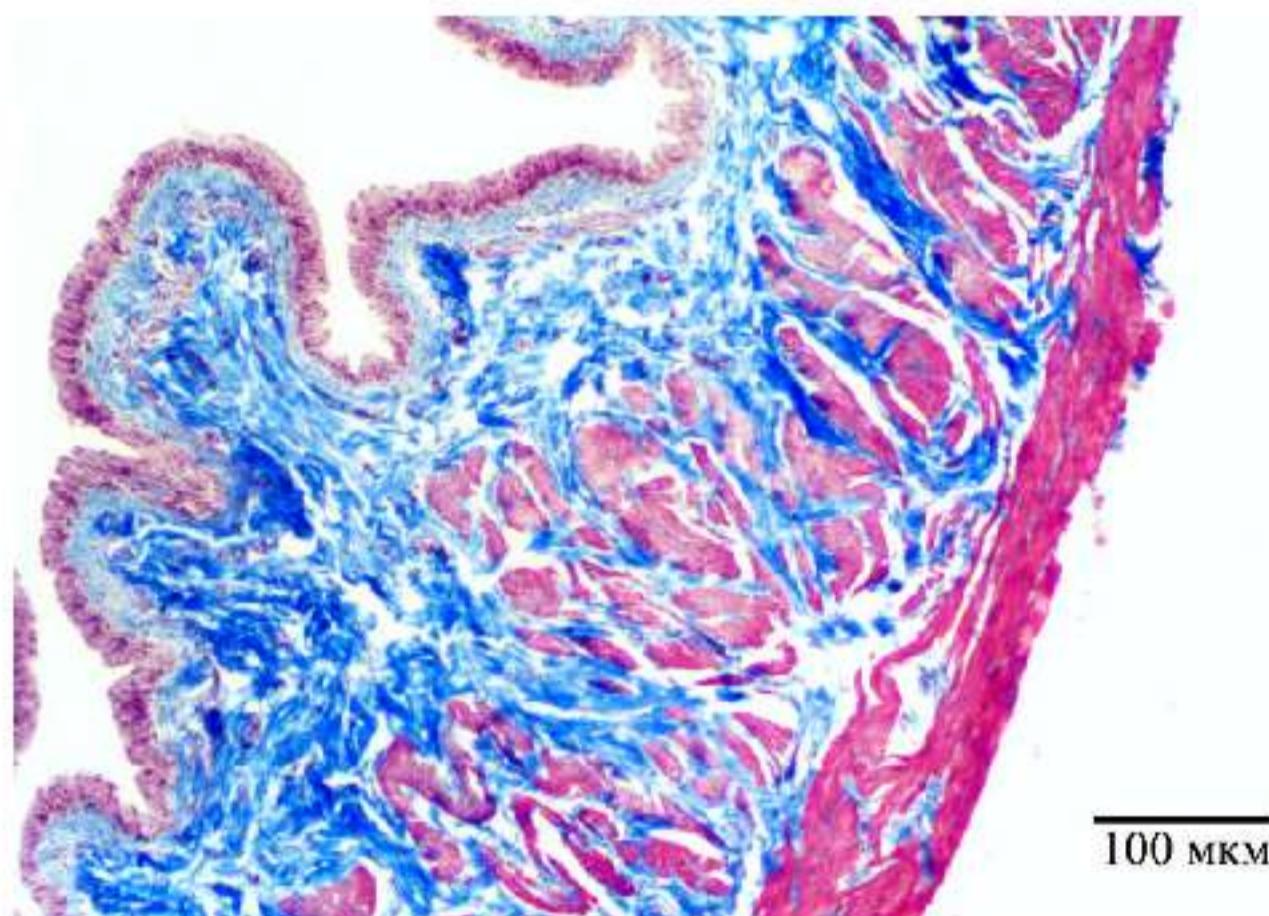


Рис. 3.15. Гладкі міоцити (червоний колір), колагенові волокна (синій колір), уротелій (рожевий колір із фіолетовим відтінком) на екваторіальних зразках стінки сечового міхура щурів у нормі. Забарвлення: трихромний метод за Массоном. Мікрофотографія. Збільшення: об.10, ок. 10

За результатами наших досліджень у щурів у нормі ультраструктурно найчастіше виявляються світлі гладкі міоцити (рис. 3.16 а). Їхня сарколема чітко визначається, має хвилястий хід, оточена базальною мембраною. Товсті і тонкі міофіламенти рівномірно розміщені по площині зрізу. Органели гладких міоцитів знаходяться біля полюсів їхніх ядер. Мітохондрії розміщуються також по всій площині зрізу міоцитів і біля їхньої сарколеми. Вони світлі, овальні та видовжені за формуєю і дрібні та середні за розмірами. Трубочки і цистерни ГрЕС короткі, нечисленні. ГЕС має сплющені трубочки і дрібні мішечки. КГ представлений, в основному, плоскими цистернами, короткими і вузькими трубочками та дрібними і середніми розмірів пухирцями. Біля мітохондрій розташовуються в невеликій кількості бета-гранули глікогену, які виглядають, у порівнянні з вільними рибосомами, менш електроннощільними і більшими за розмірами. Кавеоли і піноцитозні пухирці, які розміщені біля сарколеми, у помірній кількості. Міжклітинні простори вузькі і багаті на колагенові та еластичні волокна. У міжклітинній речовині часто ідентифікуються фіробласти і фіброцити (див. рис. 3.16 б). Спостерігаються ділянки стінки СМ, в яких можна бачити гладкі міоцити різної електронної щільності, при цьому органели, принаймні мітохондрії, міофіламенти і піноцитозні пухирці, можна розрізняти в кожному з них (рис. 3.17).

### **3.3 Морфологічні, морфометричні та ультраструктурні характеристики внутрішньоорганних гемосудин сечового міхура щурів у нормі**

При препаруванні встановлено, що СМ щурів-самців кровопостачається парною краніальною сечоміхуровою артерією, яка може відходити як від загальної, так і внутрішньої клубової артерії. Ця артерія прямує вентрально, кровопостачає верхівку та вентральну поверхню тіла СМ. Краніальна сечоміхурова артерія на своєму початку віддає каудальну сечоміхурову артерію, яка прямує дорзально і кровопостачає дорзальну поверхню тіла і дно СМ.

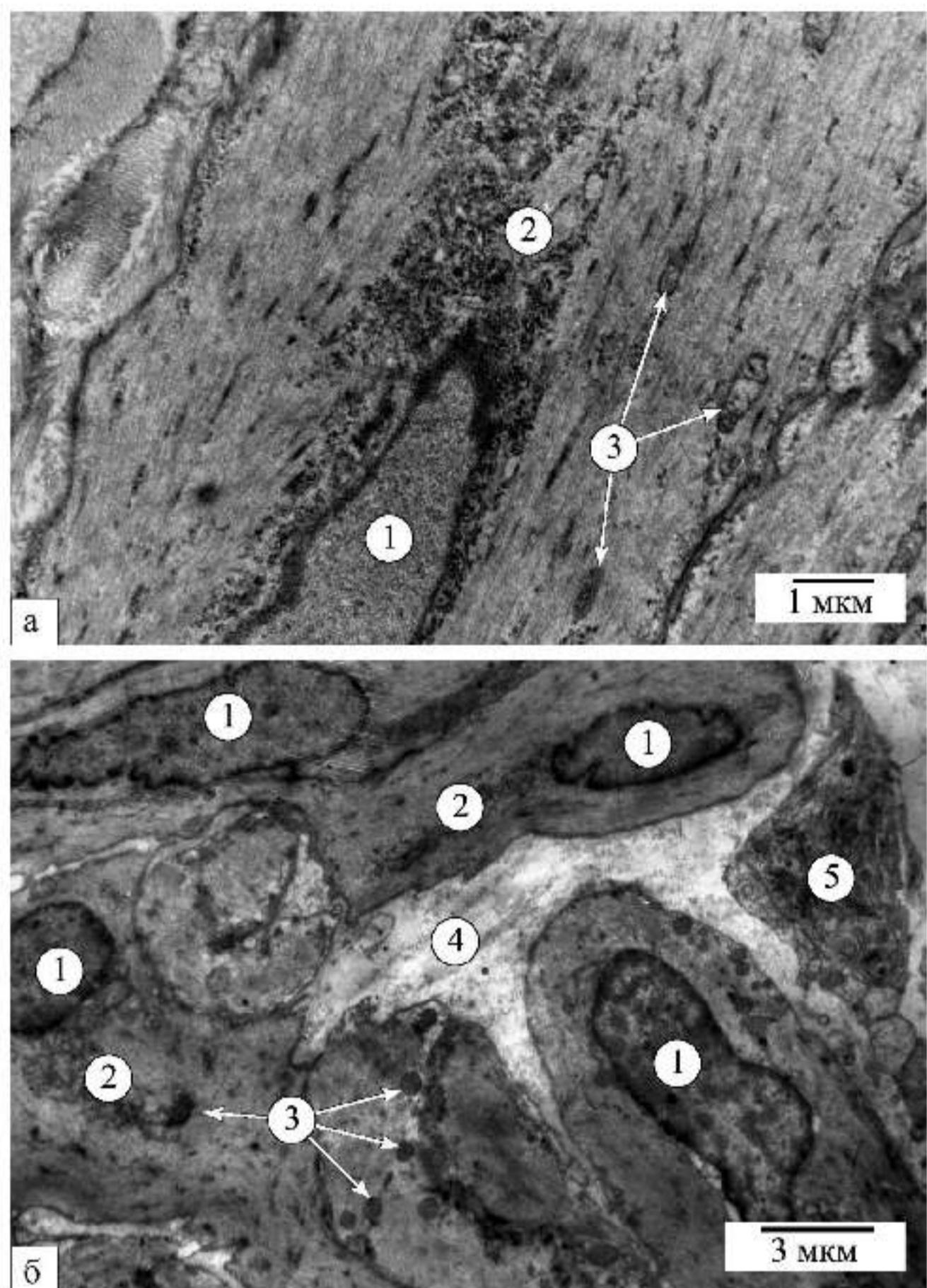


Рис. 3.16. Ультраструктурна будова світлого гладкого міоцита сечового міхура щурів у нормі (а). Група гладких міоцитів із фібробластом (б). Електронна мікрофотографія. Збільшення: а)  $\times 6400$ ; б)  $\times 3200$ .

Позначення: 1 – ядро, 2 – органели біля полюса ядра, 3 – мітохондрії, 4 – міжклітинний простір, 5 – фібробласти.

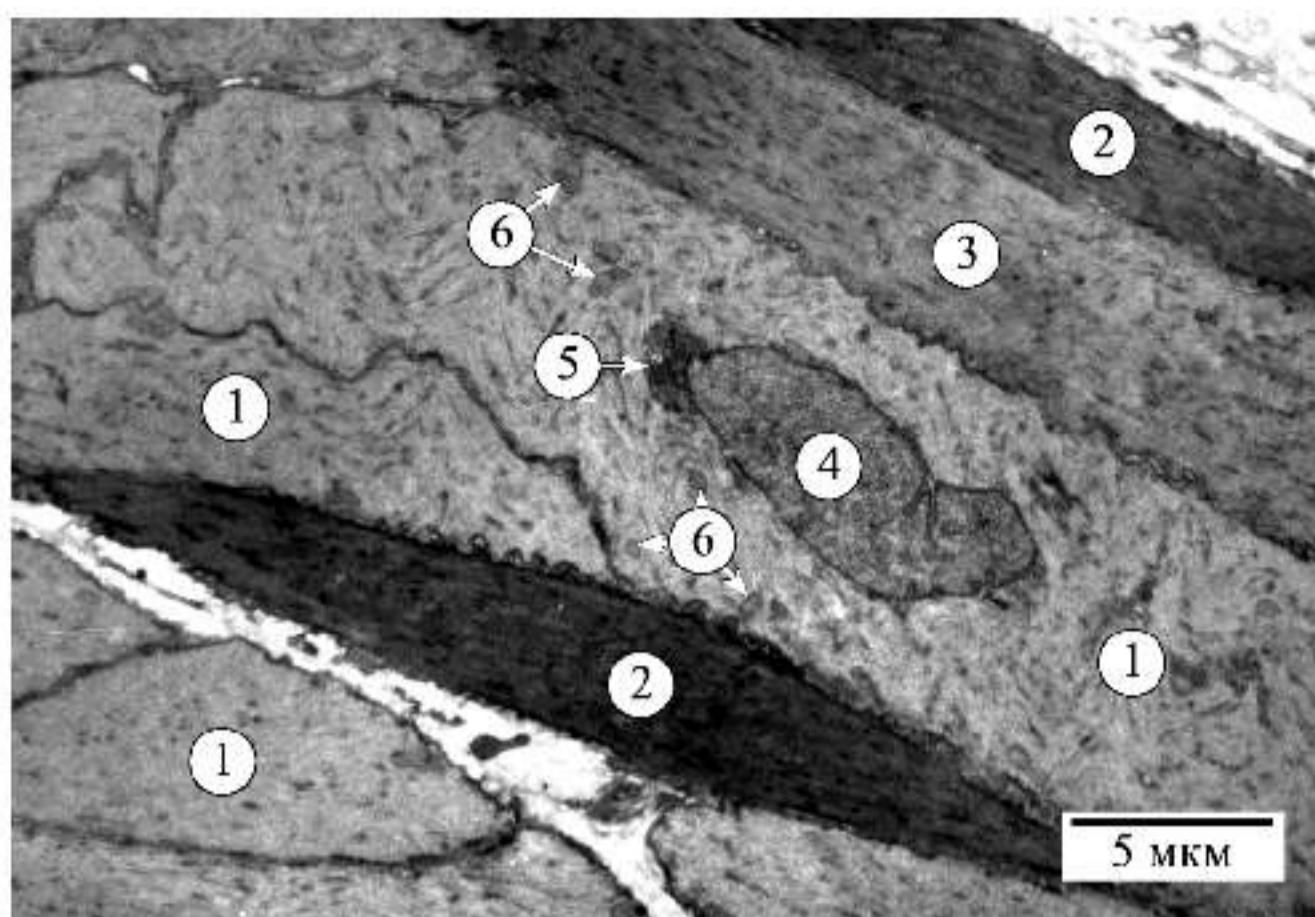


Рис. 3.17. Гладкі міоцити сечового міхура різної електронної щільності з частковим скороченням світлого міоцита (у центрі). Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 2400$ .

Позначення: 1 – світлі міоцити, 2 – темні міоцити, 3 – міоцити середньої електронної щільності, 4 – ядро, 5 – органели біля полюса ядра, 6 – мітохондрії.

Невелика кількість дрібних гілок відходить від кровоносних судин жирової тканини, що оточує СМ, і адвентиційної оболонки прямої кишki. Венозний відток від СМ здійснюється в каудальну і краніальну сечоміхурові вени, з яких друга впадає в першу, а та – у загальну клубову вену.

Указані вище судини утворюють адвентиційно/серозне сплетення (див. рис. 3.1) від якого відходять артеріоли, які розпадаються на капіляри, що живлять гладкі міоцити (рис. 3.18 а). Це сплетення покидають також звивисті (вужчі) (рис. 3.18 б) і прямі (ширші) артерії (рис. 3.19 б), що проходять крізь м'язову оболонку і беруть участь у формуванні судинного сплетення слизової оболонки, яке розміщене в підслизому прошарку. Від останнього відгалужуються дрібні артеріоли, які розпадаються на гемокапіляри. Останні

мікросудини формують підуротеліальне гемомікроциркуляторне русло (ГМЦР) (рис. 3.19 а).

Особливу увагу ми приділили морфометрії судин підуротеліального ГМЦР, яке не тільки живить м'язову оболонку, ПЕ і власну пластинку слизової оболонки СМ, але й має безпосереднє відношення до нормального функціонування уротеліального клітинного бар'єра. Морфометрію артеріол, гемокапілярів і венул проводили за допомогою розроблених нами алгоритмів і комп'ютерної програми [70, 85]. Результати морфометрії представлена в табл. 3.4 і на рис. 3.20.

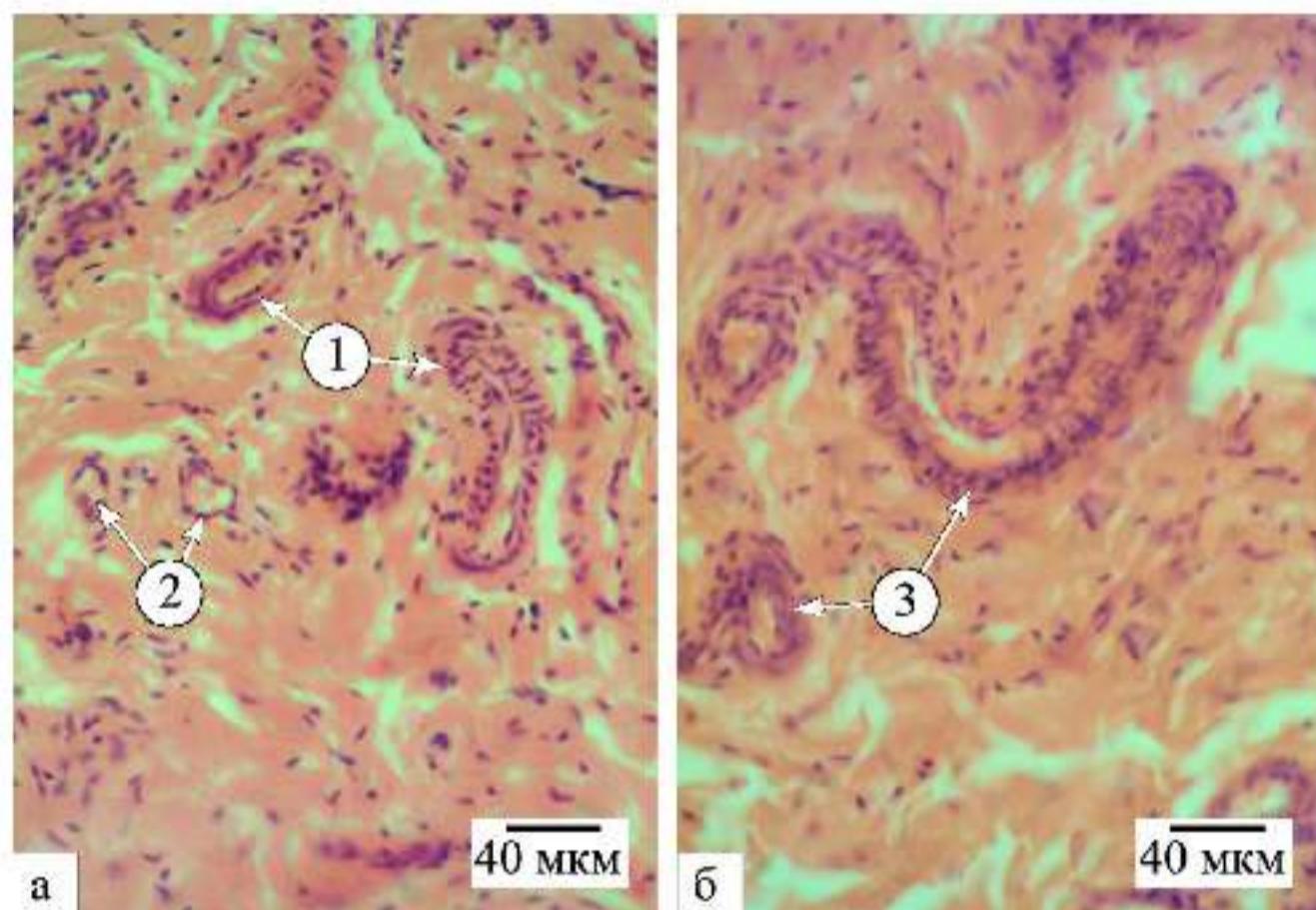


Рис 3.18. Гемосудини, які живлять і дренують м'язову оболонку (а). Артерії, які проходять через м'язову оболонку і формують геморусло слизової оболонки (б). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Збільшення: об.20, ок. 10.

Позначення: 1 – артеріоли; 2 – венули; 3 – артерії.

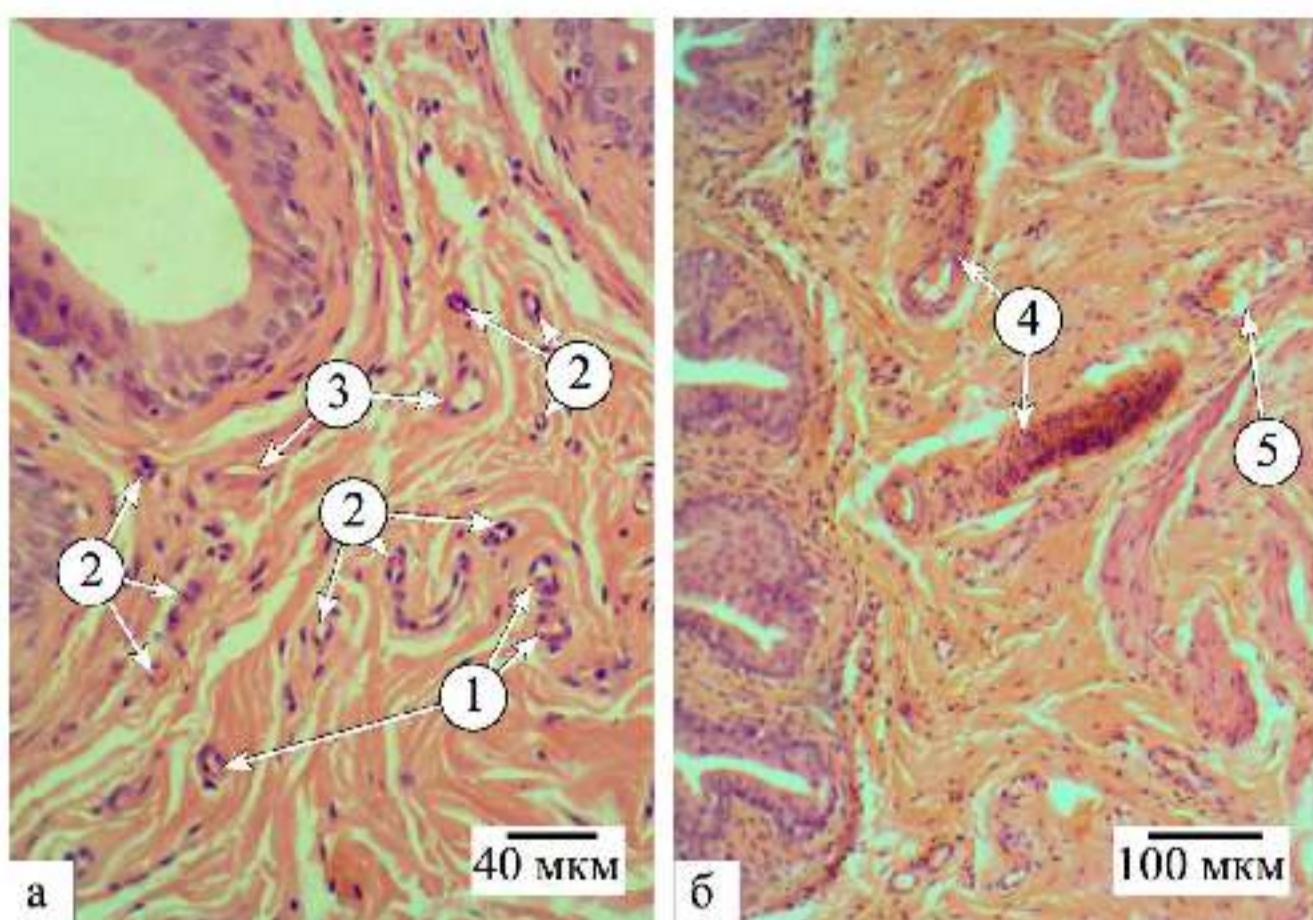


Рис. 3.19. Підуротеліальне гемомікроциркуляторне русло (а). Прямі артерії (б). Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення: а) об.20, ок. 10; б) об.20, ок. 10.

Позначення: 1 – артеріоли; 2 – капіляри; 3 – венули; 4 – артерії; 5 – вена.

Таблиця 3.4

**Показники морфометричного аналізу судин підуротеліального гемомікроциркуляторного русла слизової оболонки сечового міхура щурів у нормі (Mean $\pm$ SD)**

Морфометричні показники судин	Відділи підуротеліального ГМЦР		
	arteriola	капіляр	венула
радіус просвіту, мкм	4,91 $\pm$ 1,32	3,53 $\pm$ 0,91	8,29 $\pm$ 1,73
діаметр просвіту, мкм	9,81 $\pm$ 2,78	7,10 $\pm$ 1,94	16,46 $\pm$ 3,32
товщина стінки, мкм	7,28 $\pm$ 2,09	1,37 $\pm$ 0,33	3,25 $\pm$ 1,38
площа просвіту, мкм <sup>2</sup>	81,59 $\pm$ 45,01	42,48 $\pm$ 22,57	221,28 $\pm$ 91,92
загальна площа, мкм <sup>2</sup>	492,82 $\pm$ 233,02	79,46 $\pm$ 33,20	425 $\pm$ 141,12

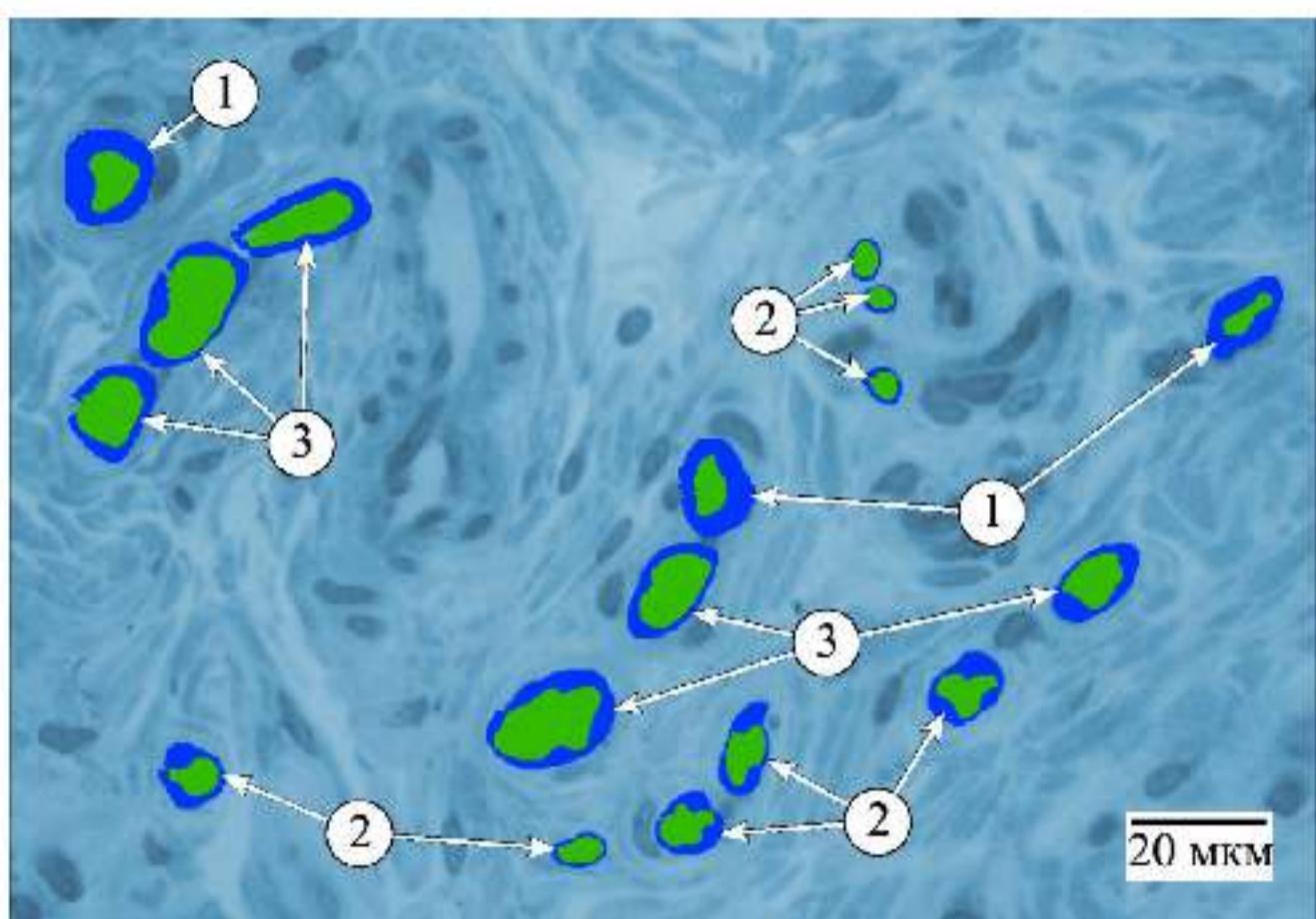


Рис. 3.20. Судини підуротеліального гемомікроциркуляторного русла сечового міхура щурів у нормі, в яких зеленим кольором відмічені радіуси, а синім – стінка стінки. Півтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. Збільшення: об. 40, ок. 10.

Позначення: 1 – артеріоли; 2 – гемокапіляри; 3 – венули.

При електронномікроскопічному дослідженні встановлено, що стінку СМ кровопостачають капіляри соматичного типу (рис. 3.21). Їхній просвіт обмежений 2–3 ендотеліоцитами. Ядро світле, гомогенне, овальної чи полігональної форми. У нуклеоплазмі переважає евхроматин у вигляді осміофільних гранул, які щільніше концентруються на периферії ядра. Ядерна оболонка чітка, може утворювати випини і глибокі інвагінації так, що в звіс можуть потрапити два фрагменти ядра (рис. 3.21 а). Поодинокі і невеликі ядерця виявляються не завжди. Плазмолема ендотеліоцитів чітко контурована, її люмінальна поверхня може мати хвилястий хід (рис. 3.21 б) або утворювати поодинокі міковирости.

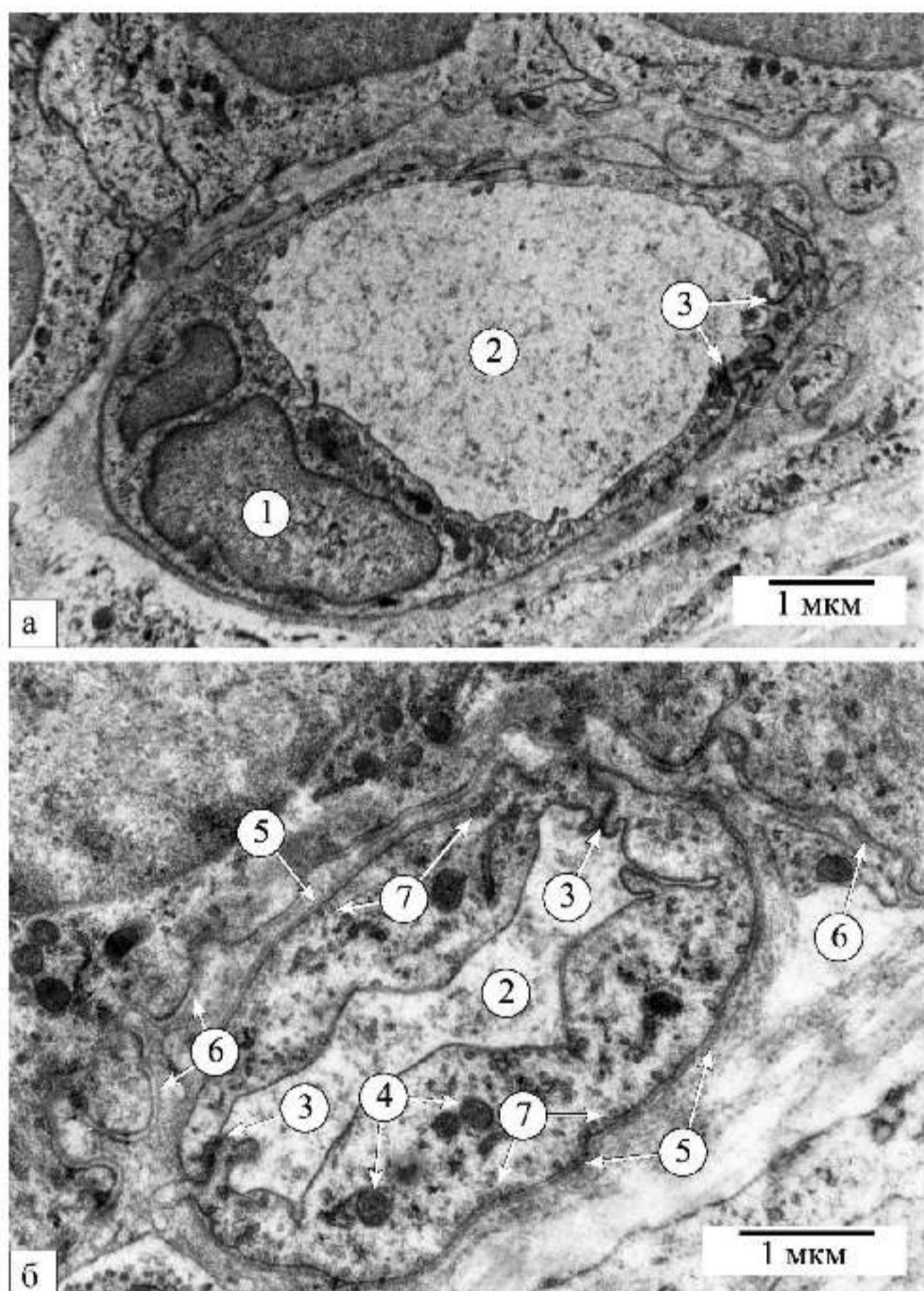


Рис. 3.21. Капіляри підуротеліального гемомікроциркуляторного русла сечового міхура щурів у нормі. Зріз через ядерну зону (а) і зону органел капіляра (б). Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 6400$  (а);  $\times 9600$  (б).

Позначення: 1 – ядро ендотеліоцита; 2 – просвіт капіляра; 3 – сполучення між ендотеліоцитами; 4 – мітохондрії; 5 – базальна мембрана капіляра; 6 – базальна мембрана уротелію; 7 – аблюмінальні мікропіноцитозні пухирці.

Дрібнозерниста гіалоплазма утворює електроннопрозорий матрикс цитоплазми, в якій спостерігаються ГрЕС, мітохондрії, КГ, помірна кількість рибосом і піноцитозних пухирців, рідко – ГЕС і лізосоми. ГрЕС, в основному, представлена короткими трубочками і цистернами, які густо вкриті рибосомами. КГ розвинутий добре, визначається кількома рядами цистерн і мішечків, але, у більшості капілярів, тільки пухирцями. Ендотеліоцити капілярів сполучаються за допомогою щільних контактів. Мітохондрії овальні, на поперечних зрізах круглі, мають світлий матрикс і небагато гребенів. Мікропіноцитозні пухирці різних розмірів, можуть як прикріплюватися до люмінальної і аблюмінальної частин плазмолеми, так і розміщуватися поодиноко в цитоплазмі і не контактувати з плазмолемою. В ендотеліоцитах виділяють чотири зони: ядерну, зону органел, периферійну і контактну. Гемокапіляри характеризуються чіткою двошаровою БМ, що має рівномірну товщину і щільність. БМ капілярів непереривна, чітка, місцями хвиляста, рівномірної товщини і щільності, складається зі світлої і щільної пластинок.

На оцифрованих електронограмах ми визначали товщину БМ гемокапілярів підуротеліального ГМЦР СМ. Вимірювання БМ гемокапілярів проводили від зовнішнього периметра гемокапіляра до зовнішнього контуру *lamina densa* БМ цього ж капіляра. Зовнішній контур темної щільної пластинки БМ виділявся тільки в тих ділянках, де чітко видно плазмолему ендотеліальної клітини і де відсутній перицит. Встановлено, що БМ гемокапілярів дорівнює  $(74,35 \pm 27,13)$  нм.

Артеріоли мають три оболонки: внутрішню, яка утворена ендотеліоцитами, що лежать на базальній мембрани; середню, яка має 1–2 шари гладких міоцитів, що зорієнтовані циркулярно; зовнішню – адвенциєю, яка переходить без меж у периваскулярний простір (рис. 3.22).

Венули стінки СМ щурів різняться від артеріол великим просвітом, тонким ендотелієм, наявністю перицитів, відсутністю суцільного шару гладких міоцитів та їхньої поздовжньої орієнтації.

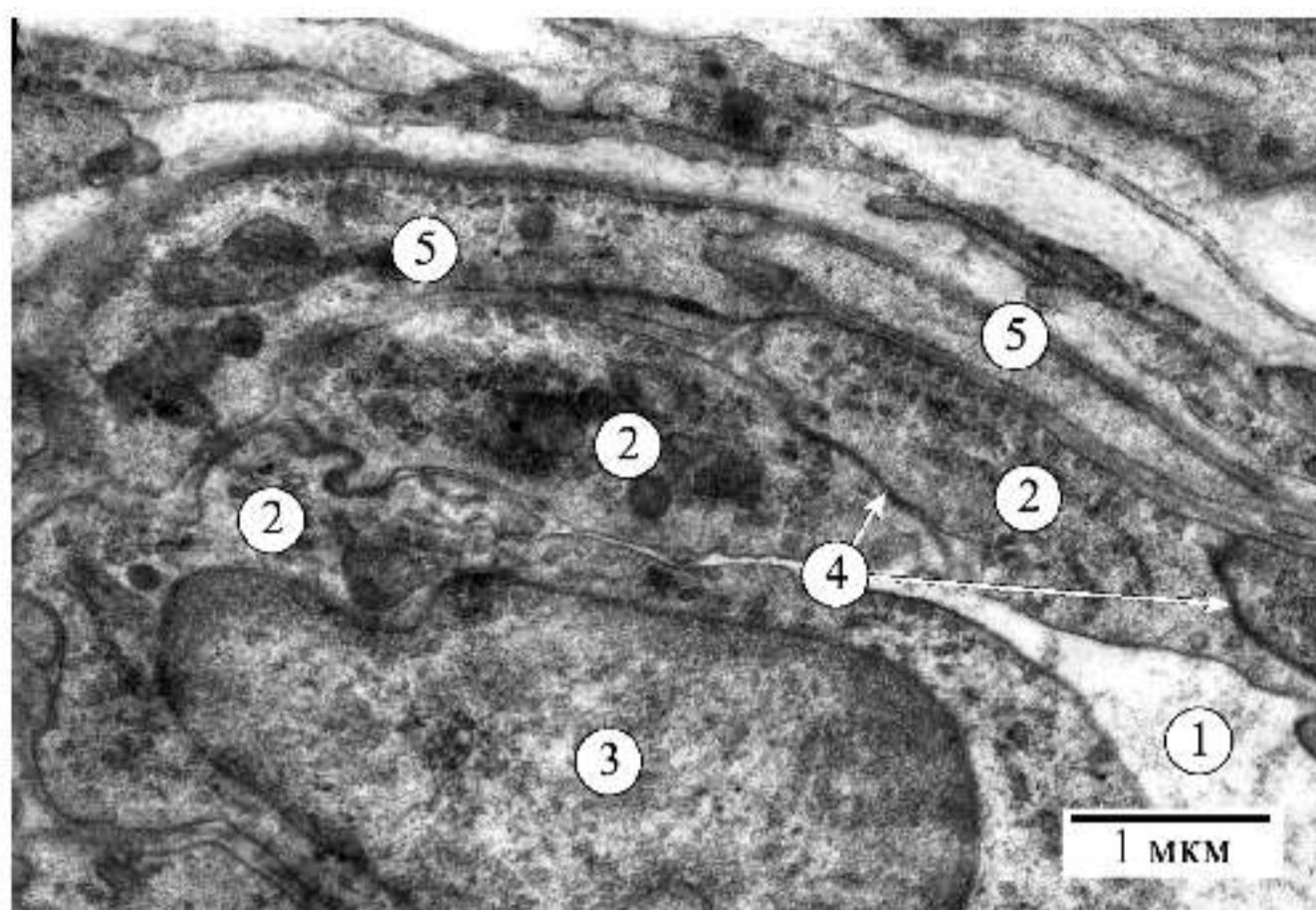


Рис. 3.22. Фрагмент стінки артеріоли сечового міхура щурів у нормі. Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 12000$ .

Позначення: 1 – просвіт судини; 2 – ендотеліоцити; 3 – ядро ендотеліоцита; 4 – щільні сполучення між ендотеліоцитами; 5 – гладкі міоцити.

Таким чином уперше проведений кластерний аналіз клітинного складу перехідного епітелію сечового міхура і виділені чотири кластери, з яких найменшу частку займають уротеліоцити КЛ 1 (10,96%), а клітини КЛ 2, 3 і 4 відповідно становлять 39,47, 34,21 і 15,35%. Площі клітин кластерів відповідно дорівнюють:  $(42,2 \pm 5,09)$ ;  $(62,5 \pm 6,21)$ ;  $(85,4 \pm 7,48)$  і  $(115,6 \pm 11,18)$   $\mu\text{м}^2$ , а їхніх ядер –  $(18,3 \pm 4,79)$ ;  $(26,8 \pm 5,05)$ ;  $(31,7 \pm 6,58)$  і  $(36,7 \pm 7,84)$   $\mu\text{м}^2$ .

КЛ 1 утворений найменшими за розмірами малодиференційованими базальними клітинами. КЛ 2 і 3 формують клітини проміжного шару перехідного епітелію, з яких клітини КЛ 2 є помірнодиференційованими, а КЛ 3 – високодиференційованими. КЛ 4 – це, найбільші за розмірами парасолькові клітини, які є високодиференційованими. Уперше встановлено, що в нормі між складом базальних клітин (КЛ 1) і парасолькових клітин (КЛ 4), а також між складом клітин КЛ 2 і КЛ 3 наявна структурно-функціональна рівновага, яка

відображає певні морфометричні системні особливості функціонування ПЕ СМ у нормі.

Отримана кластерна структура характеризує популяцію клітин переходного епітелію СМ річних щурів-самців у нормі. Використання кластерного аналізу дозволить оцінити стан уротелію при СД із позиції функціональної морфології.

Розроблений нами спосіб визначення відносних площ уротелію, пучків гладких міоцитів і колагенових волокон в ImageJ має дві принципові відмінності від існуючих аналогів – визначення площ основних структурних компонентів стінки СМ проводиться в автоматичному режимі і без урахування площин, що займає основна речовина міжклітинного простору, об'єм якої залежить від моррофункціонального стану СМ.

Стінка СМ однорічних щурів-самців лінії «Вістар» у нормі характеризується наступними відносними показниками: частка площи уротелію дорівнює  $(7,62 \pm 2,24)\%$ , а колагенових і м'язових волокон –  $(38,57 \pm 6,13)$  і  $(53,81 \pm 6,66)\%$ .

Органні артерії, які кровопостачають СМ щурів, у його стінці спочатку утворюють адвентиційно/серозне сплетення, від якого відходять артеріоли, що живлять м'язову оболонку, а також звивисті і прямі артерії, які проходять через останню і формують судинне сплетення слизової оболонки, що розміщене в підслизовому прошарку. Від цього судинного сплетення відходять мікрогемосудини, що утворюють у власній пластинці слизової оболонки підуротеліальне ГМЦР, яке живить і дренує уротелій.

У розробленій нами комп'ютерній програмі реалізовані оригінальні алгоритми визначення радіуса просвіту й товщини стінки мікрогемосудин, яка є зручна і проста у використанні, зменшує затрати часу і підвищує точність показників. Отримані з використанням даної програми значення морфометричних показників кровоносних мікросудин підуротеліального ГМЦР СМ є специфічними для однорічних щурів-самців лінії Вістар.

Матеріали даного розділу опубліковані в роботах:

1. Котик Т. Л. Дослідження гемосудин піднижньощелепної залози та сечового міхура з використанням оригінального морфометричного аналізу / Т. Л. Котик, Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22, № 2. – С. 49 – 53 [46].
2. Токарук Н. С. Характеристика переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі за результатами морфометричного та кластерного аналізів // Світ медицини та біології. – 2015. – Т. 48, № 1. – С. 163 – 166 [99].
3. Токарук Н. С. Характеристика гемосудин сечового міхура щурів при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, № 1. – С. 249 – 255 [207].
4. Tokaruk N. S. Normal urinary bladder urothelial cells morphometric characteristics of a white rat / N. S. Tokaruk // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2013. – Т. 8, № 1 (д). – С. 133 [101].
5. Tokaruk N. Smooth myocytes and collagenous fibers of the urinary bladder of rats in diabetes mellitus / N. Tokaruk // J. Educ. Health Sport. – 2015. – Vol. 5, № 12. – P. 11 – 22 [205].

## РОЗДІЛ 4

### **РЕЗУЛЬТАТИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ КРОВІ ТА СЕЧІ, РЕАКЦІЯ СЕЧІ, ОБ'ЄМ ВИПИТОЇ ВОДИ І ДІУРЕЗУ, МАСОМЕТРИЧНІ ДАНІ ЩУРІВ У НОРМІ ТА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦІНОВОМУ ДІАБЕТІ**

Встановлено, що рівень глюкози в крові щурів у нормі становить  $(5,24 \pm 0,62)$  ммоль/л, вміст глікозильованого гемоглобіну ( $\text{HbA}_{1c}$ ) –  $(2,03 \pm 0,27)\%$ , концентрація глюкози в сечі –  $(0,93 \pm 0,28)$  ммоль/л. У контрольних щурів рівень глюкози і вміст  $\text{HbA}_{1c}$  в крові, а також концентрація глюкози в сечі значимо не відрізняються від норми ( $p > 0,05$ ) в усі періоди розвитку СД. У діабетичних щурів рівень глюкози і вміст  $\text{HbA}_{1c}$  у крові стає статистично значимо більшим за контроль уже з 14-ї доби експерименту, а концентрація глюкози в сечі – із 28-ї доби.

Так, на 14-у добу експерименту рівень глюкози в крові значимо зростає до  $(13,57 \pm 1,14)$  ммоль/л, контроль –  $(5,21 \pm 0,35)$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ). Водночас, зростає вміст  $\text{HbA}_{1c}$  до  $6,78 \pm 0,58\%$  (контроль –  $1,95 \pm 0,18\%$ ;  $p < 0,01$ ).

На 28-у дібу від початку індукції СД досліджувані біохімічні показники продовжують зростати: рівень глюкози – до  $(19,84 \pm 2,13)$  ммоль/л, контроль –  $(5,25 \pm 0,39)$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ), а вміст  $\text{HbA}_{1c}$  – до  $(8,15 \pm 0,57)\%$ , контроль –  $(1,98 \pm 0,18)\%$  ( $p < 0,01$ ).

На 42-у добу досліду рівень глюкози в крові є більшим у 4,75 раза ( $p < 0,01$ ), у порівнянні з контролем –  $(5,26 \pm 0,51)$  ммоль/л, і дорівнює  $(24,98 \pm 2,16)$  ммоль/л. Вміст  $\text{HbA}_{1c}$  у даний термін також зростає – у 4,56 раза і становить  $(9,27 \pm 0,72)\%$ , контроль –  $(2,02 \pm 0,08)\%$  ( $p < 0,01$ ).

У наступні два терміни спостереження (56- і 70-а доби) рівень глюкози в крові щурів не зменшується, у порівнянні з попереднім терміном ( $p > 0,05$ ). На 56-у добу вміст глюкози становить  $(24,11 \pm 3,26)$  ммоль/л, контроль –  $(5,26 \pm 0,42)$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ), а на 70-у –  $(23,50 \pm 3,33)$  ммоль/л, контроль –

( $5,27 \pm 0,58$ ) ммоль/л ( $p < 0,01$ ). Натомість вміст HbA<sub>1c</sub> продовжує зростати і дорівнює на 56-у добу ( $9,87 \pm 0,48$ ) %, контроль – ( $2,03 \pm 0,15$ ) % ( $p < 0,01$ ), а на 70-у – ( $10,90 \pm 0,60$ ) %, контроль – ( $2,04 \pm 0,20$ ) % ( $p < 0,01$ ).

У порівнянні з попереднім терміном, рівень глюкози в крові стає більшим тільки на 28- і 42-у доби досліду, відповідно в 1,46 і 1,26 раза (в обох випадках  $p < 0,001$ ), а вміст глікозильованого гемоглобіну також і на 70-у добу, відповідно в 1,20 ( $p < 0,001$ ); 1,14 і в 1,10 раза ( $p < 0,01$ ).

На фоні зростання вказаних вище біохімічних показників крові збільшення вмісту глюкози в сечі визначається вже в перші терміни спостереження. Так, на 14-у добу він становить ( $2,32 \pm 0,68$ ) ммоль/л, контроль – ( $0,94 \pm 0,20$ ) ммоль/л ( $p < 0,05$ ), на 28-у дорівнює ( $7,96 \pm 3,63$ ) ммоль/л, контроль – ( $0,89 \pm 0,20$ ) ммоль/л ( $p < 0,01$ ), а далі – прогресивно зростає до 42-ї доби і в цей термін дорівнює ( $20,10 \pm 2,09$ ) ммоль/л, контроль – ( $0,88 \pm 0,11$ ) ммоль/л ( $p < 0,01$ ). На 56-у і 70-у доби глукозурія є найбільш вираженою. У ці терміни концентрація глюкози в сечі становить ( $21,26 \pm 3,15$ ) ммоль/л та ( $21,67 \pm 3,21$ ) ммоль/л і є більшою за контроль ( $0,94 \pm 0,22$ ) ммоль/л і ( $0,95 \pm 0,24$ ) ммоль/л у 22,61 і 22,81 раза ( $p < 0,01$ ).

У порівнянні з попереднім терміном, вміст глюкози в сечі збільшується тільки на 28- і 42-у доби спостереження, відповідно в 3,43 і 2,52 раза ( $p < 0,001$ ).

Наочність і порівняння динаміки трьох процесів, два з яких залежать від розвитку гіперглікемії, показані на рис. 4.1 і 4.2.

Із рис. 4.1 чітко видно, що рівень глюкози в крові стрімко зростає до 42-ї доби досліду, а в наступні два терміни спостереження мало змінюється. Синхронно до гіперглікемії розвивається глукозурія.

Динаміка зміни вмісту глікозильованого гемоглобіну в крові інша (рис. 4.2). Вміст HbA<sub>1c</sub> значно збільшується вже на 14-у добу досліду, а в наступні терміни експерименту зростає з уповільненим темпом, тобто з кожним терміном приріст відсотка HbA<sub>1c</sub> зменшується.

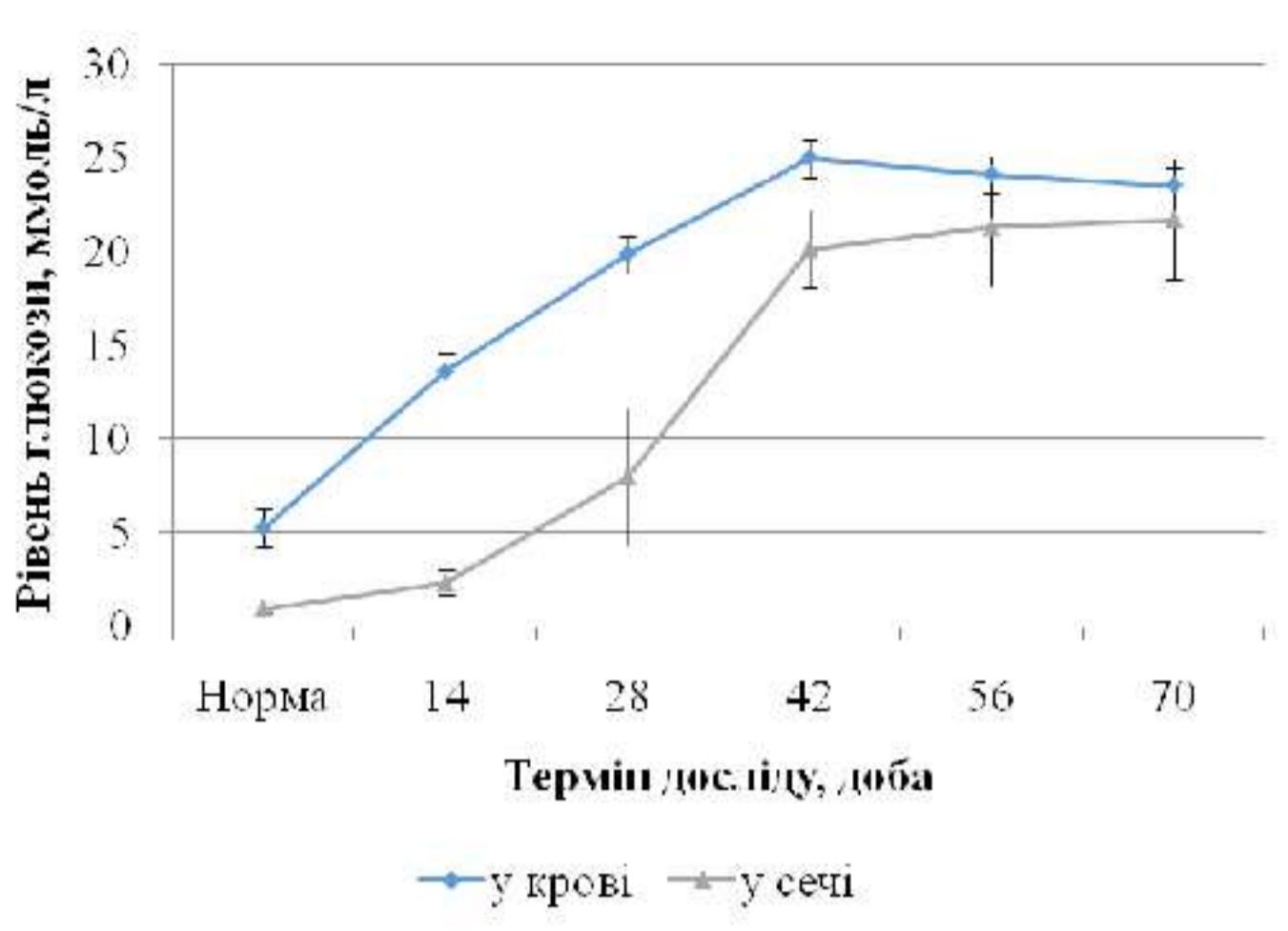


Рис. 4.1. Динаміка зміни рівня глюкози в крові і у сечі в нормі та на етапах експерименту.

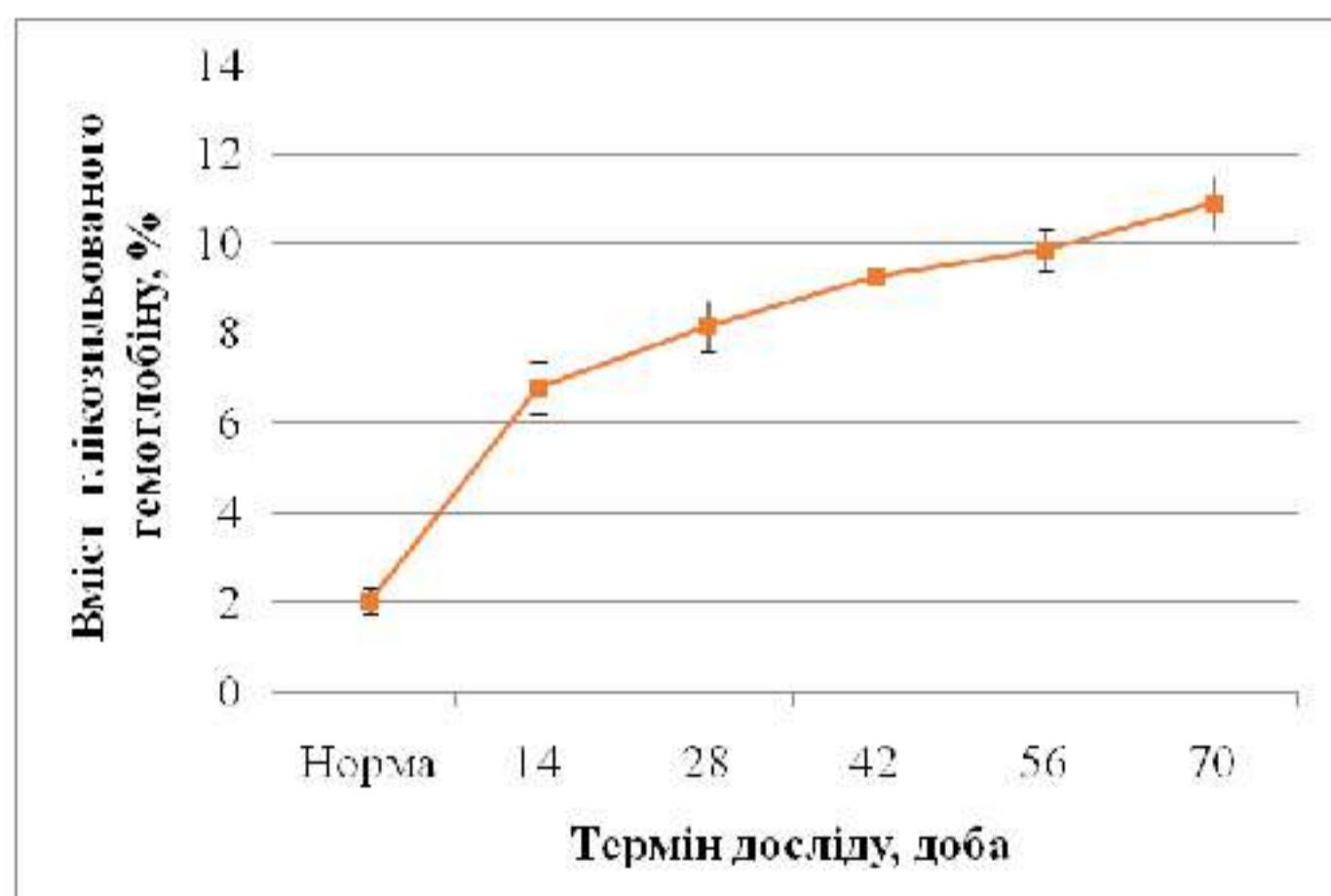


Рис. 4.2. Динаміка зміни вмісту глікозильованого гемоглобіну в крові в нормі та на етапах спостереження.

При СД, який супроводжується осмотичним діурезом і поліурією, що викликають зневоднення органів і тканин і, як наслідок, – полідипсію, важливо встановити об'єм спожитої щурами води впродовж доби і добовий діурез. Слід відмітити, що об'єм води, яку випивають контрольні щурі коливається в межах 11–19 мл/добу і є показником високоміливим, на що вказує його коефіцієнт варіації ( $C_v=17,7\text{--}23,1\%$ ). Подібний результат ми отримали і при визначенні діурезу. Добовий діурез контрольних тварин варіє в межах 4,1–7,6 мл/добу і є показником не менш міливим, що підтверджує його коефіцієнт варіації ( $C_v=15,2\text{--}22,9\%$ ). До того ж слід додати, що маса тіла контрольних тварин на початку експерименту визначається в межах 214–256 г, а в дослідних щурів у день введення їм стрептозотоцину – у межах 217–253 г.

Ми встановили, що випита контрольними щурами вода, яка розрахована на 1 кг маси тіла тварин, є показником помірно міливим, на що вказують менші значення його коефіцієнта варіації ( $C_v=12,7\text{--}16,1\%$ ). Добові діурези, розраховані таким же чином, також є показником помірно міливим ( $C_v=9,8\text{--}17,8\%$ ). Таким чином, останні показники є менш варіабельними і тому – більш надійними і більш об'єктивними відносними показниками, ніж їхні натуруальні аналоги. Власне ці відносні показники краще використовувати при порівнянні з даними, отриманими від діабетичних щурів. Результати такого дослідження представлені в табл. 4.1. Нами встановлено, що середні значення цих показників у контрольних тварин в усі терміни досліду значимо не відрізняються від норми ( $p>0,05$ ). Натомість показники, що характеризують спожиту воду і діурез на 1 кг маси тіла діабетичних тварин, статистично значимо відрізняються від показників контрольної групи впродовж розвитку СД. Їхні значення на 28-у добу збільшуються, у порівнянні з контролем, відповідно в 7,61 і 18,54 раза ( $p<0,01$ ), далі вони до 56-ї доби зменшуються, у порівнянні з 28-ю, відповідно в 1,60 і 1,74 раза ( $p<0,001$ ), а на 70-у – не відрізняються від попереднього терміну ( $p>0,05$ ). При цьому на 42-, 56- і 70-у доби досліду вони залишаються більшими за контроль: об'єм спожитої води, відповідно в 5,84; 4,98 і 4,90 раза, а діурез – у 13,64; 11,07 і 11,10 раза ( $p<0,01$ ).

Таблиця 4.1

**Натуральні та відносні показники спожитої води і діурезу в нормі, у контрольних і діабетичних щурів (Mean±SD)**

Групи тварин	Спожита вода (мл/дoba)	Діурез (мл/дoba)	Спожита вода (мл/кг/дoba)	Діурез (мл/кг/дoba)
Інтактні (норма)	14,9±2,6	5,3±1,2	63,8±8,2	22,6±4,0
14-а доба				
контрольні	15,3±3,3	5,3±1,0	64,7±9,8	22,6±3,0
діабетичні	70,2±4,5 **	58,0±5,8 **	332,3±12,3 **	274,4±21,2 **
28-а доба				
контрольні	15,0±2,9	5,3±0,9	62,7±8,0	22,2±2,5
діабетичні	97,4±7,8 ** ***	84,0±5,4 ** ***	476,9±29,2 ** ***	411,7±26,2 ** ***
42-а доба				
контрольні	15,5±3,4	5,3±0,8	63,4±9,3	21,7±1,8
діабетичні	72,4±4,6 ** ***	57,8±4,6 ** ***	370,6±13,4 ** ***	295,9±19,1 ** ***
56-а доба				
контрольні	14,8±3,4	5,3±1,1	59,8±9,6	21,3±2,8
діабетичні	51,3±5,1 ** ***	40,6±4,0 ** ***	297,8±18,8 ** ***	235,8±15,9 ** ***
70-а доба				
контрольні	15,0±3,2	5,2±0,9	60,5±8,6	21,1±2,1
діабетичні	50,2±5,2 **	39,6±5,4 **	296,5±13,6 **	234,2±23,3 **

Примітки: 1 – статистично значима різниця з показником контролю \*\* (p<0,01);  
 2 – статистично значима різниця з показником попереднього терміну \*\*\*(p<0,001).

Однак указані вище показники аж ніяк не дають уявлення про водний баланс організму тварин, а тільки вказують на ступінь полідипсії і поліурії на етапах розвитку СД. Тому для уявлення про водний баланс ми пропонуємо

використовувати показник, який характеризує відношення спожитої і виділеної рідини. Коли виділення рідини перевищує її надходження в організм (негативний водний баланс) і розвивається зневоднення організму – показник зменшується. Навпаки, коли надходження води перевищує діурез (позитивний водний баланс) і розвивається гіпергідратація – показник збільшується. Звичайно, до спожитої рідини відносять не тільки випиту рідину, але й ту, яка поступає з їжею, а до виділеної – рідину, яка виділяється нирками, легенями, кишкою і шкірою. Такі розрахунки важко провести в клінічних умовах, а в експериментальних – неможливо. Однак якщо контрольних і діабетичних тварин утримувати в однакових умовах, на однаковому за якістю і кількістю складом раціоні і в той же часовий період, то в загальному судити про водний баланс дослідних тварин можна за відношенням випитої води до діурезу, зіставляючи водночас дані контрольних і діабетичних щурів. На нашу думку, це є цілком віправданим. Результати дослідження водного балансу за вище вказаним способом представлені в табл. 4.2.

Запропонований показник корисний ще й тим, що його достатньо розрахувати тільки за натуральними даними випитої води і діурезу, оскільки він сам нівелює індивідуальну мінливість маси тіла тварин. У нашому експерименті цей показник у нормі становить  $2,85 \pm 0,25$ . У контрольних тварин на всіх термінах спостереження його значення не відрізняються від норми ( $p>0,05$ ). При СД динаміка зміни даного показника є зовсім іншою, ніж показників, що характеризують поліурію і полідипсію (див. табл. 4.1). Так, на 14-у добу досліду він зменшується, у порівнянні з контролем у 2,34 раза ( $p<0,01$ ), і до кінця експерименту утримується приблизно на цьому ж рівні (у порівнянні з контролем у всі терміни спостереження;  $p<0,01$ ). Це чітко вказує на те, що порушення водного балансу в щурів при СД настає з перших термінів і не відновлюється впродовж експерименту.

Таблиця 4.2

**Відношення спожитої води до діурезу і водневий показник сечі в нормі та в контрольних і діабетичних щурів (Mean $\pm$ SD)**

Доба	Група тварин	Відношення спожитої води до діурезу	Водневий показник сечі (рН)
		інтактні (норма)	2,85 $\pm$ 0,25
14-а	контрольні	2,86 $\pm$ 0,19	7,12 $\pm$ 0,72
	діабетичні	1,22 $\pm$ 0,06 **	6,71 $\pm$ 0,65
28-а	контрольні	2,82 $\pm$ 0,18	7,09 $\pm$ 0,80
	діабетичні	1,16 $\pm$ 0,06 ** #	6,38 $\pm$ 0,58
42-а	контрольні	2,92 $\pm$ 0,27	7,15 $\pm$ 0,53
	діабетичні	1,25 $\pm$ 0,06 ** ##	6,08 $\pm$ 0,73 *
56-а	контрольні	2,80 $\pm$ 0,26	7,07 $\pm$ 0,64
	діабетичні	1,26 $\pm$ 0,06 **	5,53 $\pm$ 0,44 **
70-а	контрольні	2,86 $\pm$ 0,16	7,22 $\pm$ 0,41
	діабетичні	1,27 $\pm$ 0,10 **	6,01 $\pm$ 0,62 **

Примітки: 1 – статистично значима різниця з показником контролю \* ( $p<0,05$ ); \*\* ( $p<0,01$ ); 2 – статистично значима різниця з показником попереднього терміну #( $p<0,05$ ), ##( $p<0,01$ ).

В інтактних щурів реакція сечі слабо лужна (див. табл. 4.2). Її водневий показник (рН) у нормі становить 7,19 $\pm$ 0,67. У контрольних щурів він дещо коливається, але незначимо ( $p>0,05$ ). У діабетичних щурів, починаючи з 14-ї доби і до кінця експерименту рН сечі поступово зміщується до кислої реакції. Так, на 14- і 28-у доби досліду, у порівнянні з контролем, відмічається тільки тенденція до зменшення рН сечі ( $p>0,05$ ), а на 42-, 56- і 70-у доби – значиме його зменшення в 1,18 ( $p<0,05$ ), 1,28 і 1,20 ( $p<0,01$ ) раза.

Середні значення маси тіла інтактних щурів (норма), маси тіла контрольних тварин на початку експерименту і в день забору матеріалу, маси тіла діабетичних щурів перед індукцією діабету між собою не відрізняються

( $p>0,05$ ). Натомість маса тіла діабетичних тварин, у порівнянні з контролем, статистично значимо змінюється на всіх етапах спостереження (табл. 4.3).

*Таблиця 4.3*

**Маса тіла щура на початок досліду і в кінці кожного етапу спостереження  
(Mean±SD)**

Доба	Група тварин	Маса тіла щура (г)	
		на початок спостереження	у кінці спостереження
	інтактні (норма)	$232,1\pm12,13$	
14-а	контрольні	$229,0\pm16,53$	$231,7\pm16,68$
	діабетичні	$237,4\pm11,91$	$211,1\pm8,05^*$
28-а	контрольні	$229,7\pm18,34$	$237,5\pm18,73$
	діабетичні	$228,2\pm11,64$	$204,3\pm12,19^{**}$
42-а	контрольні	$233,3\pm19,19$	$242,5\pm20,29$
	діабетичні	$234,7\pm16,93$	$195,4\pm11,22^{**}$
56-а	контрольні	$229,7\pm17,75$	$244,2\pm19,82$
	діабетичні	$227,9\pm14,76$	$172,1\pm9,56^{**} \#\#\#$
70-а	контрольні	$231,7\pm18,26$	$246,2\pm21,93$
	діабетичні	$231,9\pm18,08$	$169,1\pm13,43^{**}$

Примітки: 1 – статистично значима різниця з показником контролю \* ( $p<0,05$ ), \*\* ( $p<0,01$ ); 2 – статистично значима різниця з показником попереднього терміну \*\*\* ( $p<0,001$ )

Так, маса тіла діабетичних щурів, у порівнянні з контролем, на 14-, 28-, 42-, 56- і 70-у доби досліду (див. табл. 4.3) зменшується, відповідно в 1,09, 1,16; 1,24; 1,42; 1,45 раза ( $p<0,05$ ). Для зменшення впливу на результат індивідуальних коливань маси тіла дослідних щурів, ми пропонуємо використовувати показник, за яким визначається відношення маси тіла тварин на початку експерименту та в день забору матеріалу. До того ж цей показник

опосередковано характеризує в загальних рисах відношення в організмі анabolічних і катаболічних процесів при ЦД [74] (азотистий баланс ми не досліджували). При врівноваженні цих процесів значення даного показника знаходяться близько до одиниці, при переважанні анabolічних – стає меншим за одиницю, а при перевазі катаболічних – більшим (рис. 4.3).

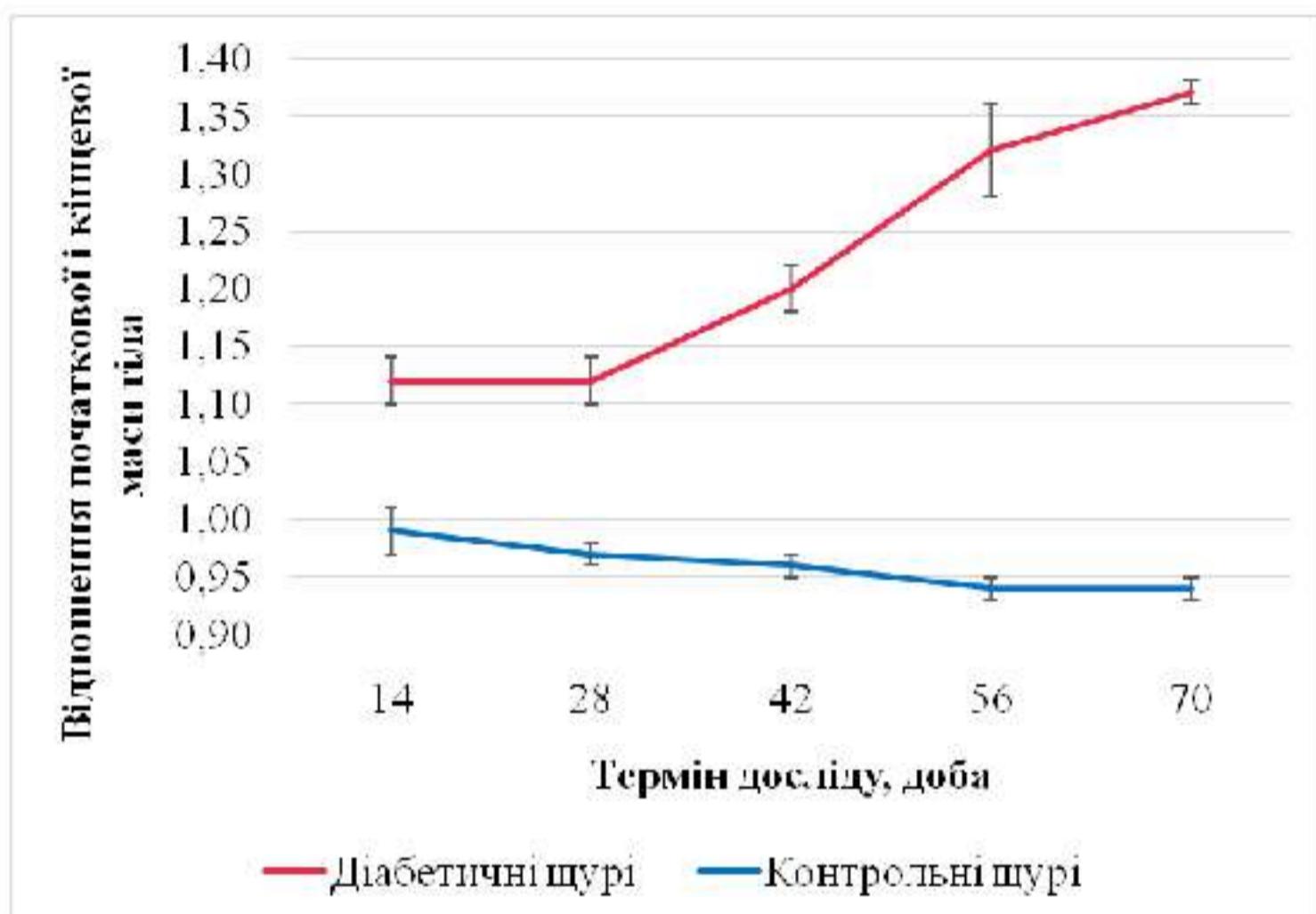


Рис. 4.3. Часові зміни показника відношення маси тіла щурів на початку експерименту і в кінці кожного періоду розвитку цукрового діабету.

На рис. 4.3 очевидно, що ці процеси в контрольних тварин упродовж 70 діб мають деяку тенденцію до посилення анabolічних процесів. Натомість у діабетичних щурів, починаючи з 28-ї доби досліду, катаболічні процеси в організмі інтенсивно нарощують і на 70-у добу запропонований показник збільшується, у порівнянні з контролем в 1,37 раза ( $p<0,01$ ).

Середні значення маси СМ та її відношення до кінцевої маси тіла щурів у різні періоди досліду представлені в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

**Маса сечового міхура та її відношення до маси тіла в нормі та контрольних і діабетичних щурів (Mean $\pm$ SD)**

Групи тварин	Маса сечового міхура (мг)	Маса тіла щура в кінці спостереження (г)	Відношення маси СМ до кінцевої маси тіла щура (мг/г)
інтактні (норма)	101,5 $\pm$ 7,49	232,1 $\pm$ 12,13	0,44 $\pm$ 0,03
14-а доба			
контрольні	108,0 $\pm$ 13,88	231,7 $\pm$ 16,68	0,46 $\pm$ 0,03
діабетичні	219,7 $\pm$ 16,67 <sup>**</sup>	211,1 $\pm$ 8,05 <sup>*</sup>	1,04 $\pm$ 0,06 <sup>**</sup>
28-а доба			
контрольні	101,7 $\pm$ 12,09	237,5 $\pm$ 18,73	0,43 $\pm$ 0,02
діабетичні	271,1 $\pm$ 19,65 <sup>**</sup> <sub>###</sub>	204,3 $\pm$ 12,19 <sup>**</sup>	1,33 $\pm$ 0,07 <sup>**</sup> <sub>###</sub>
42-а доба			
контрольні	107,8 $\pm$ 11,30	242,5 $\pm$ 20,29	0,44 $\pm$ 0,01
діабетичні	225,9 $\pm$ 14,32 <sup>**</sup> <sub>###</sub>	195,4 $\pm$ 11,22 <sup>**</sup>	1,16 $\pm$ 0,05 <sup>**</sup> <sub>###</sub>
56-а доба			
контрольні	105,7 $\pm$ 13,25	244,2 $\pm$ 19,82	0,43 $\pm$ 0,02
діабетичні	177,1 $\pm$ 13,36 <sup>**</sup> <sub>###</sub>	172,1 $\pm$ 9,56 <sup>**</sup> <sub>###</sub>	1,03 $\pm$ 0,06 <sup>**</sup> <sub>###</sub>
70-а доба			
контрольні	104,0 $\pm$ 14,14	246,2 $\pm$ 21,93	0,42 $\pm$ 0,03
діабетичні	163,6 $\pm$ 14,25 <sup>**</sup> <sub>#</sub>	169,1 $\pm$ 13,43 <sup>**</sup>	0,97 $\pm$ 0,04 <sup>*</sup> <sub>#</sub>

Примітки: 1 – значима різниця з показником контролю \*( $p<0,05$ ), \*\*( $p<0,01$ ); 2 – значима різниця з показником попереднього терміну #( $p<0,05$ ), ###( $p<0,001$ ).

Таким чином, ранній період розвитку стрептозотоцинового діабету (14–28-а доба досліду) характеризується становленням гіперглікемії, збільшенням

вмісту  $\text{HbA}_{1\text{C}}$ , появою глюкозурії, наростанням полідипсії та поліурії, незначним зменшенням маси тіла тварини і збільшенням маси СМ.

Рівень глюкози в крові на 14- і 28-у доби досліду зростає, у порівнянні з контролем, у 2,60 і 4,79 раза ( $p<0,01$ ). Вміст  $\text{HbA}_{1\text{C}}$  у крові в ці терміни стає більшим за контроль, відповідно в 3,48 і 4,12 раза ( $p<0,01$ ). На 14-у добу експерименту концентрація глюкози в сечі стає більшою за контроль у 2,48 раза, а на 28-у – у 8,94 раза ( $p<0,01$ ). До кінця цього періоду експерименту реакція сечі дещо зміщується до кислої (рН сечі становить 6,38).

Показник, за яким спожита вода і діурез вираховується на 1 кг маси тіла тварини, до 28-ї доби досліду, стає більшим за контроль, відповідно в 7,61 і 18,54 раза ( $p<0,01$ ). Показник, який характеризує відношення спожитої води до діурезу, на 14- і 28-у доби зменшується, у порівнянні з контролем, у 2,34 і 2,43 раза ( $p<0,01$ ).

Маса тіла діабетичних щурів на 14- і 28-у доби досліду стає меншою від контролю, відповідно, в 1,09 ( $p<0,05$ ) і 1,16 ( $p<0,01$ ) раза. Показник, за яким визначається відношення маси тіла тварин на початку експерименту та в кінці кожного терміну спостереження, до 28-ї доби збільшується, у порівнянні з контролем, в 1,13 раза ( $p<0,01$ ). Показник відношення маси СМ у міліграмах до маси тіла щура в грамах на цей період досліду стає більшим за контроль, відповідно в 2,26 і 3,09 раза ( $p<0,01$ ).

42–56-а доби досліду характеризуються стійкою вираженою гіперглікемією, подальшим зростанням вмісту  $\text{HbA}_{1\text{C}}$ , стійкою вираженою глюкозурією, зменшенням рівня полідипсії і поліурії, подальшою втратою маси тварин і зменшенням маси СМ. На 70-у добу, у порівнянні з 56-ю, біохімічні показники сечі і крові (за виключенням  $\text{HbA}_{1\text{C}}$ ), а також кількість випитої води та діурезу і маса щурів не змінюються ( $p>0,05$ ). Зменшуються маса СМ та її відношення до маси тіла і збільшується показник відношення початкової та кінцевої маси тіла.

На 42-у добу з часу індукції СД рівень глюкози в крові стає більшим за контроль у 4,75 раза ( $p<0,01$ ), а в наступні два терміни значимо не змінюється

( $p>0,05$ ). Вміст HbA<sub>1C</sub> на даний термін зростає – у 4,56 раза ( $p<0,01$ ) і продовжує зростати до 56- і 70-ї доби, у порівнянні з контролем, у 4,86 і 5,34 раза ( $p<0,01$ ). На 42–70-у доби досліду глюкозурія є найбільшою, концентрація глюкози в сечі стає більшою за контроль у 22,84–22,81 раза ( $p<0,01$ ). Водночас pH сечі продовжує зміщуватися до кислої реакції і на 70-у добу становить  $6,01\pm0,62$ .

Зменшуються об'єми випитої води і діурезу, розраховані на 1 кг маси тіла щура до 70-ї доби досліду, у порівнянні 28-ю, але водночас вони залишаються більшими за контроль, відповідно в 4,90 і 11,10 раза ( $p<0,01$ ). Показник відношення випитої води до діурезу на 28-у добу експерименту збільшується в 1,43 раза ( $p<0,01$ ), а до 70-ї доби – у 2,51 раза ( $p>0,01$ ).

Відношення початкової до кінцевої маси щурів на 42–70-у доби досліду збільшується, у порівнянні з контролем в 1,20–1,37 раза ( $p<0,01$ ), а показник відношення маси СМ до маси тіла щура стає більшим за контроль у 2,64–2,31 раза ( $p<0,01$ ).

Матеріали даного розділу опубліковані в роботі:

1. Токарук Н. С. Динаміка морфофункціональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22, № 3, ч. 2. – С. 95 – 99 [98].

## РОЗДІЛ 5

### **ПЕРЕБУДОВА СТІНКИ СЕЧОВОГО МІХУРА ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ ПЕРЕБІГУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

#### **5.1. Морфометрична, світлооптична, та електронномікроскопічна будова клітин переходного епітелію сечового міхура і перебудова їхньої кластерної структури при стрептозотоцинному діабеті.**

Розроблені методи дослідження і отримані дані за умови норми були взяті за основу для експериментального вивчення клітин ПЕ СМ при СД, який спричиняє розвиток діабетичної цистопатії (ДЦ). Використовували тільки ітераційний метод кластеризації k-середніх, який дає можливість отримати метричні показники, а саме: відсотки клітин, які формують кожний кластер, і в кожному кластері – площу уротеліоцитів та їхніх ядер, з яких вираховували ЯЦВ. Результати кластерного аналізу клітин ПЕ в різні терміни досліду представлені в наступних трьох таблицях (табл. 5.1–5.3). Із представлених таблиць видно, що в контрольних тварин такі морфометричні ознаки як площа уротеліоцитів кожного кластера, площа їхніх ядер і відсотки клітин, які формують кожний кластер, в усі періоди спостереження статистично значимо не відрізняються від норми.

Із табл. 5.1 видно, що в діабетичних щурів відсоток уротеліоцитів, які формують КЛ 1, на 14-у добу досліду, у порівнянні з контролем, зростає в 2,49 раза ( $p<0,001$ ), натомість частка клітин, які утворюють КЛ 2 не змінюється ( $p>0,05$ ). Водночас сукупність клітин КЛ 3 зменшується, їхній відсоток стає меншим від контролю в 1,66 раза ( $p<0,01$ ). Зменшується в 1,42 раза також частка уротеліоцитів, які припадають на КЛ 4, але це зменшення ще не є значимим ( $p>0,05$ ). На 28-у добу характер морфометричних змін клітин ПЕ не міняється: відсоток клітин КЛ 1 залишається меншим від контролю в 2,15 раза ( $p<0,001$ ), а КЛ 2 – не відрізняється від нього; частка клітин КЛ 3 далі

залишається меншою від контролю в 1,40 ( $p<0,05$ ); відсоток уротеліоцитів КЛ 4 є меншим, у порівнянні з контролем в 1,57 раза, але статистично значимо, як і на 28-у добу досліду, не відрізняється як від контролю ( $p>0,05$ ), так і попереднього терміну ( $p>0,05$ ).

*Таблиця 5.1*

**Кількість уротеліоцитів (%) сечового міхура щурів, що утворюють різні кластери на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету (Mean±SD)**

Групи тварин	Кластери клітин переходного епітелію сечового міхура			
	КЛ 1	КЛ 2	КЛ 3	КЛ 4
14-а доба досліду				
контрольні	13,11	36,33	37,08	13,48
діабетичні	32,70***	35,55	22,27**	9,48
28-а доба досліду				
контрольні	15,56	32,68	35,02	16,73
діабетичні	33,51***	30,96	24,87*	10,66
42-а доба досліду				
контрольні	12,92	35,79	34,69	16,61
діабетичні	32,70***	39,42	20,67**	7,21**
56-а доба досліду				
контрольні	15,56	36,30	33,33	14,81
діабетичні	32,32***	42,93	18,18***	6,57**
70-а доба досліду				
контрольні	16,28	31,01	37,21	15,50
діабетичні	31,03***	40,89	20,69*	7,39**

Примітки: 1 – статистично значима різниця з показником контролю \*( $p<0,05$ ), \*\*( $p<0,01$ ), \*\*\*( $p<0,001$ ).

Таблиця 5.2

**Площа клітин переходного епітелію різних кластерів сечового міхура щурів на етапах стрептозотоцинового діабету (Mean±SD; мкм<sup>2</sup>)**

Групи тварин	Кластери клітин переходного епітелію сечового міхура			
	КЛ 1	КЛ 2	КЛ 3	КЛ 4
14-а доба досліду				
К	43,89±6,51	62,50±6,46	85,46±7,11	115,41±11,6
Д	53,0±9,90 ***	82,2±8,03 ***	111,0±8,40 ***	142,9±12,98 ***
28-а доба досліду				
К	45,8±6,52	62,9±5,74	84,8±7,22	115,4±12,06
Д	59,2±8,87 *** ###	87,4±9,29 *** ###	118,2±9,59 *** ###	160,4±15,15 *** ###
42-а доба досліду				
К	43,8±7,14	62,5±6,43	84,1±7,20	112,6±10,72
Д	50,6±6,57 *** ###	70,1±5,96 *** ###	90,9±5,86 *** ###	114,3±8,94 *** ###
56-а доба досліду				
К	43,8±7,31	61,9±6,06	84,1±7,35	112,5±11,46
Д	45,3±4,49 *** ###	57,6±4,15 *** ###	72,6±4,79 *** ###	87,8±4,59 *** ###
70-а доба досліду				
К	43,4±7,60	61,4±5,73	82,9±6,81	110,2±11,08
Д	40,6±5,15 ** ###	54,7±3,71 *** ###	68,4±4,62 *** ###	88,8±4,93 *** ###

Примітки: 1 – контрольні (К), діабетичні (Д) щурі; 2 – статистично значима різниця з показником контролю \*\*\*(p<0,001); 3 – статистично значима різниця з показником попереднього терміну ###(p<0,001)

Таблиця 5.3

**Площа ядер клітин перехідного епітелію різних кластерів сечового міхура шурів на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету (Mean $\pm$ SD; мкм $^2$ )**

Групи тварин	Кластери клітин перехідного епітелію сечового міхура			
	КЛ 1	КЛ 2	КЛ 3	КЛ 4
14-а доба досліду				
контрольні	19,3 $\pm$ 5,60	27,0 $\pm$ 5,95	30,4 $\pm$ 7,70	36,1 $\pm$ 7,85
діабетичні	23,0 $\pm$ 4,69 **	31,7 $\pm$ 6,31 ***	37,6 $\pm$ 9,89 ***	42,8 $\pm$ 9,46 **
28-а доба досліду				
контрольні	19,6 $\pm$ 4,84	27,8 $\pm$ 5,33	32,2 $\pm$ 6,76	36,0 $\pm$ 7,89
діабетичні	28,3 $\pm$ 5,37 *** ####	39,7 $\pm$ 7,07 *** ####	43,6 $\pm$ 8,48 *** ####	45,3 $\pm$ 9,58 ***
42-а доба досліду				
контрольні	19,1 $\pm$ 6,18	27,7 $\pm$ 5,78	30,4 $\pm$ 7,02	36,6 $\pm$ 7,79
діабетичні	20,6 $\pm$ 3,65 ####	25,4 $\pm$ 4,77 ** ####	30,9 $\pm$ 7,12 ####	31,9 $\pm$ 6,17 * ####
56-а доба досліду				
контрольні	18,5 $\pm$ 5,54	26,5 $\pm$ 4,99	30,5 $\pm$ 6,80	35,8 $\pm$ 8,15
діабетичні	18,9 $\pm$ 3,59 ##	22,9 $\pm$ 3,88 *** ####	28,1 $\pm$ 5,93	26,6 $\pm$ 4,66 *** #
70-а доба досліду				
контрольні	18,8 $\pm$ 4,67	26,9 $\pm$ 5,28	30,5 $\pm$ 6,89	35,3 $\pm$ 7,45
діабетичні	16,2 $\pm$ 3,93 ** #	19,3 $\pm$ 3,82 *** ####	22,2 $\pm$ 4,68 *** ####	27,3 $\pm$ 4,99 ***

Примітки: 1 – статистично значима різниця з показником контролю \*\* (p<0,01), \*\*\* (p<0,001); 2 – статистично значима різниця з показником попереднього терміну #(p<0,05), ##(p<0,01), ###(p<0,001)

На 14–28-у доби спостереження як на світлооптичному, так і ультраструктурному рівнях виявляється десквамація парасолькових клітин і клиноподібні розриви уротелію, які доходять до його проміжного шару, а на 28-у добу – до базального шару ПЕ і його БМ (рис. 5.1 і 5.2).

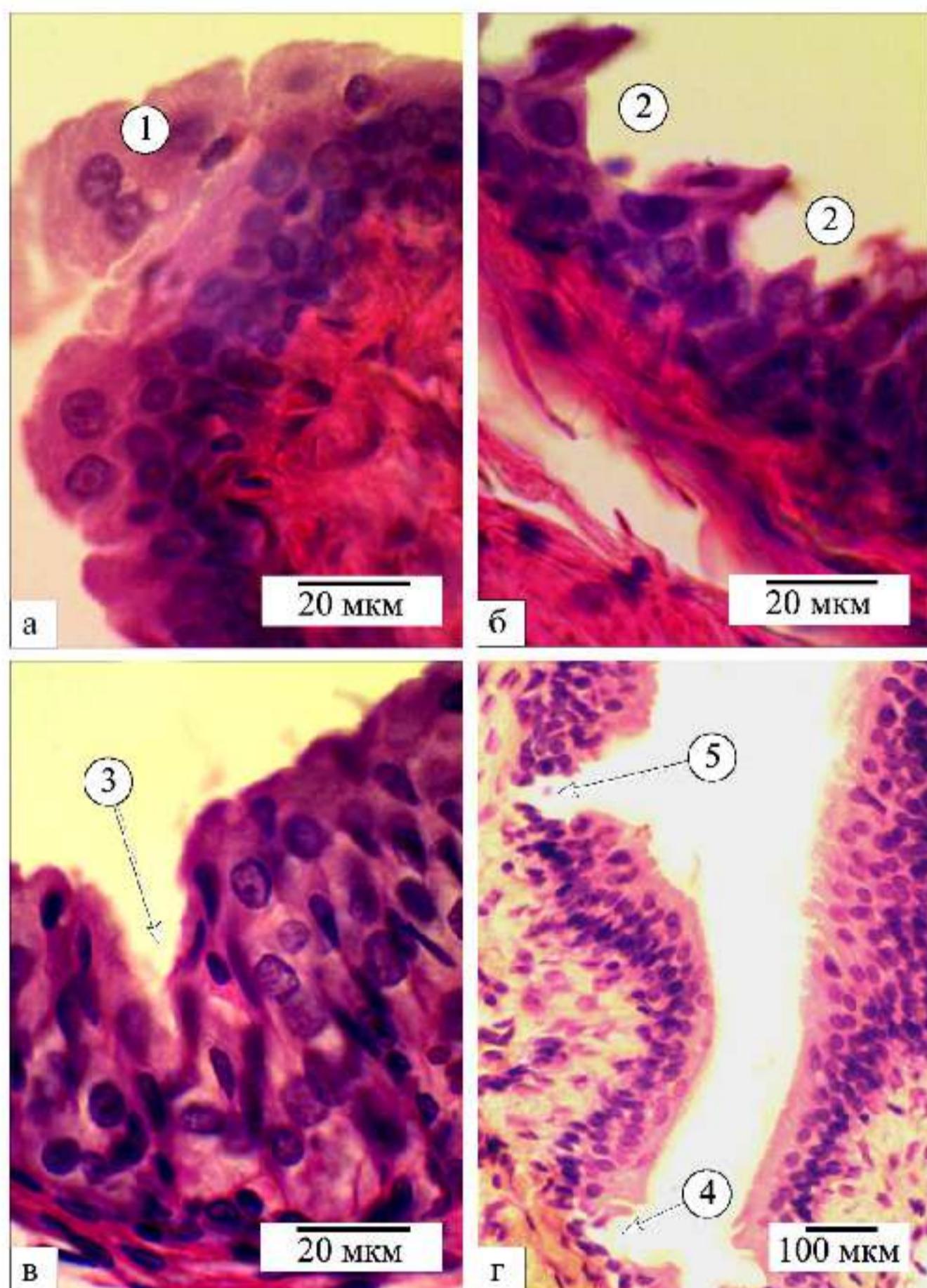


Рис. 5.1. Десквамація парасолькових клітин (а, б) і клиноподібні розриви ПЕ (в, г) на 14-у (а, в) і 28-у (б, г) доби досліду. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографії. Збільшення: об.40, ок. 10 (а–в); об.10, ок. 10 (г).

Позначення: 1 – пласт уротеліоцитів, який злущується; 2 – порожні ділянки, які залишилися після десквамації; 3 – клиноподібний розрив до рівня проміжного шару перехідного епітелію; 4 – клиноподібний розрив до рівня основного шару перехідного епітелію; 5 – розрив до базальної мембрани перехідного епітелію.

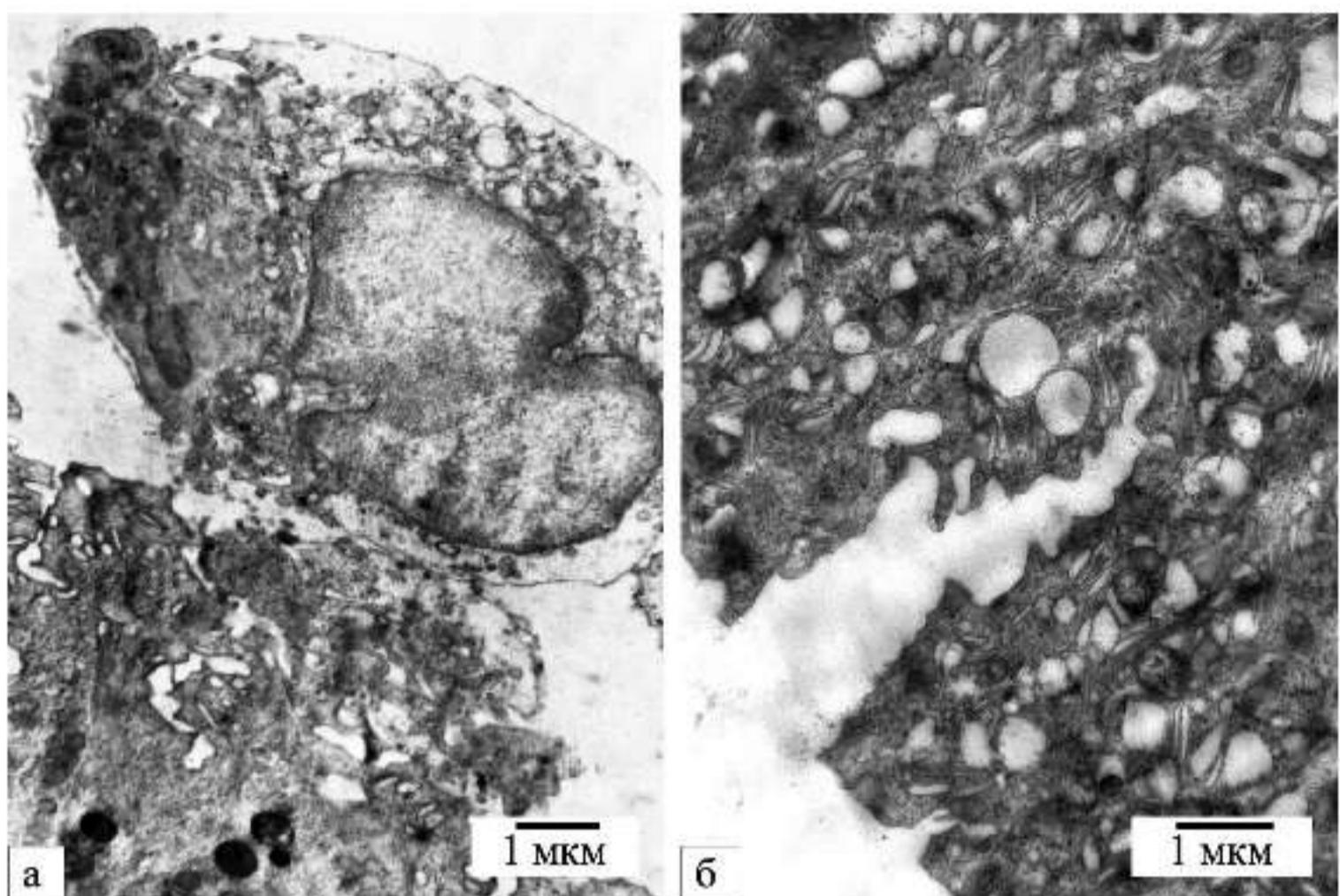


Рис. 5.2. Десквамація парасолькової клітини на 14-у добу досліду (а) і клиноподібний розрив на 28-у добу (б). Електронні мікрофотографії. Збільшення: а)  $\times 6400$ ; б)  $\times 8000$ .

Ці розриви проходять через люмінальну частину плазмолеми парасолькових клітин. Поширяються вони вглибину цих клітин у результаті пришвидшеного екзоцитозу великих уротеліальних пухирців. Подальше їхнє поширення в напрямку до БМ уротелію відбувається між уротеліоцитами внаслідок розривів міжклітинних сполучень, що спричиняє надмірне розтягування стінки СМ при 12–18-кратному збільшенні діурезу, який швидко і постійно наповнює СМ до припустимої межі. Розриви сполучних комплексів в указаний період досліду ми не спостерігали.

Отримані методом кластеризації k-середніх відсотки клітин, які формують кожний кластер, дали можливість встановити, що в період з 14-ї до 28-ї доби експерименту порушується структурно-функціональна рівновага, яка притаманна для норми, між клітинними сукупностями КЛ 1 і 4 та КЛ 2 і 3.

Гістологічно і ультраструктурно визначено, що причиною цих змін є десквамація клітин ПЕ.

У діабетичних щурів на 14–28-у доби досліду площа уротеліоцитів усіх КЛ, як і площа їхніх ядер збільшується. Так площа клітин КЛ 1, 2, 3 і 4 (див. табл. 5.2) на 14-у добу, у порівнянні з контролем, збільшується, відповідно в 1,21; 1,31; 1,30 і 1,24 раза, а на 28-у добу стає ще більшою за контроль, відповідно в 1,29; 1,39; 1,40 і 1,39 раза (в усіх випадках  $p<0,001$ ). Подібним чином змінюється також площа ядер цих уротеліоцитів (див. табл. 5.3). Тобто на 14-у добу спостереження їхня площа в клітинах КЛ 1, 2, 3 і 4 зростає, у порівнянні з контролем, відповідно в 1,19; 1,17; 1,25 і 1,18 раза, а на 28-у добу зростає ще більше, відповідно – в 1,44; 1,43; 1,35 і 1,23 раза ( $p<0,01–0,001$ ).

Ми встановили, що вказані вище морфометричні зміни спричинені розвитком вакуольної дистрофії, яка на гістологічних препаратах виявляється як світлі ділянки цитоплазми, які не сприймають еозин (рис. 5.3). Найчастіше ці світлі ділянки локалізуються навколо ядер уротеліоцитів. Власне на гістологічних зразках чітко видно, що вакуольна дистрофія наявна одночасно в уротеліоцитах усіх шарів ПЕ, особливо, у проміжному і основному, і може бути менше чи більше вираженою в кожний із двох термінів.

На ультраструктурному рівні визначається вакуольна трансформація мітохондрій, в яких виявляються дрібнозернисті, сітчасті чи тонкофібрилярні структури (рис. 5.4 а). У таких уротеліоцитах можуть спостерігатися апоптозні ядра (рис. 5.4 б). Водночас ідентифікується розширення навколоядерного простору, розширення канальців і цистерн та вакуолізація ендоплазматичної сітки (рис. 5.4 в). Вакуолі часто розташовуються у вигляді кільця навколо ядра (рис. 5.4 г), що пояснює локалізацію просвітлених ділянок цитоплазми на гістологічних препаратах. Рідина нагромаджується також у фаголізосомах, в яких активуються гідролітичні ферменти, які розривають молекулярні зв'язки біополімерів із присиднанням молекули води. У таких вакуолях можна спостерігати нерозщеплені залишки різної величини і щільності (рис. 5.4 б, г).

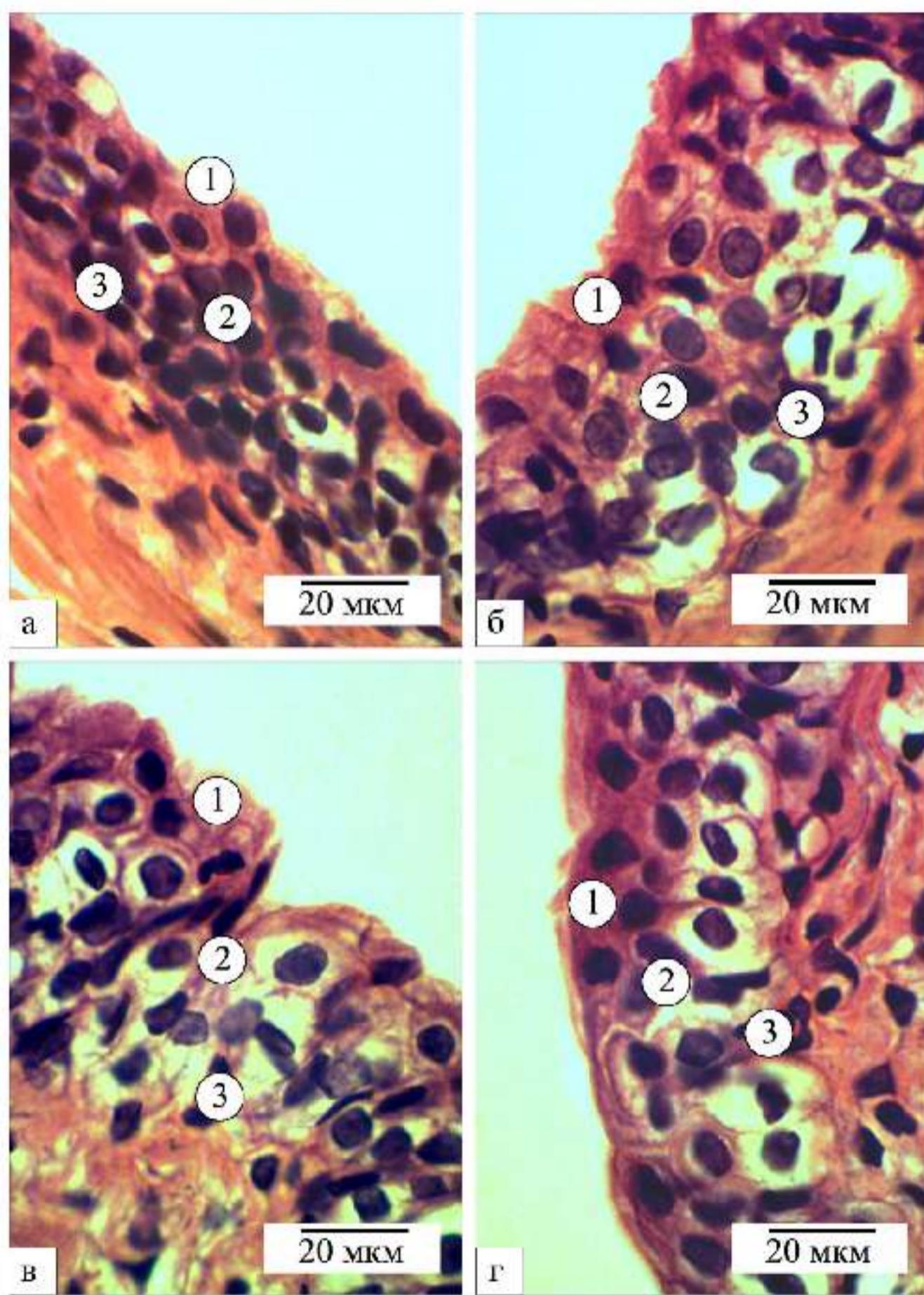


Рис. 5.3. Вакуольна дистрофія уротеліоцитів на 14-у (а, б) і 28-у (в, г) доби досліду. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографії. Збільшення: об.40, ок. 10.

Позначення: 1 – парасолькові клітини; 2 – клітини проміжного шару уротелію сечового міхура; 3 – клітини основного шару переходного епітелію.

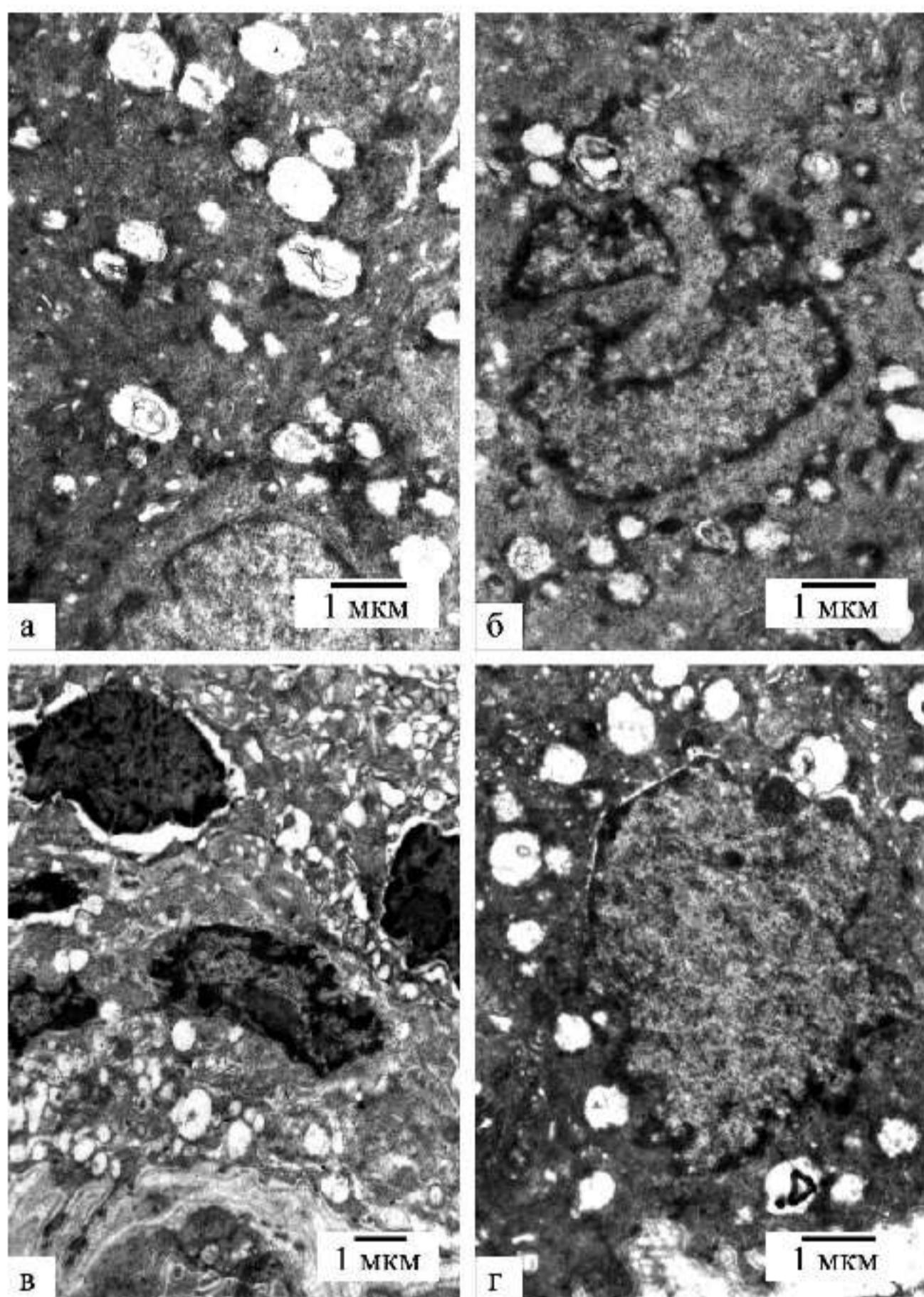


Рис. 5.4. Вакуольна дистрофія уротеліоцитів поверхневого (а), проміжного (б) і базального (в, г) шарів ПЕ СМ на 14-у (а, в) і 28-у (б, г) доби досліду, набухання і вакуольна трансформація мітохондрій (а, г), наявність апоптозних ядер (б), розширенням каналців і цистерн та вакуолізацією ендоплазматичної сітки, розширення навколоядерного простору (в). Електронні мікрофотографії. Збільшення: ×8000 (а, б, г); ×6400 (в).

На 42–56–70-у доби від початку індукції СД кількість клітин, що формують кластери (%) мало чим відрізняються від таких за період 14–28-ї доби (див. табл. 5.1). Так, частка клітин, яка утворює КЛ 1 у ці терміни залишається більшою за контроль, відповідно в 2,53; 2,07; 1,90 раза ( $p<0,001$ ), а відсотки клітин, що ідентифікують КЛ 2 не відрізняються від контролю ( $p>0,05$ ). Частка уротеліоцитів, що утворює КЛ 3 залишається меншою від контролю, відповідно в 1,68; 1,83; 1,80 раза ( $p<0,05–0,001$ ). Кількість клітин, що визначають КЛ 4, ще більше зменшуються в ці терміни досліду, відповідно в 2,30; 2,25; 2,09 раза і статистично значимо відрізняються від контролю ( $p<0,01$ ). Слід відмітити, що відсотки клітин, які формують усі кластери, починаючи з 28-ї доби і до кінця експерименту, статистично значимо не відрізняються від таких у кожному попередньому терміні спостереження.

Зовсім інша, у порівнянні з двома попередніми термінами, спостерігається динаміка змін метричних показників, які характеризують площу уротеліоцитів та їхніх ядер, на 42-, 56- і 70-у доби спостереження. Так, починаючи з 42-ї доби і до кінця досліду, площа уротеліоцитів КЛ 1, 2, 3 і 4 (див. табл. 5.2) прогресивно зменшується і на 70-ту добу, у порівнянні з 28-ю, стає меншою, відповідно в 1,42; 1,60; 1,73 і 1,81 раза ( $p<0,001$ ). При цьому, у порівнянні з контролем, площи клітин КЛ 1, 2, 3 і 4 залишаються меншими, відповідно, в 1,07; 1,12; 1,21 і 1,24 раза ( $p<0,01–0,001$ ). Подібним чином змінюється також площа ядер уротеліоцитів (див. табл. 5.3), яка прогресивно зменшується від 42-ї до 70-ї доби і на кінець експерименту, у порівнянні з 28-ю добою досліду, стає меншою в клітинах КЛ 1, 2, 3 і 4, відповідно, в 1,65; 2,06; 1,96 і 1,66 раза ( $p<0,001$ ). Водночас площа ядер цих клітин стає меншою за контроль в 1,16; 1,39; 1,37 і 1,29 ( $p<0,01$ ).

На 42- і 56-у доби досліду десквамація ПЕ СМ наростає, що ідентифікується як на гістологічних зразках (рис. 5.5), так і електронно-мікроскопічно (рис. 5.6 а, б). Десквамації піддаються не тільки парасолькові клітини, а також клітини проміжного шару ПЕ і, навіть, базальні уротеліоцити.

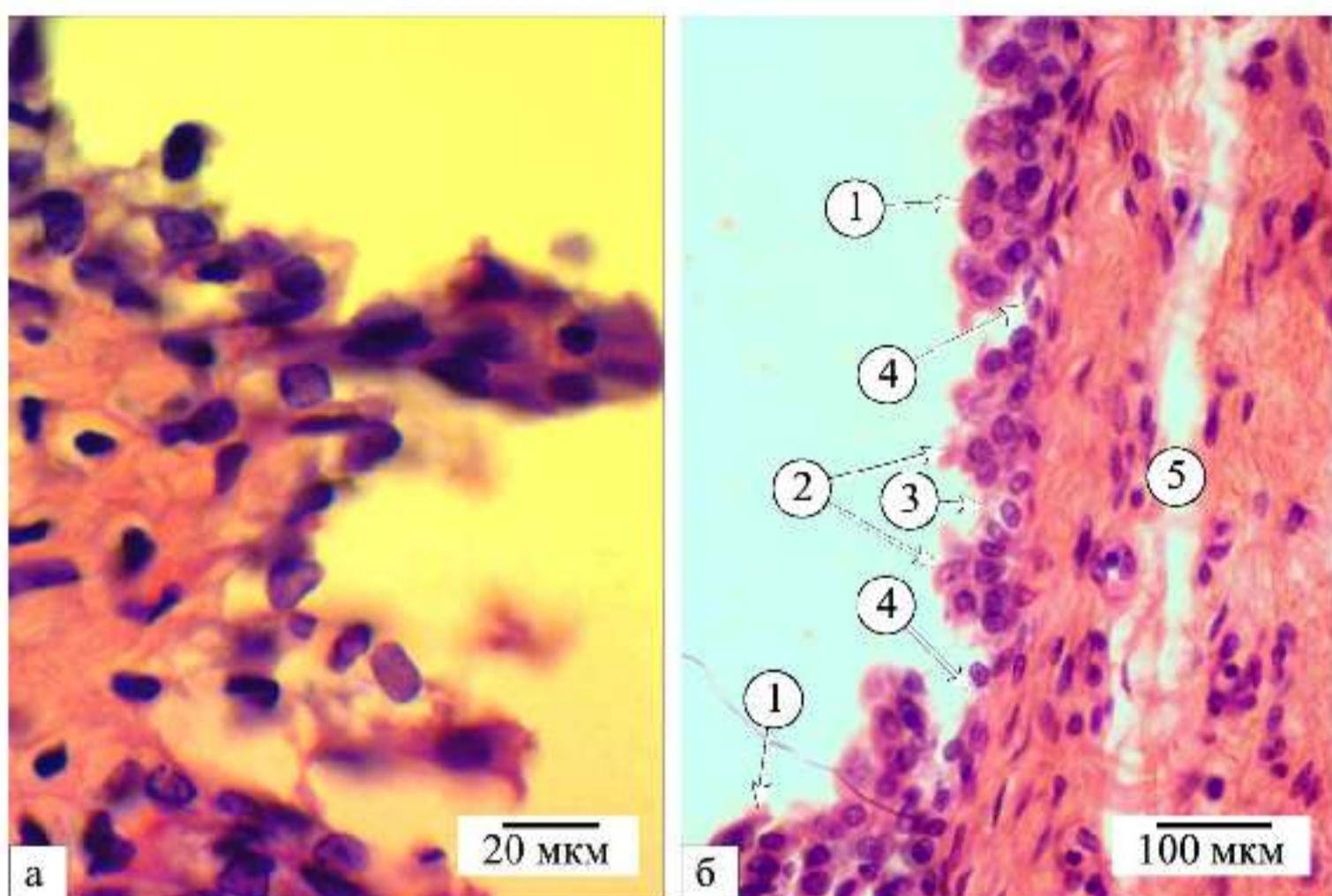


Рис. 5.5. Тотальна десквамація клітин переходного епітелію сечового міхура (а) на 42-у добу досліду і порушення стратифікації переходного епітелію (б) на 56-у добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографії. Збільшення: об.40, ок. 10 (а); об.10, ок. 10 (б).

Позначення: 1 – три шари переходного епітелію; 2 – два шари переходного епітелію; 3 – один шар переходного епітелію; 4 – оголення базальної мембрани уротелію, 5 – інтерстиційний набряк.

У деяких ділянках ПЕ відмічається тотальна десквамація його клітин (див. рис. 5.5 а; рис. 5.6 а, б). При цьому найчастіше десквамації піддаються спочатку парасолькові клітини, а потім клітини проміжного шару ПЕ, але трапляються ділянки, де водночас злущуються клітини всіх шарів уротелію. Ці процеси призводять до атрофії ПЕ, в якому визначається три, два чи один шар клітин, а в деяких ділянках оголюється БМ уротелію (див. рис. 5.5 б). У дані терміни досліду виявляються клітини, в яких вакуолі зливаються у великі пухирі – балони, що стискають ядро та органели (рис. 5.6 в, г).

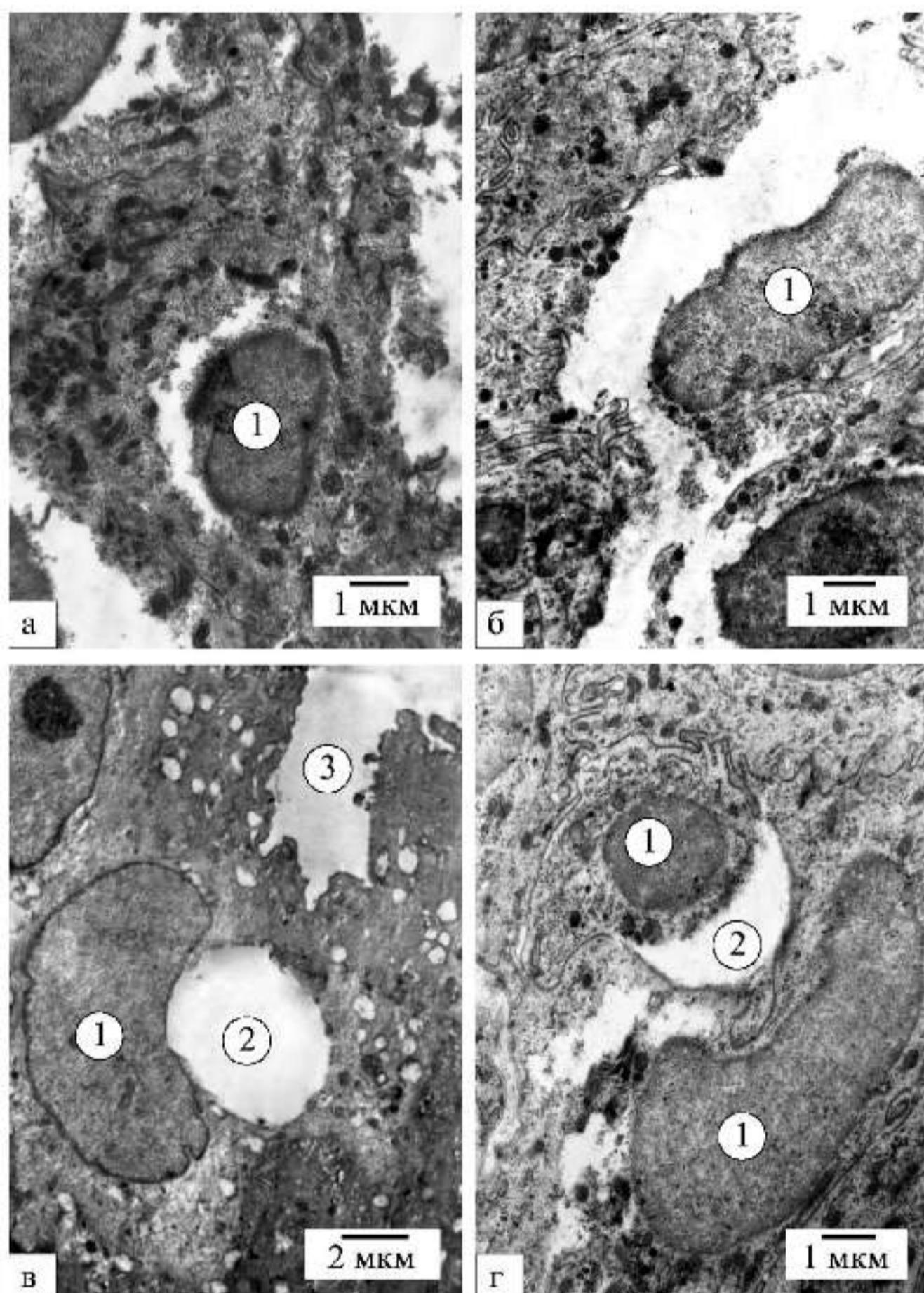


Рис. 5.6. Тотальна десквамація парасолькових клітин на 42-у (а) і клітин проміжного шару уротелію на 56-у (б) доби досліду. Балонова дистрофія парасолькових клітин (в) і базальних уротеліоцитів (г) на 56-у добу розвитку цукрового діабету. Електронні мікрофотографії. Збільшення: ×6400 (а, б, г); ×4000 (в).

Позначення: 1 – ядра уротеліоцитів; 2 – балони, які стискають ядра; 3 – ділянка руйнування верхівкового полюсу парасолькової клітини.

Із 56-ї і до 70-ї доби досліду деякі уротеліоцити виглядають дегідратованими (рис. 5.7).

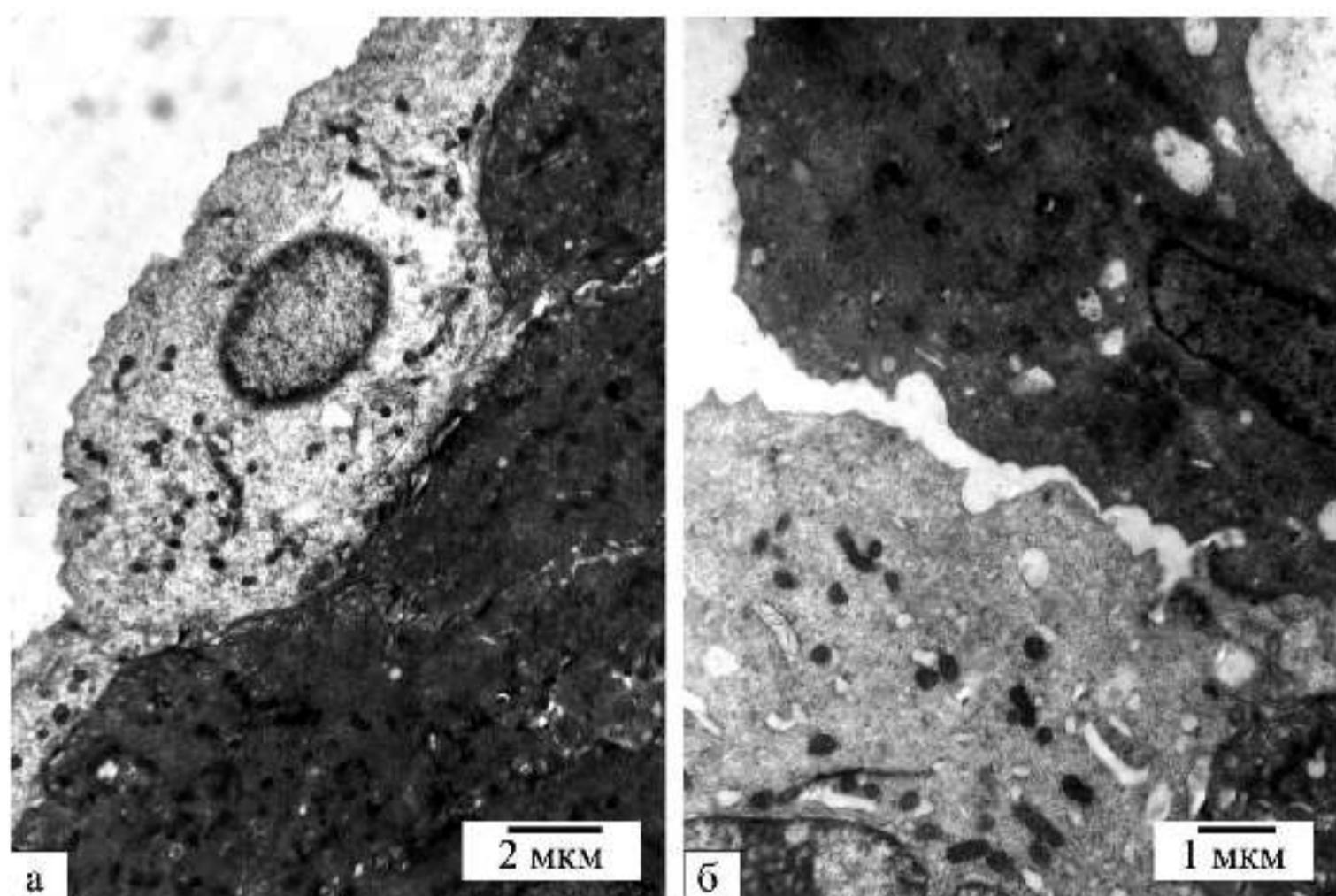


Рис. 5.7. Просвітлені парасолькові клітини на тлі дегідратованих осміофільних клітин ПЕ СМ на 56-у (а) і 70-у (б) добу досліду. Щілиноподібні розриви сполучних комплексів між парасольковими клітинами (б). Електронні мікрофотографії. Збільшення: ×4000 (а); ×6400 (б).

Матрикс цитоплазми дегідратованих уротеліоцитів осміофільний із малим вмістом уротеліальних пухирців і цитоплазматичних органел. ГрЕС виявляється тяжко, її цистерни короткі. КГ представлений тільки дрібними пухирцями, які віддалені від ядра і займають невелику площа. Мітохондрії зменшуються за розміром і кількістю, їхній матрикс стає електроннощільним, гребені не визначаються. Є також багато набухлих мітохондрій із різноманітним вмістом. Треба відмітити, що на 56-у добу досліду поряд із такими клітинами визначаються уротеліоцити з просвітленою цитоплазмою (див. рис. 5.7 а) і вторинними лізосомами, які розпадаються, що вказує на

переважання в цитоплазмі цих клітин процесів лізису. Ядра таких клітин округлі з просвітленою нуклеоплазмою і гетерохроматином, який конденсується під ядерною оболонкою. Такі клітини простежуються в усіх шарах ПЕ СМ. На 56–70-у доби від початку індукції СД часто виявляються розриви сполучних комплексів, які ведуть до щілиноподібних розширень між парасольковими клітинами. Такі щілини можуть утворюватися як між дегідратованими парасольковими клітинами, так і з нормальнюю структурою, а також між уротеліоцитами, з яких один є дегідратованим, а інший – звичайної будови (див. рис. 5.7 б). У проміжному і основному шарах ПЕ СМ часто спостерігаються розширені міжклітинні простири.

На ультраструктурному рівні ми визначали товщину БМ уротелію в усі періоди розвитку СД. Досліджено, що на 14-у добу досліду товщина БМ становить  $(82,35 \pm 27,23)$  нм, а на 28, 42, 56 і 70-у доби, відповідно  $(86,96 \pm 24,55)$ ;  $(88,66 \pm 30,20)$ ;  $(88,36 \pm 22,42)$  і  $(89,86 \pm 22,96)$  нм. У перші три терміни БМ уротелію значимо не відрізняється від норми ( $p > 0,05$ ). Тільки на 56- і 70-у доби експерименту вона стає незначно ширше за норму, відповідно в 1,05 раза ( $p < 0,05$ ) і в 1,07 раза ( $p < 0,01$ ).

## **5.2. Зміни в будові гладких міоцитів і колагенових волокон сечового міхура на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету**

ЦД викликає діабетичну цистопатію, яку пов'язують із дисфункцією м'яза-детрузора, що призводить до зміни сечовидільної здатності СМ. Колагенові волокна, які складають основну частину волокнистих структур позаклітинного матриксу стінки СМ, причетні до його здатності збільшувати свій об'єм, що є важливим при поліурії, яка розвивається при різних формах ЦД. Багатократне швидке і надмірне наповнення СМ при поліурії спричиняє гідродинамічну травму уротелію, що веде до перебудови гладких міоцитів та колагенових волокон і зміни їхнього об'єму, який на гістологічних зрізах СМ, забарвлених за методом Массона, можна ідентифікувати за його площею. Мікрофотографії таких гістологічних зразків СМ при СД подані на рис. 5.8.

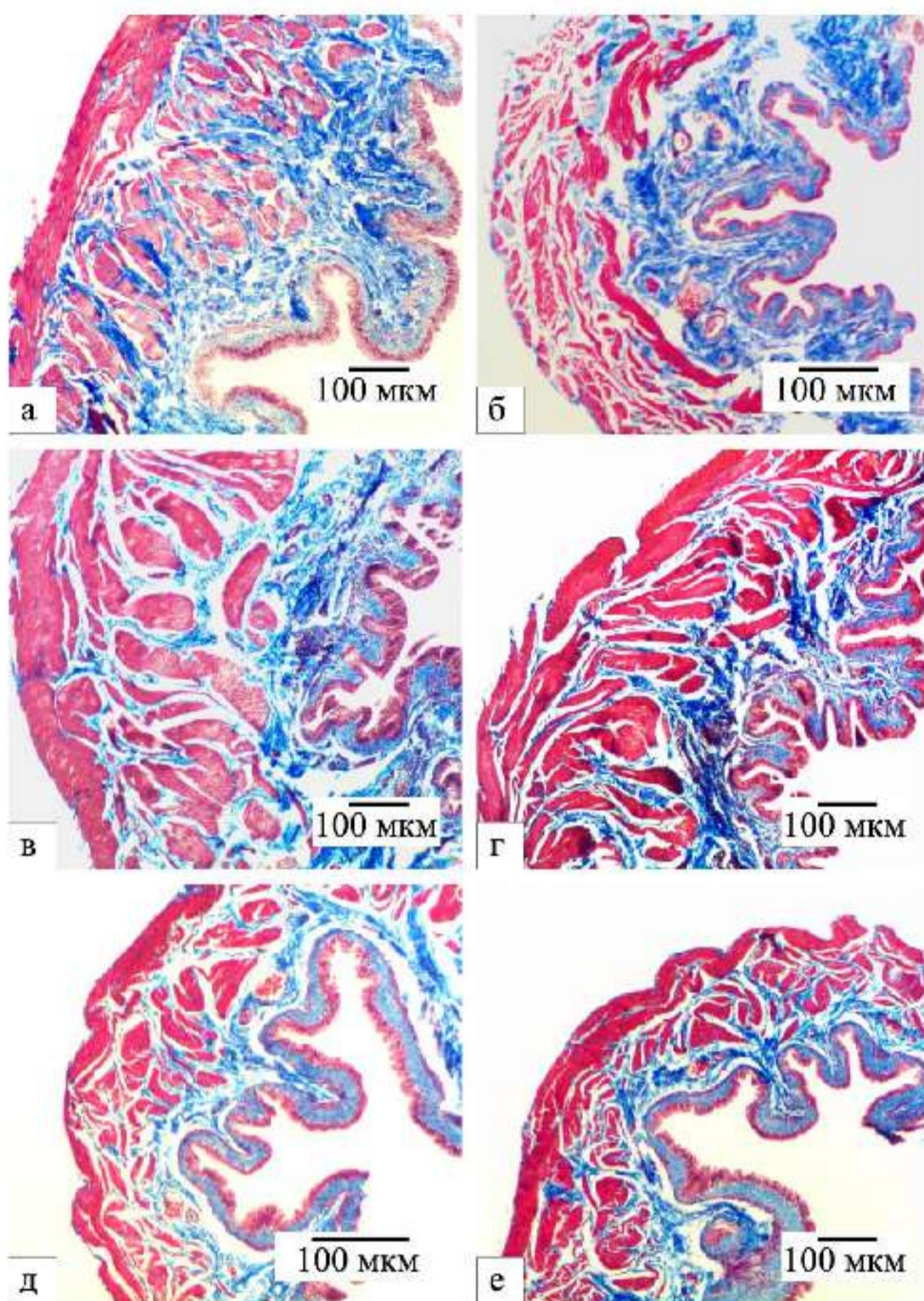


Рис. 5.8. Гладкі міоцити (червоний колір), колагенові волокна (синій колір), уротелій ( рожевий колір із фіолетовим відтінком) на екваторіальних зрізах сечового міхура в нормі (а) і на 14-у (б), 28-у (в), 42 (г), 56-у (д) і 70-у (е) доби досліду. Забарвлення: трихромний метод за Массоном. Мікрофотографії. Збільшення: об.10, ок. 10.

Результати, отримані за допомогою розробленого нами оригінального методу [72], який дозволяє представити площу уротелію, колагенових волокон і

гладких міоцитів у відсотках до їхньої загальної площі без урахування площі, яку займає основна речовина міжклітинного простору, подані в табл. 5.4. Із таблиці видно, що в контрольних тварин частка площ, які припадають на уротелій, колагенові волокна і гладкі міоцити з загальної їхньої площі статистично значимо не відрізняється від норми.

У діабетичних щурів відсоток площі уротелію статистично значимо відрізняється від контролю тільки на 28-у добу розвитку СД – збільшується в 1,40 раза ( $p<0,01$ ).

Відсоток площі колагенових волокон стінки СМ спочатку прогресивно зменшується. Так, на 14-у добу досліду він стає меншим від контролю в 1,23 раза ( $p<0,05$ ), а на 28-у – в 1,92 раза. ( $p<0,001$ ). У наступні два терміни спостерігається зворотний процес і на 56-у, у порівнянні з 28-ю добою, відсоток площі колагенових волокон статистично значимо зростає в 1,55 раза ( $p<0,001$ ). При цьому на 42- і 56-у доби частка колагенових волокон залишається меншою від контролю в 1,69 і 1,40 раза ( $p<0,001$ ).

Нами встановлено, що в діабетичних щурів, у порівнянні з контрольними, відсоток площі гладких міоцитів СМ починає зростати з 14-ї доби розвитку СД і на 28-у добу значимо збільшується в 1,30 раза ( $p<0,001$ ). На 42-у добу частка площі гладких міоцитів залишається більшою за контроль в 1,29 раза ( $p<0,001$ ) і не відрізняється від попереднього терміну. Натомість на 56-у добу досліду відсоток площі гладких міоцитів зменшується, як у порівнянні з 28-ю добою, так і попереднім терміном, відповідно в 1,08 і 1,07 раза ( $p<0,01$ ), але при цьому залишається більшою за контроль в 1,20 раза ( $p<0,001$ ).

Через 70 діб від початку індукції СД відсоток площі колагенових волокон, як і відсоток площі гладких міоцитів, не відрізняються від попереднього терміну ( $p>0,05$ ), але значення первого показника залишається меншим за контроль в 1,23 раза ( $p<0,001$ ), а значення другого – більшим в 1,16 раза ( $p<0,001$ ).

Таблиця 5.4

**Показники морфометричного дослідження структурних компонентів стінки сечового міхура з використанням кольорової сегментації на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету (Mean±SD)**

Групи тварин	Частка площі (%) структурних складових стінки СМ до загальної їхньої площі		
	уротелю	пучків колагенових волокон	гладких міоцитів
14-а доба досліду			
контрольні	7,34±2,93	41,48±9,32	51,18±8,52
діабетичні	9,64±3,65	33,74±3,37*	55,91±5,56
28-а доба досліду			
контрольні	7,87±2,30	40,06±6,18	52,07±5,78
діабетичні	10,99±2,51**	20,85±3,02*** <sub>###</sub>	68,15±4,15*** <sub>###</sub>
42-а доба досліду			
контрольні	8,20±2,56	39,52±9,92	52,28±9,00
діабетичні	9,17±2,40 <sub>#</sub>	23,29±4,77*** <sub>#</sub>	67,54±5,19***
56-а доба досліду			
контрольні	7,22±2,31	40,45±7,69	52,32±7,92
діабетичні	8,24±1,79	28,87±5,35*** <sub>##</sub>	62,89±5,62*** <sub>##</sub>
70-а доба досліду			
контрольні	7,69±2,98	39,85±7,41	52,46±6,86
діабетичні	6,93±1,75 <sub>#</sub>	32,36±5,43***	60,76±5,43***

Примітки: 1 – статистично значима різниця з показником контролю \*(p<0,05), \*\*(p<0,01), \*\*\*(p<0,001); 2 – статистично значима різниця з показником попереднього терміну #(p<0,05), #(p<0,01), #(p<0,001).

Ураховуючи те, що до 70-ї доби досліду відсоток площі гладких міоцитів залишається більшим за контроль і норму (див. табл. 5.4), що опосередковано

вказує на їхню гіпертрофію, можемо стверджувати, що до кінця експерименту сечовидільна здатність СМ збережена. На 70-у добу спостереження відсоток площі колагенових волокон с нижчим як від контролю, так і норми, і говорити про дифузний фіброз стінки СМ немає підстави. Вищесказане вказує на користь того, що ДЦ щурів залишається компенсованою до кінця експерименту, який ми проводили.

При електронномікроскопічному дослідженні ми встановили ряд закономірностей ультраструктурної перебудови гладких міоцитів за умови розвитку СД. Насамперед слід відмітити, що деякі типи гладких міоцитів СМ спостерігаються впродовж усіх термінів експерименту. До таких міоцитів ми відносимо гладкі міоцити, які за ультраструктурною будовою суттєво не відрізняються від таких у контрольних та інтактних щурів. Окрім того, упродовж розвитку СД трапляються гладкі міоцити, які знаходяться в стані функціональної напруги, що підтверджується їхньою морфологічною будовою: ядрами великих розмірів, які мають численні випини та інвагінації ядерної оболонки; великою кількістю вільних рибосом і включень глікогену, що знаходяться біля полюсів ядра; збільшенням величини і вмісту мітохондрій, які виявляються поблизу ядра і рідше сарколеми чи в саркоплазмі. Такі міоцити є світлими і мають чітко виражені міофіламенти, що розміщуються в саркоплазмі паралельно одні до одних в одному напрямку. Найчастіше їх можна бачити на 28- і 42-у доби досліду, коли визначається найбільший відсоток площі гладких м'язів (рис. 5.9).

Упродовж усього експерименту наявні також темні гладкі міоцити, які з кожним терміном розвитку СД ідентифікуються все частіше. Ми встановили, що ці клітини є двох типів. В одних – органели (особливо мітохондрії), кавеоли і субсарколемальні пухирці та міофіламенти збережені, хоча проглядаються трудніше (рис. 5.10 а). Такі міоцити ми відносимо до темних функціонуючих гладких міоцитів, які спостерігаються також у контрольних та інтактних щурів.

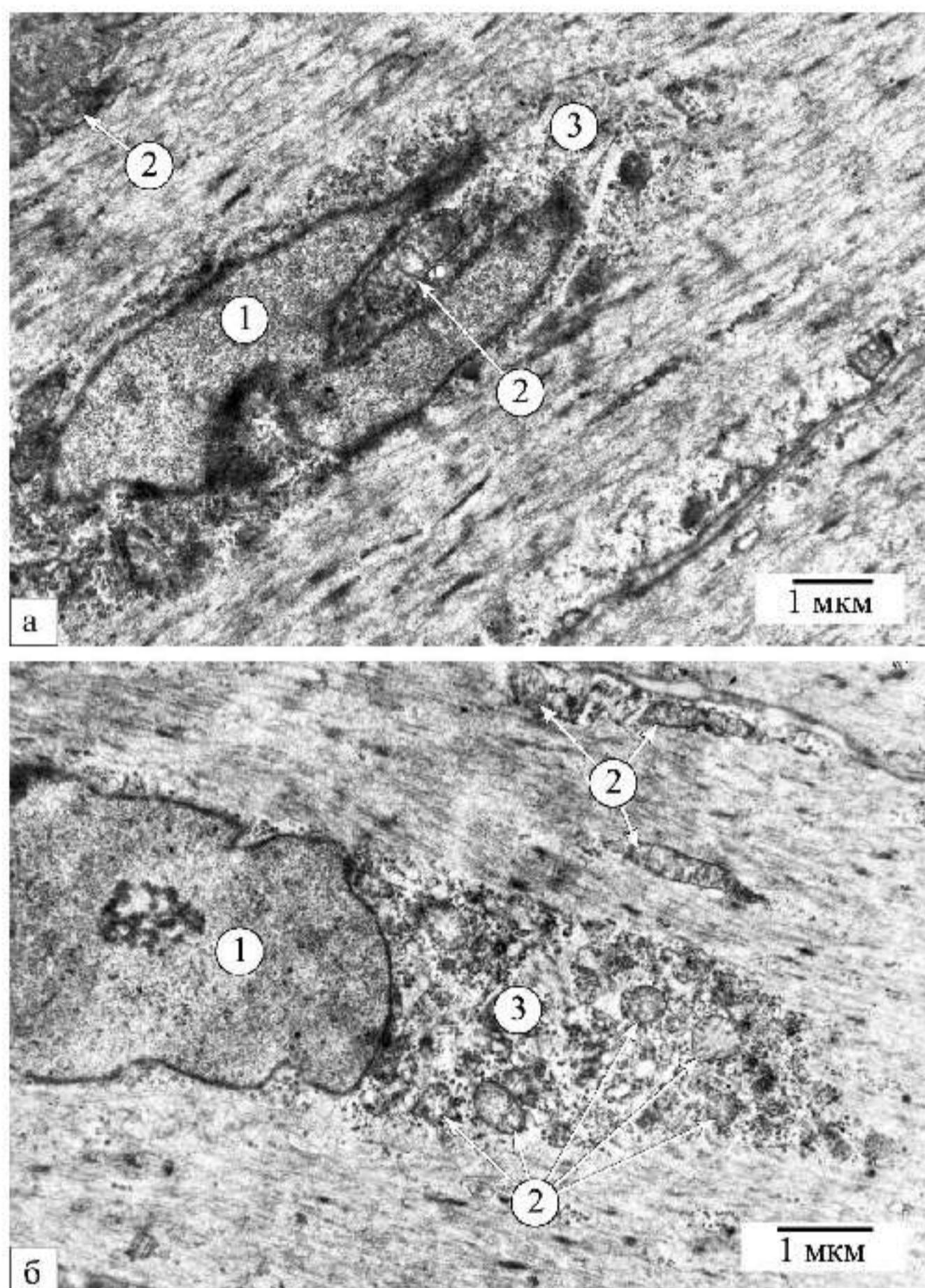


Рис. 5.9. Ультраструктурна будова гладких міоцитів, які знаходяться в стані функціональної напруги на 28-у (а) і 42-у (б) доби досліду. Електронні мікрофотографії. Збільшення:  $\times 6400$  (а);  $\times 8000$  (б).

Позначення: 1 – великі ядра, з інвагінаціями ядерної оболонки; 2 – мітохондрії; 3 – вільні рибосоми і включення глікогену.

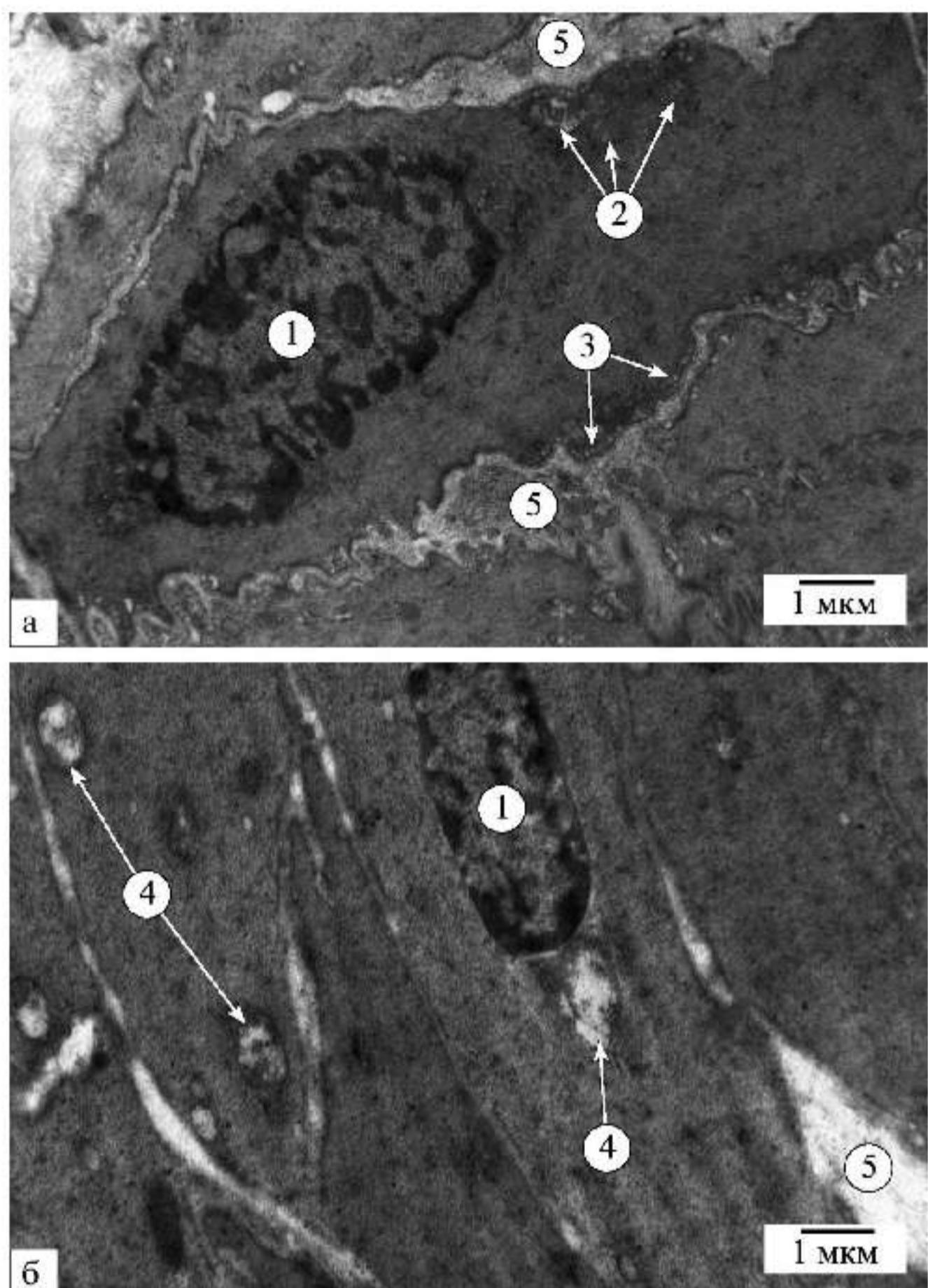


Рис. 5.10. Ультраструктура темних функціонуючих гладких міоцитів (а) і темних міоцитів інволютивного типу (б) на 14-у (а) і 42-у (б) доби спостереження. Електронні мікрофотографії. Збільшення:  $\times 6400$ .  
Позначення: 1 – ядро; 2 – мітохондрії зі збереженими гребенями; 3 – кавеоли і субсарколемальні пухирці; 4 – набухлі мітохондрії зі зруйнованими гребенями; 5 – розширення міжклітинного простору.

Інші темні міоцити мають осміофільну і часто вакуолізовану цитоплазму, набухлі мітохондрії з деструкцією гребенів, мало інших органел і нечисленні міофіламенти, піноцитозні пухирці (див. рис. 5.10 б). Ці темні міоцити ми відносимо до інволютивних, які знаходяться в стані некробіозу. Із темних гладких міоцитів вміст перших із тривалістю розвитку СД зменшується, а других – збільшується.

Окрім описаного вище, із 14-ї і до 42-ї доби досліду найбільш характерними змінами в гладкій м'язовій тканині СМ є розширення і часто просвітлення міжклітинного простору, його набряк (див. рис. 5.10; рис. 5.11 а). На 28-у добу найбільш вагомим є розвиток вакуольної дистрофії гладких міоцитів, прояви якої можуть бути різними. Так, в одних міоцитах виявляється розширення навколоядерного простору, набухання мітохондрій і деструкція мітохондріальних гребенів, а поряд можуть бути міоцити з мітохондріями звичайної будови (рис. 5.11 а). Ще в інших міоцитах спостерігається виражена вакуольна трансформація мішечків та цистерн ГрЕС і трубочок та пухирців КГ (рис. 5.11 б).

На 42-у добу від початку індукції СД прояви вакуольної дистрофії в м'язовій тканині СМ не видають, а в деяких міоцитах виявляється апоптоз ядра (рис. 5.12 а). Найбільш характерним для цього терміну є поява в гладких міоцитах великих вакуоль – балонів, які стискають органели чи ядро (рис. 5.12 б). 56-а доба експерименту відрізняється від попереднього терміну стиханням явищ вакуольної та балонової дистрофій і більш вираженими змінами ядер. На 70-у добу досліду м'язова оболонка СМ характеризується відсутністю явищ вакуольної та балонової дистрофій. Більшість темних гладких міоцитів є інволютивного типу. З'являються ділянки вогнищевого фіброзу (рис. 5.12 в) і секвестрація гладких міоцитів (рис. 5.12 г).

Слід відмітити, що впродовж усіх термінів розвитку СД ми спостерігали значний поліморфізм в ультраструктурній перебудові гладких міоцитів СМ діабетичних шурів.

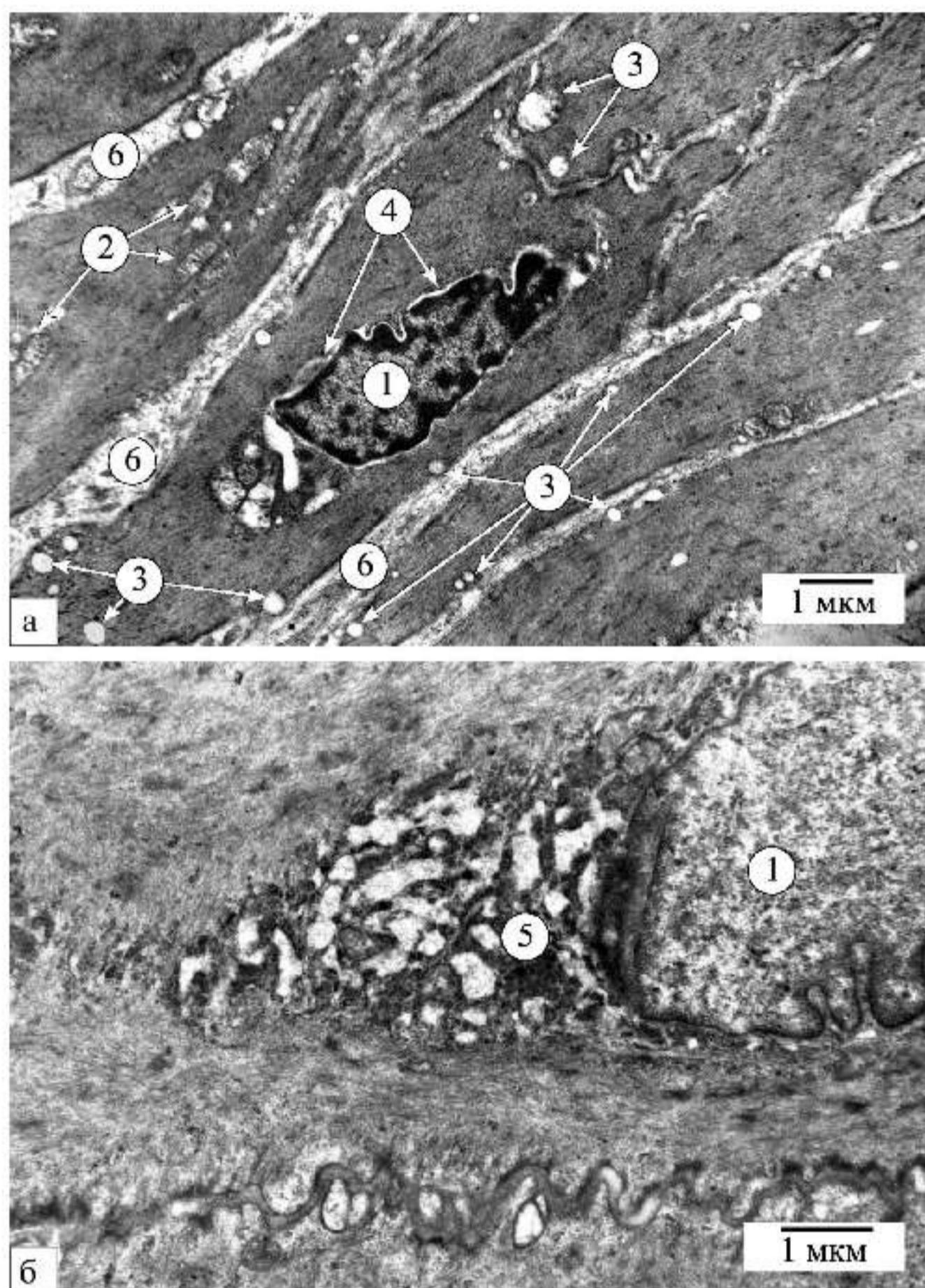


Рис. 5.11. Ультраструктурна будова гладких міоцитів з явищами вакуольної дистрофії на 28-у добу досліду. Електронні мікрофотографії. Збільшення:  $\times 6400$  (а);  $\times 8000$  (б).

Позначення: 1 – ядро; 2 – мітохондрії звичайної будови; 3 – набухлі мітохондрії зі зруйнованими гребенями; 4 – розширення навколоядерного простору; 5 – розширення цистерн та мішечків ендоплазматичної сітки і трубочок та пухирців комплексу Гольджі; 6 – розширення міжклітинного простору.

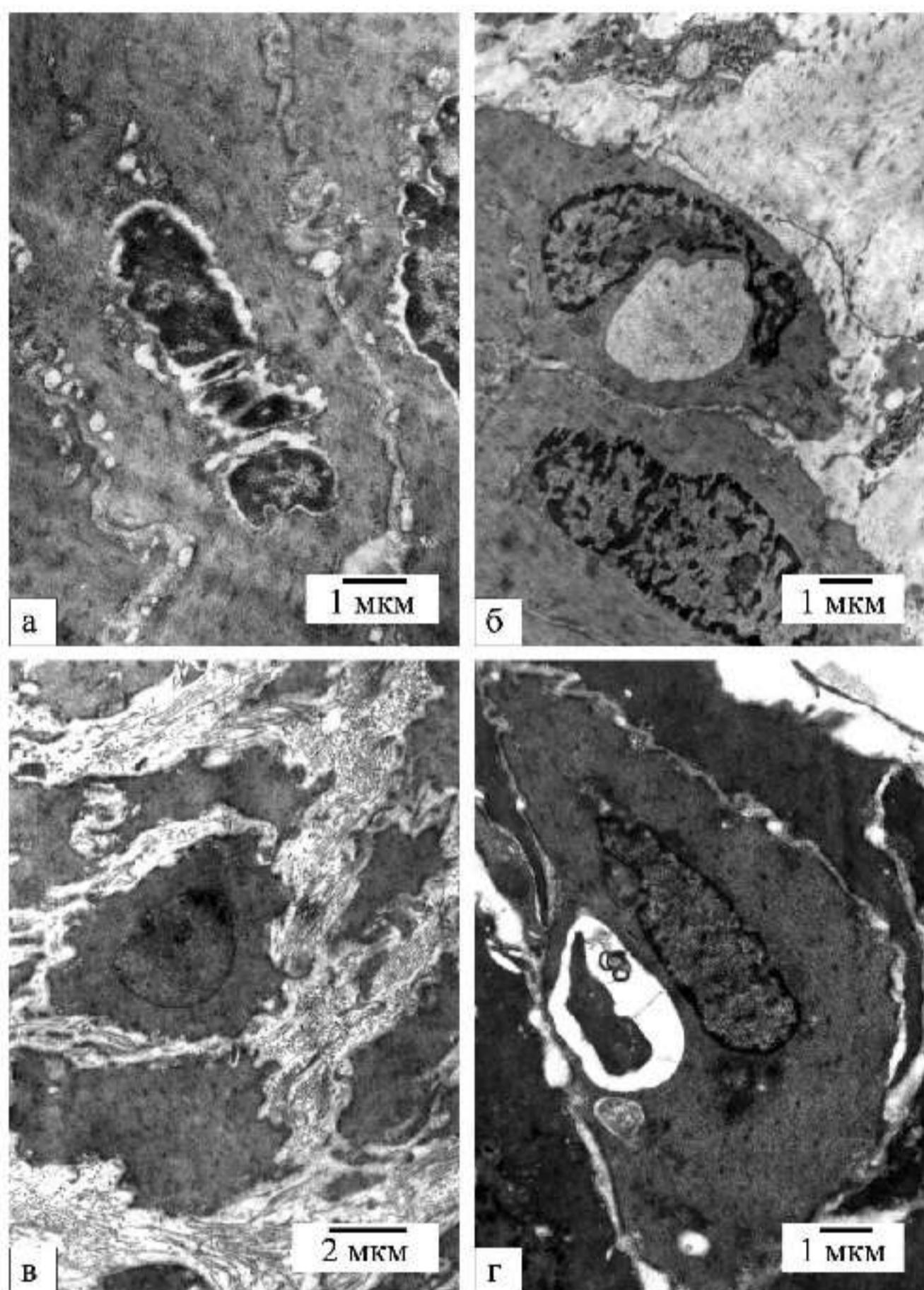


Рис. 5.12. Електронномікроскопічні зміни стінки сечового міхура на 42-у добу спостереження: гладкі міоцити з розширеним навколоядерним простором і апоптозними тільцями (а); балонова дистрофія міоцитів (б). 70-а доба спостереження: ділянки з вогнищевим фіброзом (в) і секвестрацією гладких міоцитів (г). Електронні мікрофотографії. Збільшення: ×4800 (в); ×6400 (б, г); ×8000 (а).

### 5.3. Перебудова гемосудин сечового міхура щурів на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету

У судинах підуротеліального ГМЦР визначали площу їхнього просвіту і товщину стінки. Результати морфометрії представлени в табл. 5.5 і 5.6.

*Таблиця 5.5*

#### Динаміка змін діаметра просвіту судин (мкм) підуротеліального гемомікроциркуляторного русла сечового міхура щурів на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету (Mean±SD; мкм)

Групи тварин	Відділи підуротеліального ГМЦР		
	артеріоли	капіляри	венули
14-а доба досліду			
контрольні	9,94±2,87	6,76±2,10	16,81±3,60
діабетичні	13,80±3,83 ***	8,82±1,70 ***	18,91±3,40 **
28-а доба досліду			
контрольні	9,65±2,89	7,24±2,03	16,96±3,30
діабетичні	12,96±3,99 ***	8,58±2,01 ***	19,19±3,84 **
42-а доба досліду			
контрольні	10,33±3,06	7,04±1,92	16,37±3,25
діабетичні	10,16±1,08 ***	7,43±1,40 ***	21,71±2,10 ***
56-а доба досліду			
контрольні	9,67±2,90	7,31±2,04	16,92±2,97
діабетичні	11,25±2,81 * #	6,86±1,64 ##	22,21±3,00 ***
70-а доба досліду			
контрольні	10,07±2,85	7,23±2,01	16,37±3,38
діабетичні	11,63±1,06 **	7,10±1,70	23,65±2,83 *** #

Примітки: 1 – статистично значима різниця з показником контролю \*(p<0,05), \*\*(p<0,001), \*\*\*(p<0,001); 2 – статистично значима різниця з показником попереднього терміну #(p<0,05), #(p<0,01), #(p<0,001)

Таблиця 5.6

**Товщина стінки судин (мкм) підуротеліального гемомікроциркуляторного русла сечового міхура щурів на етапах перебігу стрептозотоцинового діабету (Mean $\pm$ SD; мкм)**

Групи тварин	Відділи підуротеліального МЦР		
	артеріоли	капіляри	венули
14-а доба досліду			
контрольні	7,25 $\pm$ 2,18	1,39 $\pm$ 0,35	3,21 $\pm$ 1,41
діабетичні	7,59 $\pm$ 2,81	1,22 $\pm$ 0,40 <sup>**</sup>	2,83 $\pm$ 1,20
28-а доба досліду			
контрольні	7,32 $\pm$ 1,98	1,36 $\pm$ 0,32	3,26 $\pm$ 1,32
діабетичні	9,56 $\pm$ 1,92 <sup>***</sup> <sub>###</sub>	1,28 $\pm$ 0,34	3,75 $\pm$ 1,04 <sup>*</sup> <sub>###</sub>
42-а доба досліду			
контрольні	6,88 $\pm$ 2,03	1,35 $\pm$ 0,32	3,08 $\pm$ 1,28
діабетичні	9,63 $\pm$ 3,05 <sup>***</sup>	1,52 $\pm$ 0,37 <sup>**</sup> <sub>###</sub>	3,82 $\pm$ 0,92 <sup>**</sup>
56-а доба досліду			
контрольні	7,25 $\pm$ 2,05	1,39 $\pm$ 0,33	3,24 $\pm$ 1,36
діабетичні	7,50 $\pm$ 2,47 <sub>##</sub>	1,58 $\pm$ 0,55 <sup>*</sup>	3,17 $\pm$ 1,35 <sub>##</sub>
70-а доба досліду			
контрольні	7,28 $\pm$ 2,02	1,35 $\pm$ 0,31	3,27 $\pm$ 1,42
діабетичні	7,54 $\pm$ 4,02	1,68 $\pm$ 0,99 <sup>*</sup>	3,28 $\pm$ 1,77

Примітки: 1 – статистично значима різниця з показником контролю <sup>\*</sup>( $p<0,05$ ), <sup>\*\*</sup>( $p<0,01$ ), <sup>\*\*\*</sup>( $p<0,001$ ); 2 – статистично значима різниця з показником попереднього терміну <sub>##</sub>( $p<0,01$ ), <sub>###</sub>( $p<0,001$ )

Виходячи з того, що потовщення БМ мікрогемосудин є однією з характерних ультраструктурних ознак ЦД, ми на оцифрованих електронних мікрофотографіях капілярів підуротеліального ГМЦР у кожний термін розвитку СД проводили вимірювання зміни товщини БМ. Результати вимірювання представлені на рис. 5.13.

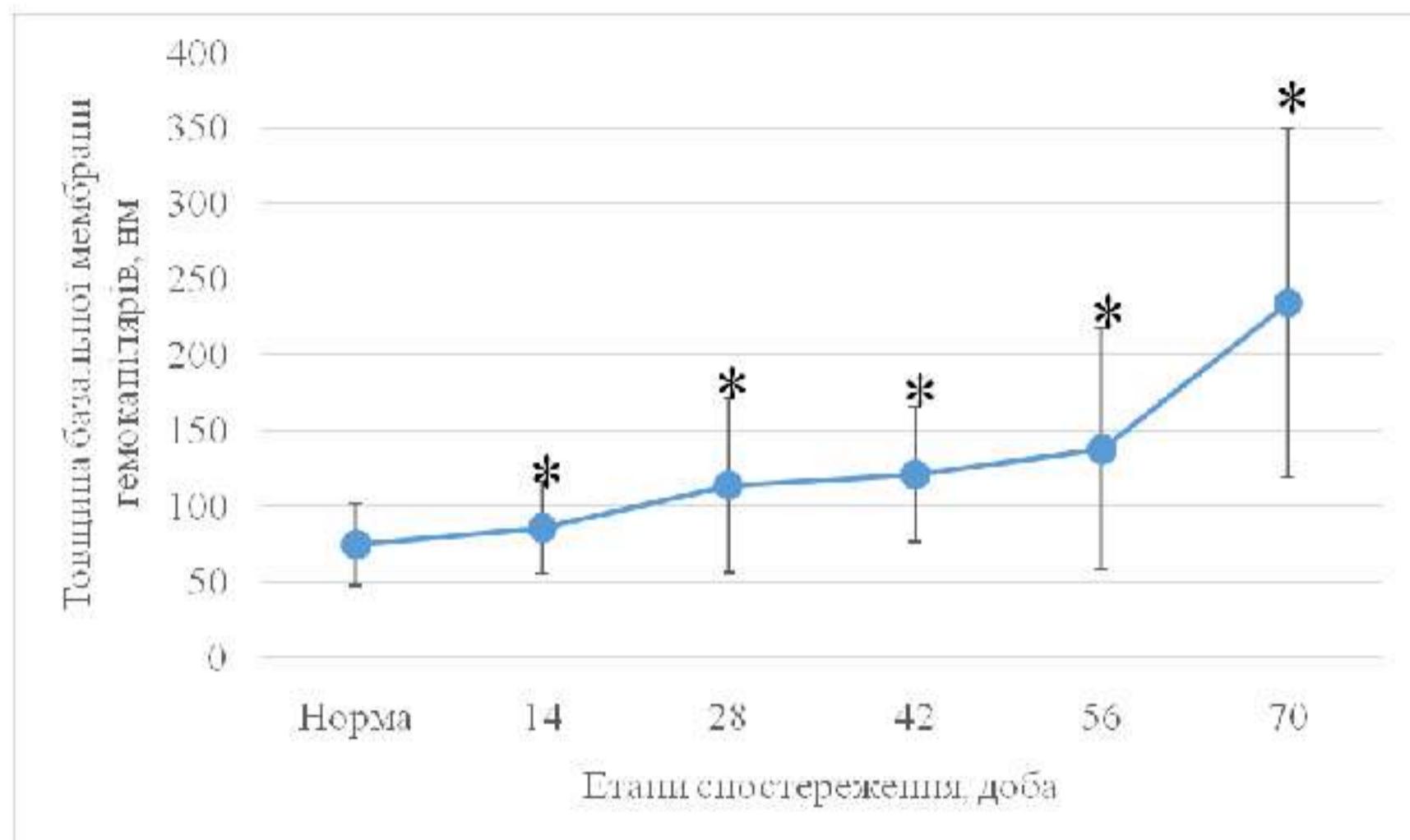


Рис. 5.13. Динаміка зміни товщини базальної мембрани капілярів підуротеліального гемомікроциркуляторного русла на етапах перебігу стрептозотоцінового діабету.

Позначення: \* – досягнутий рівень статистичної значимості, у порівнянні з нормою (в усі терміни  $p < 0,001$ ).

На 14-у добу розвитку СД спостерігається різного ступеня розширення просвіту артерій як м'язової, так і слизової оболонок СМ (рис. 5.14). Розширення просвіту вен є також різним: одні вени розширяються помірно, інші мають внутрішній діаметр, більший за контроль приблизно в 3 рази і більше. У судинах відмічається повнокров'я. Просвіт артерій та вен заповнений плазмою і наполовину форменими елементами крові, в основному еритроцитами. Відмічається набряк деяких ділянок пухкої сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки і підслизового прошарку.

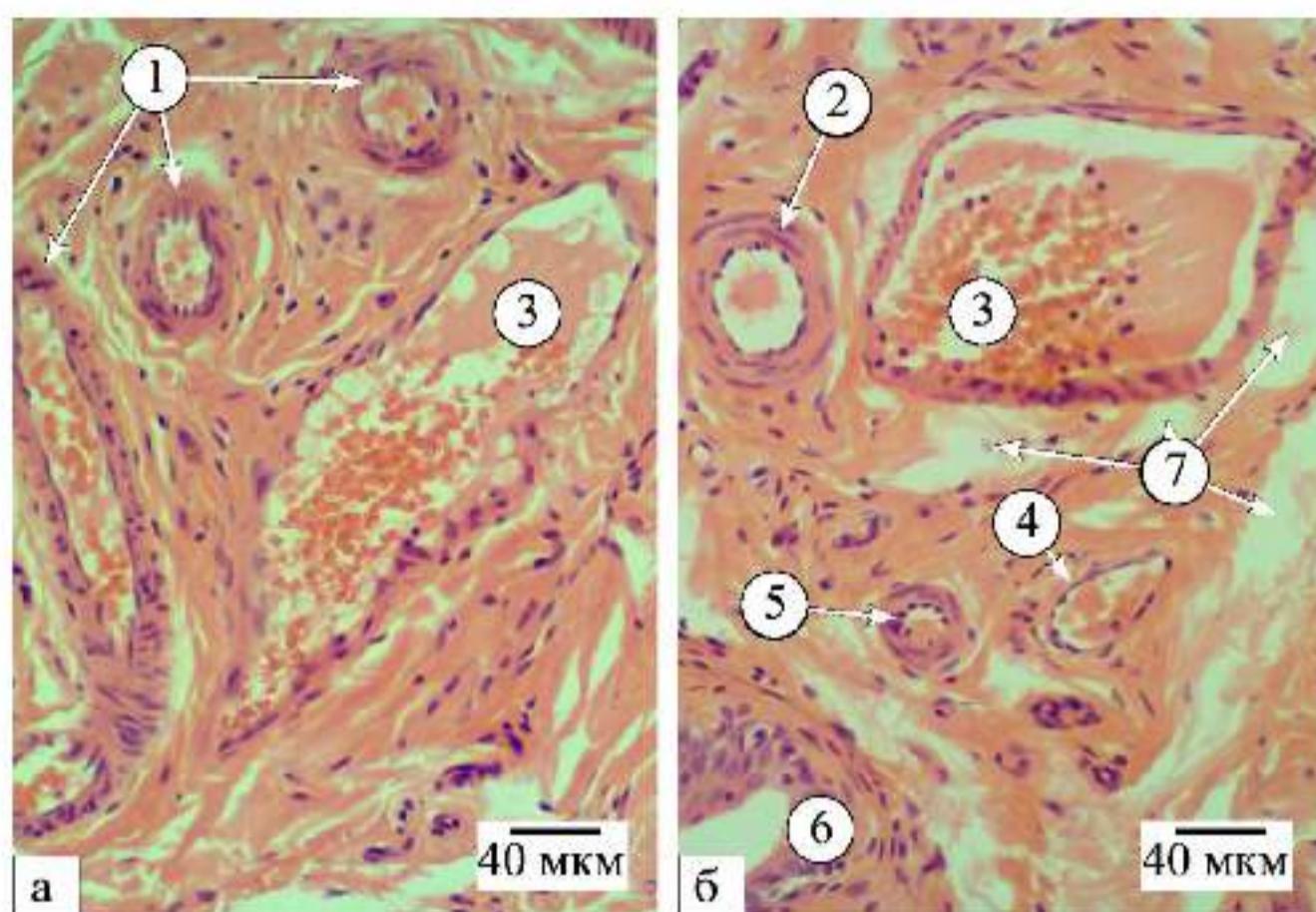


Рис. 5.14. Гемосудини м'язової (а) та слизової (б) оболонок сечового міхура на 14-у добу досліду. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографії. Збільшення: об. 20, ок. 10.

Позначення: 1 – артерії зі звичним просвітом; 2 – артерія з розширенім просвітом; 3 – розширені вени; 4 – венула; 5 – артеріола; 6 – уротелій; 7 – інтерстиційний набряк.

На 14-у добу досліду на півтонких зрізах у власній пластинці і м'язовій оболонці СМ можна побачити в окремих венулах поодинокі невеликі «монетні стовпчики» еритроцитів, що вказує на початок формування сладж-синдрому. Так, на рис. 5.15 б із 4 венул, які потрапили в півтонкий зріз, невеликий еритроцитарний сладж видно тільки в одній. В артеріях і артеріолах сладжі не спостерігаються.

На 14-у добу досліду (див табл. 5.5) діаметр просвіту артеріол підуротеліального ГМЦР, у порівнянні з контролем, збільшується в 1,38 раза ( $p<0,001$ ), гемокапілярів – в 1,30 раза ( $p<0,001$ ), а венул – тільки в 1,12 раза ( $p<0,01$ ). При цьому, товщина стінки значимо зменшується в 1,14 раза ( $p<0,01$ ) тільки в гемокапілярах (див. табл. 5.6).

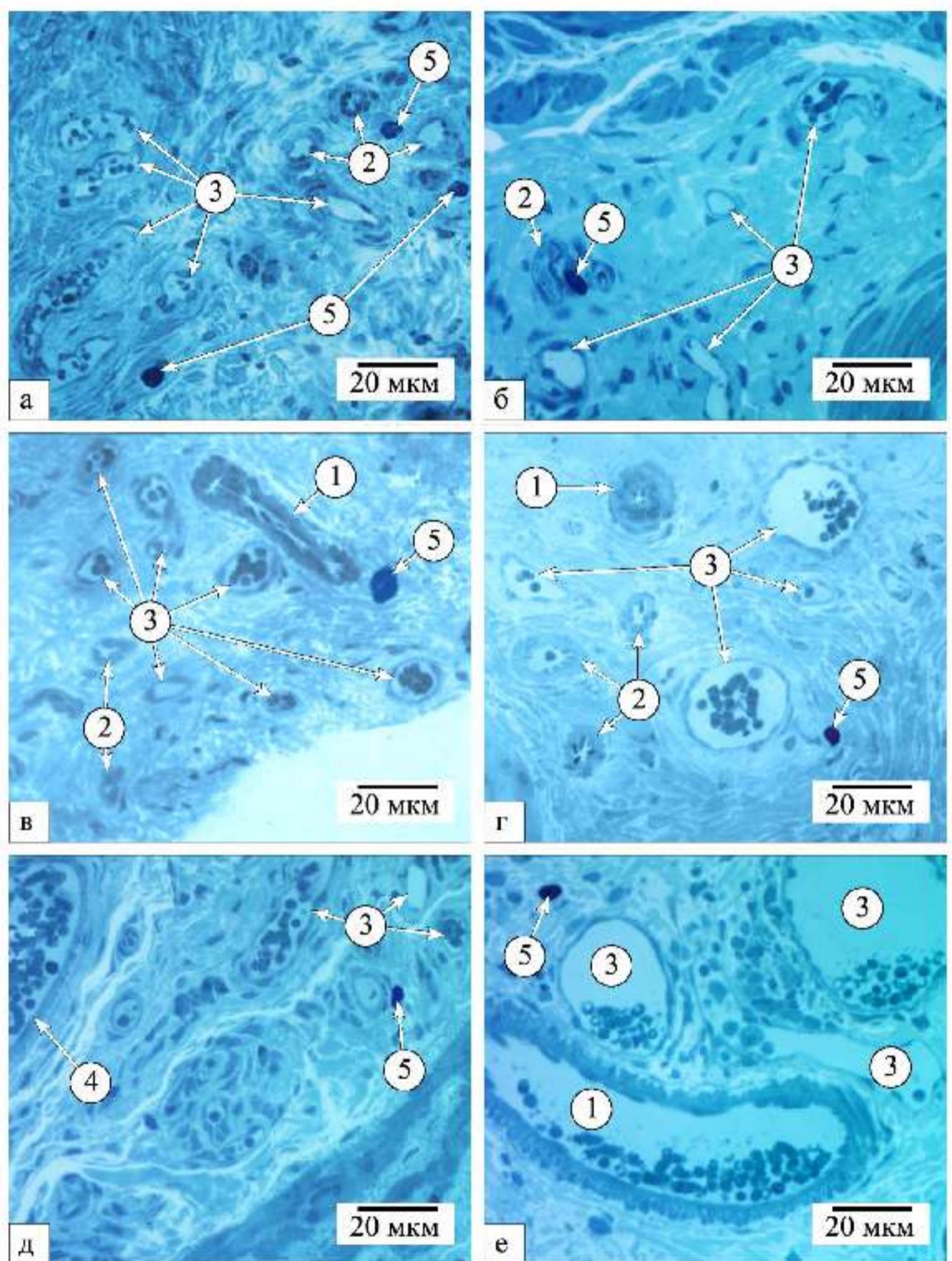


Рис. 5.15. Судини кровоносного русла стінки СМ щурів у нормі (а) і на 14- (б), 28- (в), 42- (г), 56- (д), 70-у (е) доби експерименту. Півтонкі зрізи. Забарвлення метиленовим синім. Мікрофотографії. Збільшення: об.40, ок. 10.

Позначення: 1 – артерії; 2 – артеріоли; 3 – венули; 4 – вени; 5 – мастоцити.

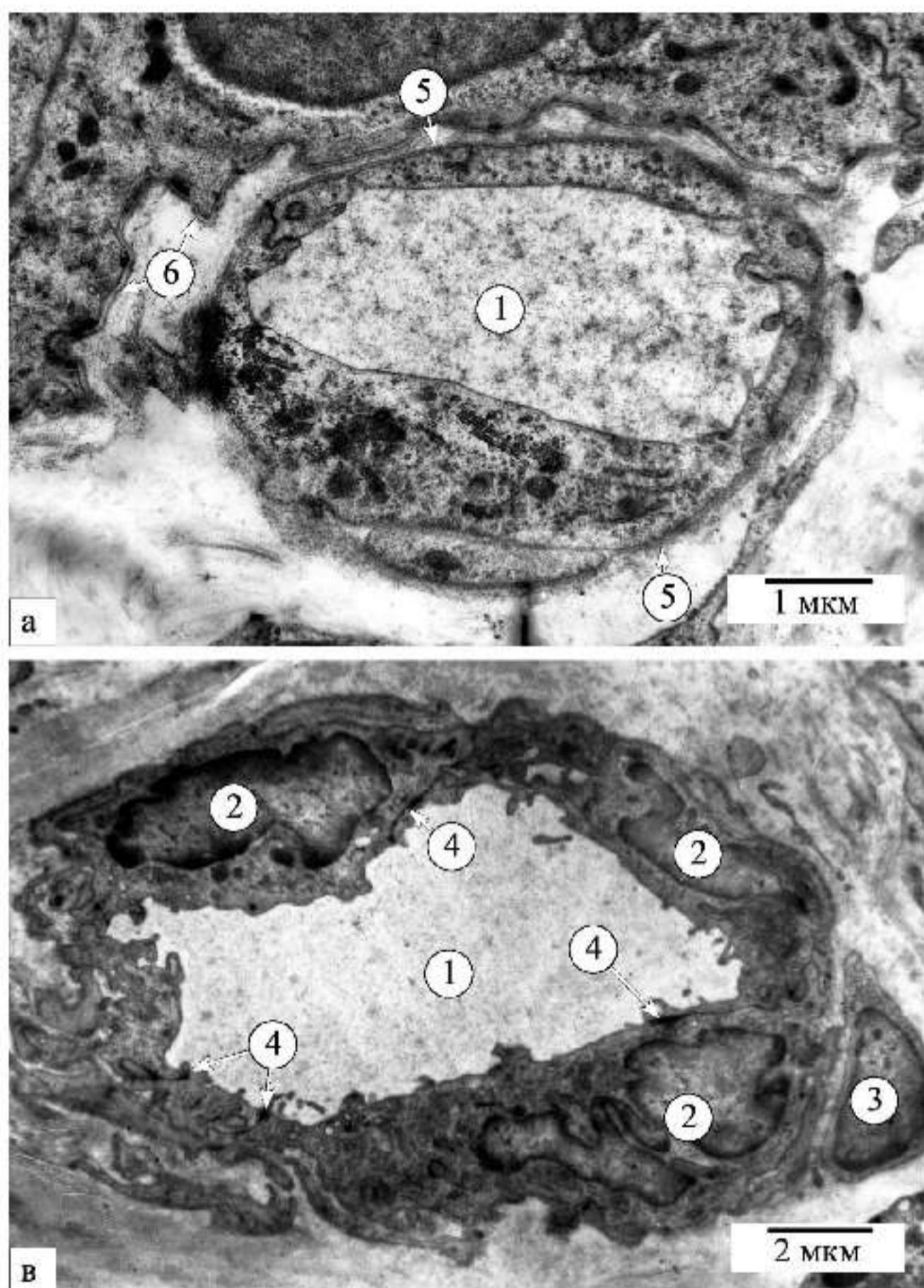


Рис. 5.16. Ультраструктурна будова капіляра (зона органел) підуротеліального гемомікроциркуляторного русла (а) і венули (б) на 14-у добу досліду, які мало чим відрізняються від норми. Електронні мікрофотографії. Збільшення: ×8000 (а); ×4000 (б).

Позначення: 1 – просвіт судини; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – ядро перицита; 4 – міжклітинні сполучення; 5 – базальна мембрана ендотелію; 6 – базальна мембрана уротелію.

При електронномікроскопічному дослідженні встановлено (рис. 5.16 а), що капіляри підуротеліального ГМЦР мало чим відрізняються від таких капілярів у контрольних та інтактних тварин. Ядра ендотеліоцитів за ультраструктурною будовою звичайні для цих клітин. Нуклеоплазма електронно-прозора, утворена евхроматином. Ядерна оболонка чітка, доколи утворює неглибокі інвагінації. Плазмолема визначається виразно, її люмінальна поверхня утворює поодинокі короткі міковирости. Цитоплазма електронно-прозора, містить мітохондрії, виражений КГ, ГрЕС у вигляді коротких цистерн, помірну кількість рибосом і піноцитозних пухирців, які найчастіше розміщуються вздовж аблюмінальної поверхні плазмолеми. Щільні сполучення між ендотеліоцитами ідентифікуються добре. БМ капілярів звичної будови, в окремих ділянках її щільна пластинка дещо розпушена. Товщина БМ становить  $(85,76 \pm 30,52)$  нм і є в 1,15 раза ( $p < 0,001$ ) ширшою, у порівнянні з нормою (див. рис. 5.13). Артеріоли і венули за ультраструктурною будовою подібні до таких судин в інтактних щурів. При цьому хроматин став дещо конденсованим і побільшало міковиростів (рис. 5.16 б).

На 28-у добу від початку індукції СД (рис. 5.17) спостерігаються артерії слизової і м'язової оболонок СМ із розширеними просвітами різного ступеня. Водночас трапляються спазмовані артеріоли. У дилатації вен також відмічається велика різноманітність. Набагато частіше виявляються ділянки з інтерстиційним набряком. Агрегація еритроцитів нарощає, але в артеріолах сладжі не виявляються. На півтонкому зрізі (див рис. 5.15 в) видно, що з 7 венул еритроцитарні сладжі виявляються в 6.

Морфометрично (див. табл. 5.5) у цей термін діаметр просвіту артеріол і капілярів підуротеліального ГМЦР залишається більшим за контроль, відповідно в 1,34 і 1,18 раза ( $p < 0,001$ ), а товщина стінки артеріол (див. табл. 5.6), у порівнянні з попереднім терміном, збільшується в 1,26 раза ( $p < 0,001$ ) і стає більшою за контроль в 1,31 раза ( $p < 0,001$ ). Стінка капіляра не відрізняється від норми і контролю ( $p > 0,05$ ). Венули продовжують розширюватися і діаметр

їхнього просвіту стає більшим за контроль в 1,13 раза ( $p<0,001$ ), а їхня стінка потовщується в 1,15 раза ( $p<0,05$ ).

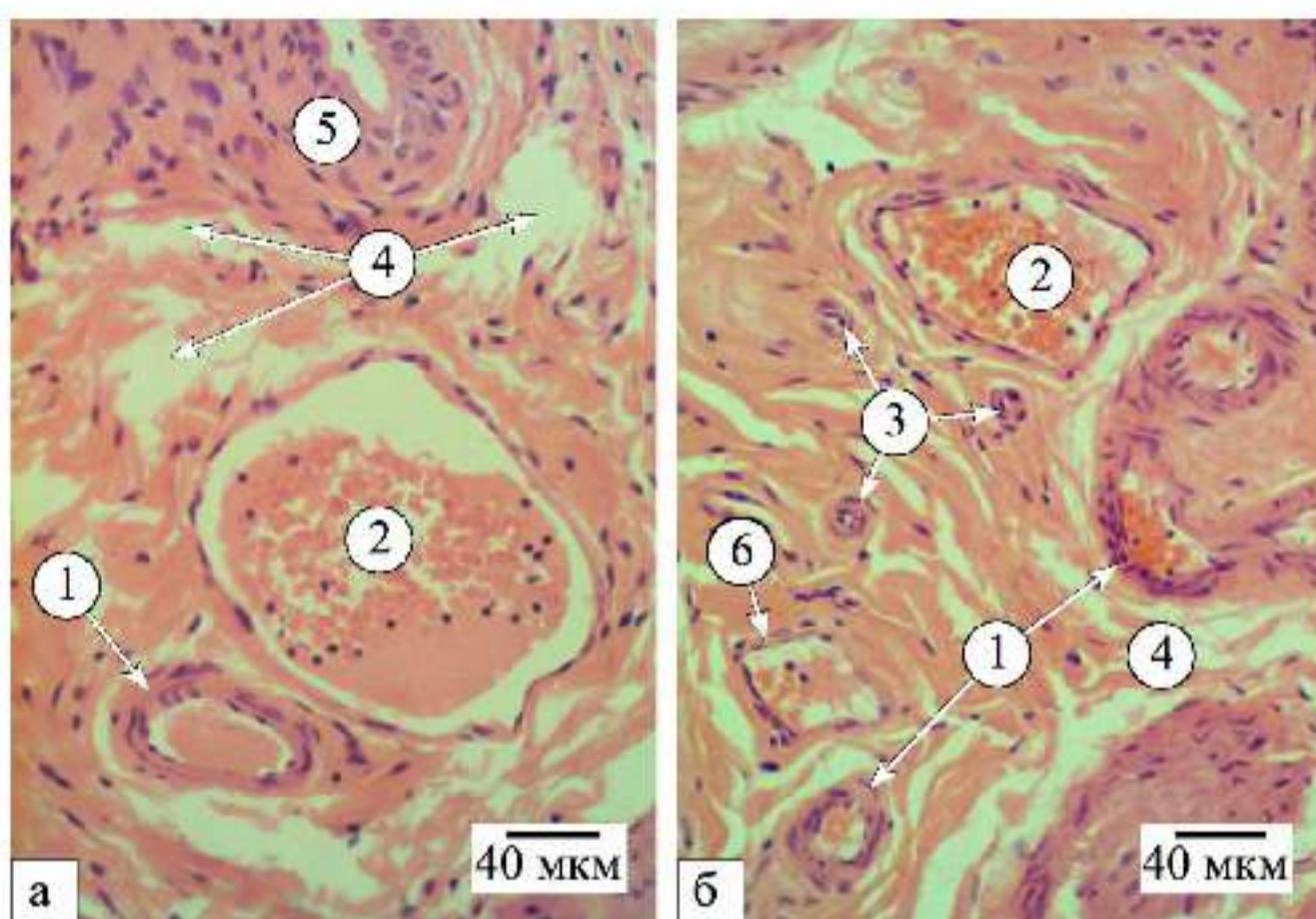


Рис. 5.17. Різний ступінь розширення артерій і вен слизової (а) і м'язової (б) оболонок сечового міхура на 28-у добу спостереження. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографії. Збільшення: об. 20, ок. 10. Позначення: 1 – артерії; 2 – вени; 3 – спазмовані артеріоли; 4 – інтерстиційний набряк; 5 – уротелій; 6 – венула.

Еритроцитарні сладжі у венулах виявляються також на ультраструктурному рівні (рис. 5.18 а). У тонкій стінці венули в ендотеліоциті видно мітохондрії зі зруйнованими гребенями, вільні рибосоми і велику кількість піноцитозних пухирців різних розмірів. Люмінальна плазмолема капілярів підуротеліального ГМЦР (рис. 5.18 б) вирізняється більшою кількістю товстих коротких парусоподібних виростів, частина з яких має стоншену ніжку, що вказує на початок мікроклазматозу. Мітохондрій небагато, їхній мітохондріальний матрикс гомогенізований і різної електронної щільності. В ендотеліоцитах капілярів добре виражений КГ у вигляді рядів трубочок і пухирців різного розміру.

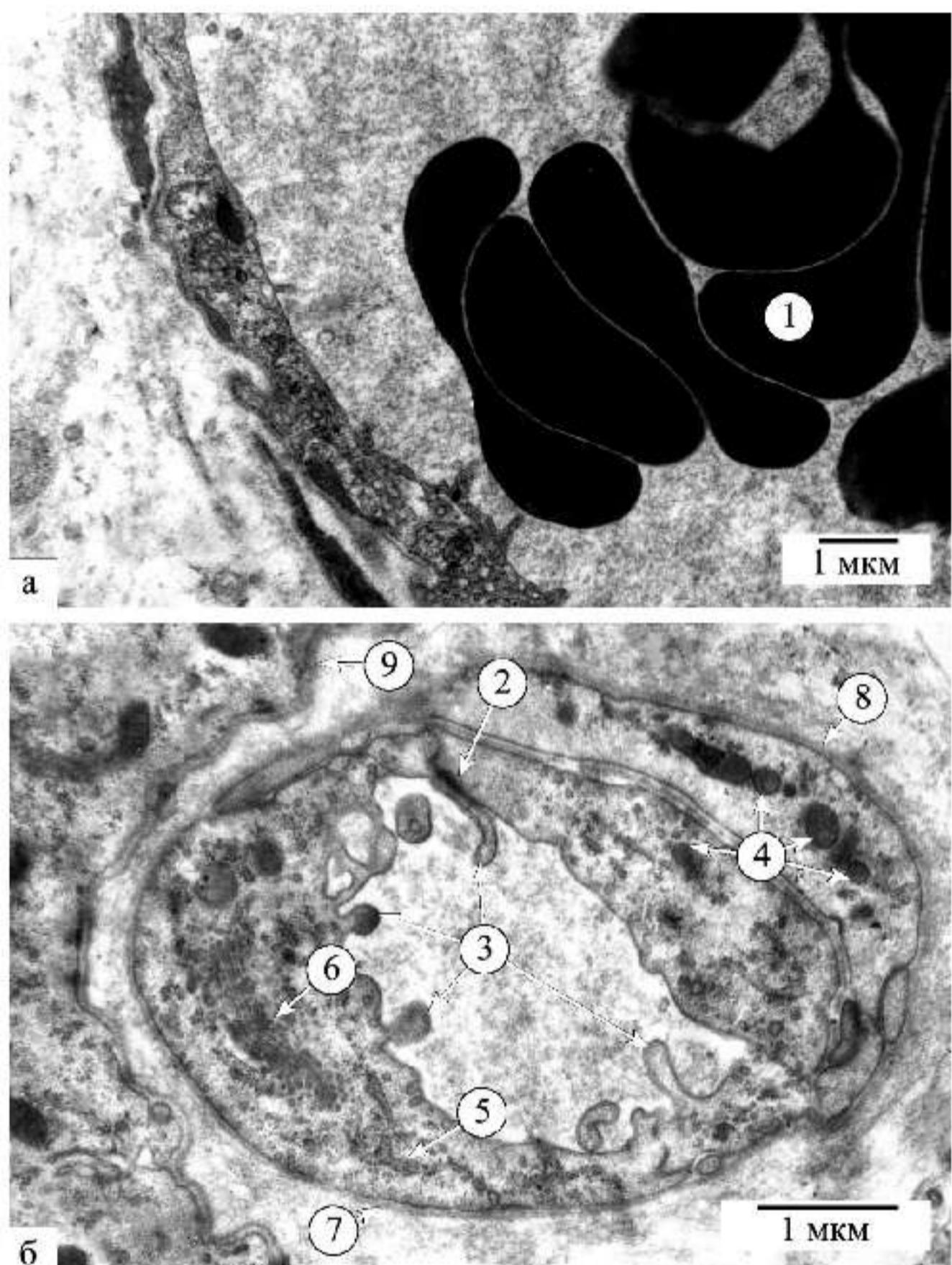


Рис. 5.18. Сладжі еритроцитів у просвіті венули (а) та велика кількість мікровиростів в капілярі підуротеліального гемомікроциркуляторного русла (б) на 28-у добу досліду. Електронні мікрофотографії. Збільшення:  $\times 6400$  (а);  $\times 8000$  (б).

Позначення: 1 – еритроцитарні сладжі; 2 – міжендотеліальне сполучення; 3 – парусоподібні вирости; 4 – мітохондрії; 5 – розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки; 6 – виражений комплекс Гольджі; 7 – базальна мембрана ендотелію; 8 – відросток перицитіта; 9 – базальна мембрана уротелію.

ГрЕС представлений дещо розширеними трубочками, цистернами і мішечками зі зменшеною кількістю рибосом. Вільних рибосом достатньо. Піноцитозних пухирців багато. Міжендотеліальні сполучення проглядаються добре, частина з них має електроннощільні потовщення. Товщина БМ капілярів становить ( $113,70 \pm 58,36$ ) нм, вона є ширшою за норму в 1,53 раза ( $p < 0,001$ ) (див. рис. 5.13).

На 42-у добу експерименту поліморфізм у перебудові гемосудин СМ продовжує нарости. Часто в адвентиції і в м'язовій оболонці виявляються спазмовані артерії з набряклою стінкою (рис. 5.19). На поздовжньому зрізі (рис. 5.20 а) представлені артерія і вена в підслизовому прошарку СМ. Бачимо, що в одній ділянці просвіт артерії звужений і не містить формених елементів крові, в інших – просвіт обтурований еритроцитами, а ще в інших – дещо розширений з агрегованими еритроцитами. Вена розшиrena, її просвіт майже повністю заповнений агрегованими еритроцитами. В інших ділянках підслизового прошарку (рис. 5.20 б) наявні артерії з помірно розширеним просвітом, поряд – звичайні артеріоли, а в центрі – розшиrena вена, в яку впадає артеріо-венозний анастомоз.

На 42-у добу перебігу СД (див. табл. 5.5) діаметр просвіту артеріол, у порівнянні з попереднім терміном, зменшується в 1,27 раза ( $p < 0,001$ ) і не відрізняється від контролю ( $p > 0,05$ ), але товщина їхньої стінки (див. табл. 5.6) залишається більшою за контроль в 1,40 раза ( $p < 0,001$ ). Зменшується, у порівнянні з 28-ю дoboю досліду, також діаметр просвіту капілярів в 1,15 раза ( $p < 0,001$ ) і також не відрізняється від контролю ( $p > 0,05$ ). Товщина їхньої стінки збільшується, у порівнянні з попереднім терміном, в 1,19 раза ( $p < 0,001$ ) і стає більшою за контроль в 1,13 раза ( $p < 0,01$ ). Продовжують розширюватися венули, діаметр їхнього просвіту збільшується, у порівнянні з попереднім терміном, в 1,13 раза ( $p < 0,001$ ) і стає більшим за контроль в 1,33 раза ( $p < 0,001$ ). При цьому, товщина їхньої стінки залишається більшою за контроль в 1,24 раза ( $p < 0,01$ ).

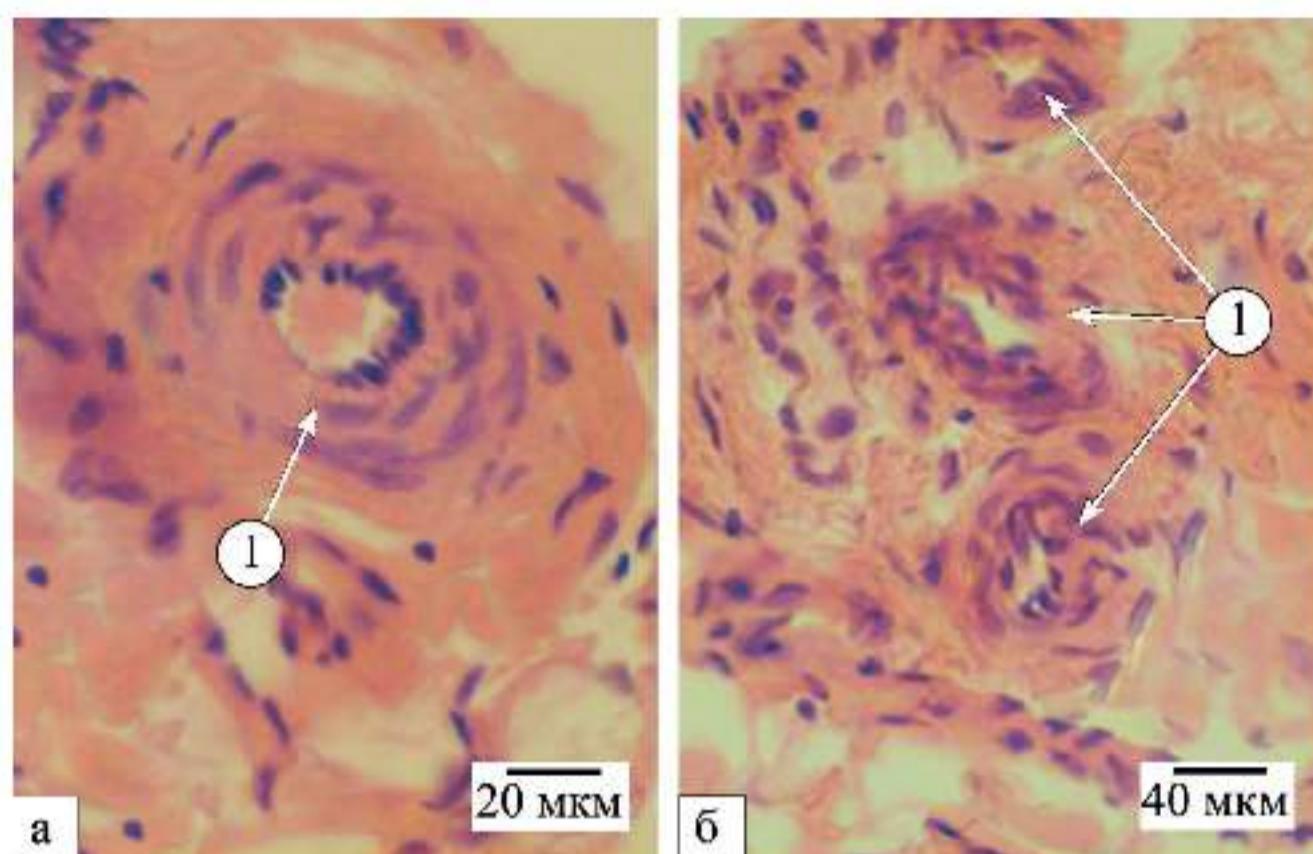


Рис. 5.19. Спазмовані артерії з набряклими стінками в адвенциї (а) і м'язовій оболонці (б) сечового міхура на 42-у добу досліду. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографії. Збільшення: об. 40, ок. 10 (а); об. 20, ок. 10 (б).  
Позначення: 1 – артерії.

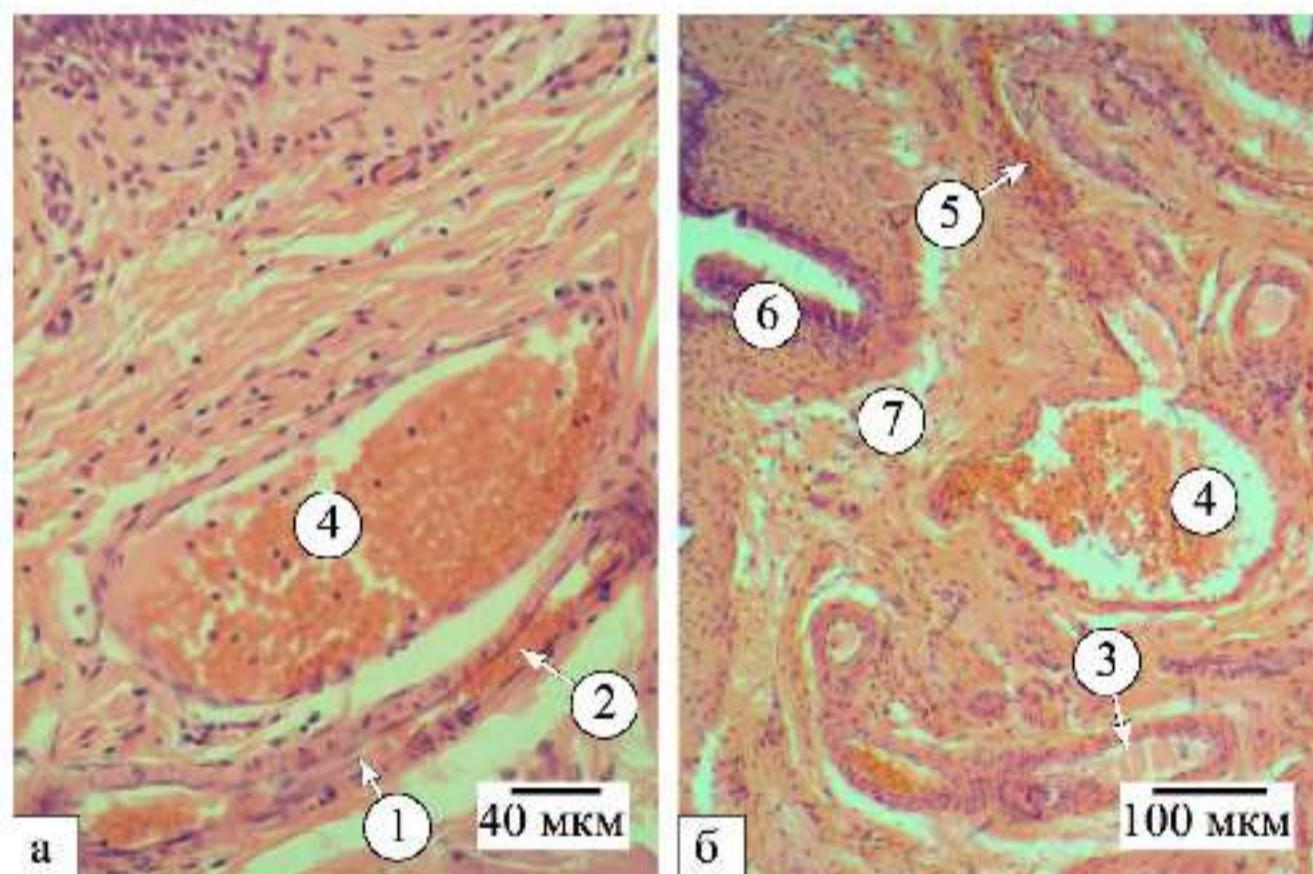


Рис. 5.20. Розширені вени та звужена артерія (а) і судинний анастомоз (б) на 42-у добу досліду. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографії. Збільшення: об. 20, ок. 10 (а); об. 10, ок. 10 (б).

Позначення: 1 – звуження артерії; 2 – обтурація еритроцитами; 3 – артерія; 4 – розширені вени; 5 – артеріо-венозний анастомоз; 7 – набряк.

На півтонких зрізах на 42-у добу досліду (див рис. 5.15 г) переважно спостерігаються спазмовані дрібні артерії та артеріоли з набряклими стінками. Тут же візуалізуються поодинокі судини з нормальним діаметром просвіту. На ультраструктурному рівні в спазмованих артеріолах цитоплазма більшості ендотеліоцитів електроннощільна (рис. 5.21 а). Гетерохроматин їхніх ядер розміщений маргінально. БМ ендотелію звивиста, пошиrena, із локальними деструкціями. Еритроцитарні сладжі виявляються в розширених капілярах (рис. 5.21 б).

У даний термін капіляри підуротеліального ГМЦР є різними. Серед них трапляються функціонуючі з дещо потовщеною стінкою та капіляри з вираженими дистрофічними явищами. У зоні органел функціонуючих капілярів (рис. 5.22 а) виявляються: мітохондрії з гребенями і без них; ГрЕС, яка представлена трубочками і цистернами різної довжини, багато з яких втратили рибосоми; КГ у вигляді кількох плоских цистерн і малої кількості пухирців; вільні рибосоми і піноцитозні пухирці. Міжендотеліальні сполучення ідентифікуються чітко, різної ширини і електронної щільності, місцями зруйновані. БМ капілярів потовщена, в окремих ділянках розпушена. Капіляри з вираженою дистрофією ендотеліоцитів (рис. 5.22 б) характеризуються електроннощільною цитоплазмою, маргінальним гетерохроматином, бідністю органел. У цитоплазмі наявна помірна кількість піноцитозних пухирців. Люмінальна поверхня ендотеліоцитів утворює багато вростків і глибокі випини різної форми і довжини. Немалі частини цитоплазми цих клітин виявляються в просвіті капілярів. Останнє вказує, що на даний термін спостереження в багатьох капілярах спостерігається мікроклазматоз. Сполучення між ендотеліоцитами не визначаються. БМ капілярів різної ширини і електронної щільності, дезорганізована, в окремих ділянках подвоєна. Відмічається плазматичне просякання. Продовжує потовщуватися БМ гемокапілярів (див. рис. 5.13), яка стає за норму ширшою в 1,63 раза ( $p<0,001$ ) і становить  $(120,90\pm44,85)$  нм.

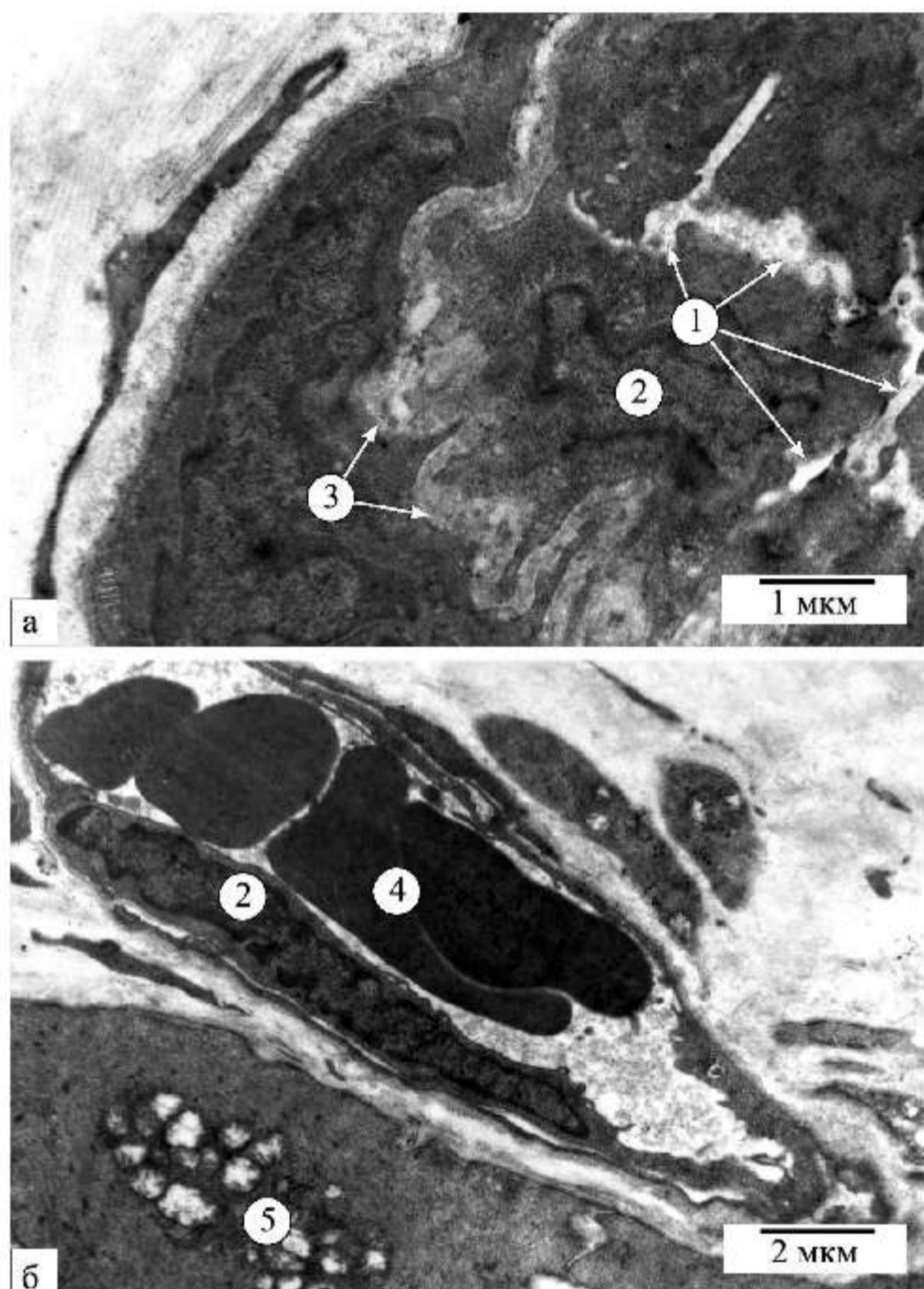


Рис. 5.21. Спазмована артеріола (а) і капіляр з еритроцитарним сладжем (б) на 42-у добу досліду. Електронні мікрофотографії. Збільшення:  $\times 9600$  (а);  $\times 4800$  (б).

Позначення: 1 – звужений просвіт артеріоли; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – звивиста базальна мембрана ендотелію артеріоли з локальними деструкціями; 4 – сладж у просвіті капіляра; 5 – вакуольна дистрофія гладкого міоцита.

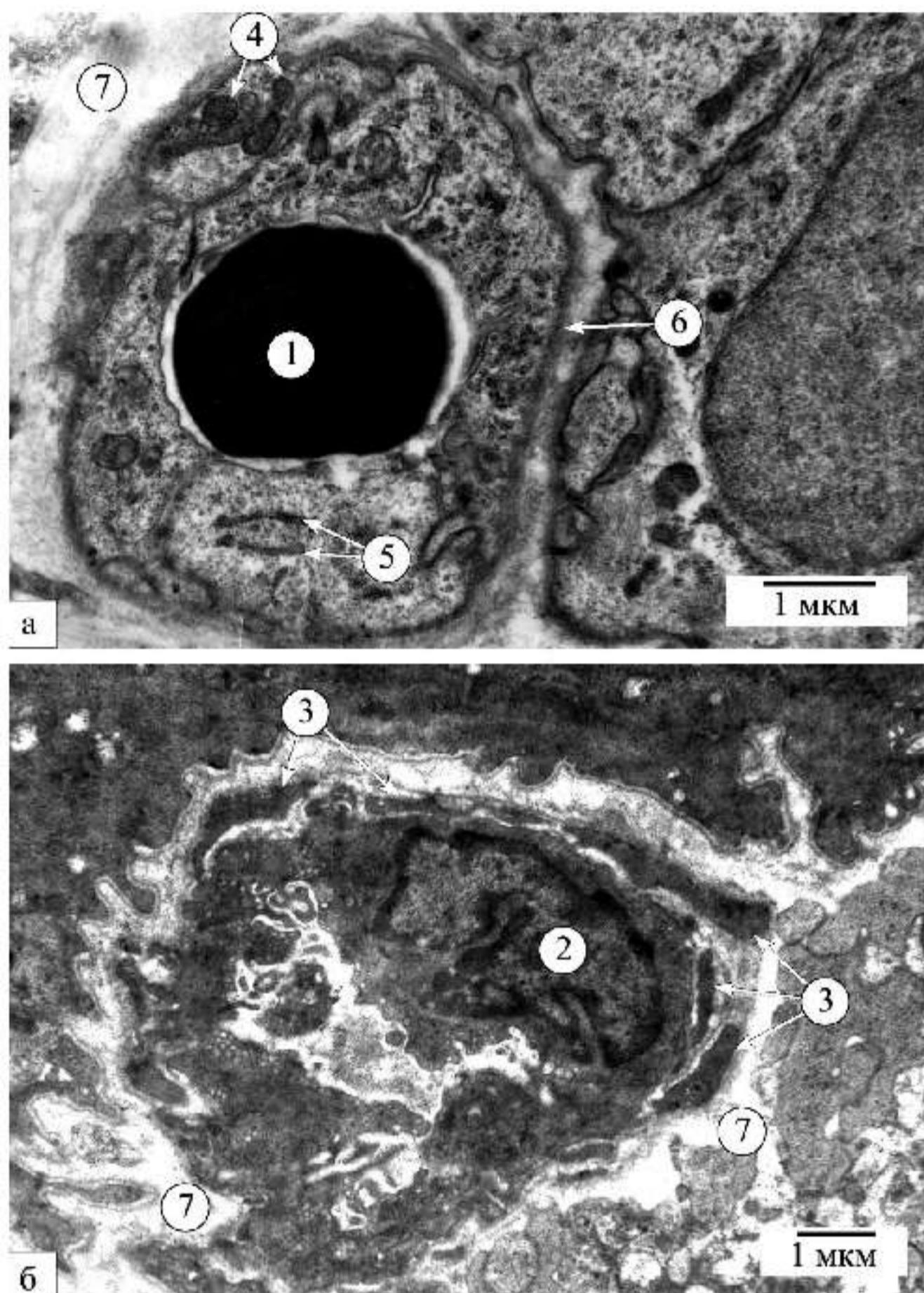


Рис. 5.22. Функціонуючий капіляр зі збереженими органелами та потовщеною базальною мембраною (а) і капіляр із локальними потовщеннями цитоплазми та мікроклазматозом (б) на 42-у добу спостереження. Електронні мікрофотографії. Збільшення: ×8000 (а); ×6400 (б).

Позначення: 1 – еритроцит у просвіті капіляра; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – відростки перицитів; 4 – мітохондрії; 5 – гранулярна ендоплазматична сітка; 6 – базальна мембрана капіляра; 7 – ділянки плазматичного просякання.

На 56-у добу спостереження в стінці СМ часто виявляються помірно розширені артерії і надмірно розширені вени з повнокров'ям (рис. 5.23 а). Просвіт як перших, так і других часто зайнятий еритроцитарними масами і невеликою кількістю плазми крові. У більшості ділянок власної пластинки слизової оболонки і підслизового прошарку СМ спостерігається генералізація сладж-синдрому у венулах і артеріолах. На півтонких зрізах (див рис. 5.15 д) виявляється повнокров'я вен і еритроцитарні сладжі у венулах.

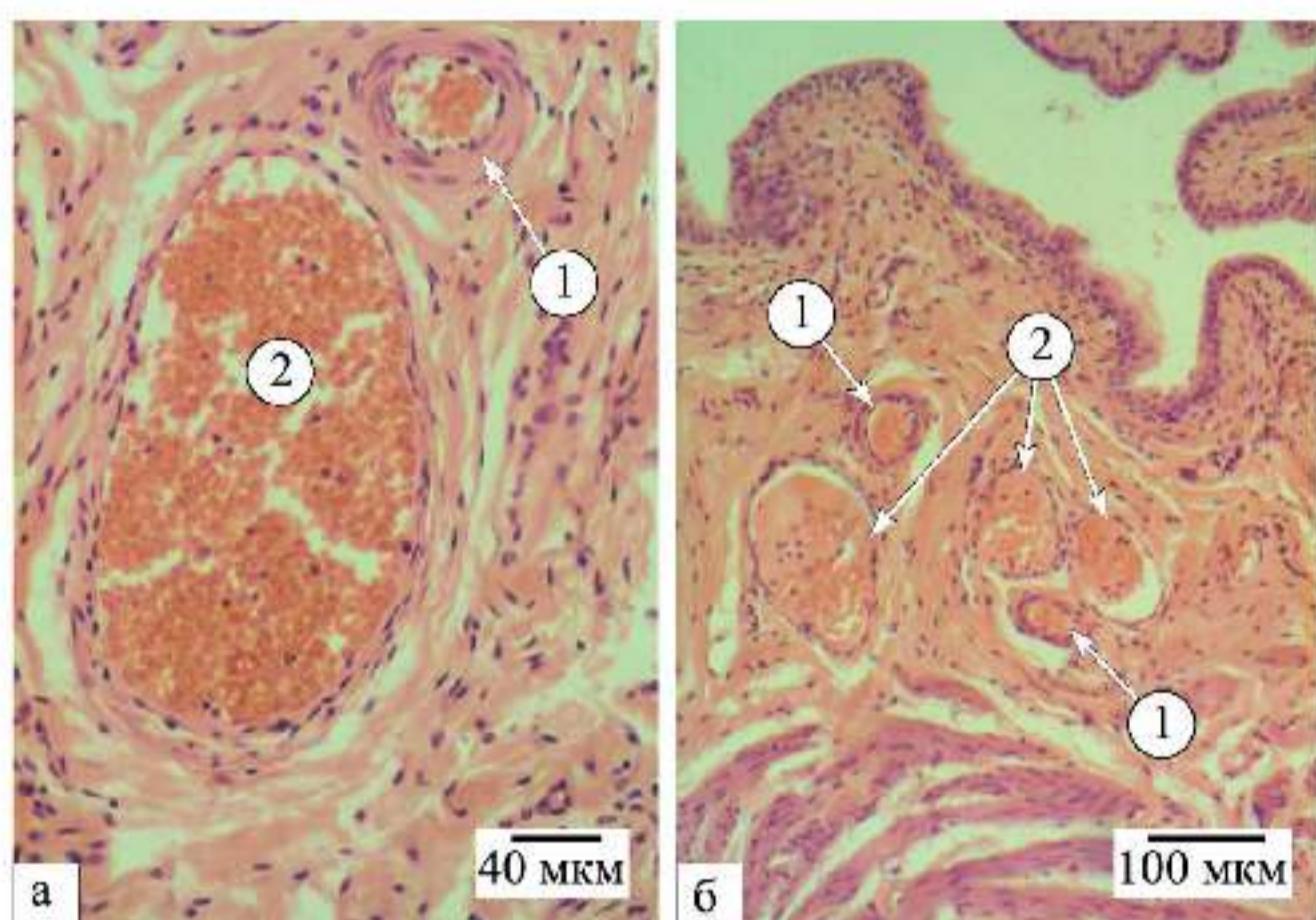


Рис. 5.23. Повнокров'я розширених судин підслизового прошарку сечового міхура на 56-у (а) і 70-у (б) доби досліду. Мікрофотографії. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення: об. 20, ок. 10 (а); об. 10, ок. 10 (б).  
Позначення: 1 – артерія; 2 – вена.

Морфометрично на 56-у добу досліду (див. табл. 5.5), у порівнянні з попереднім терміном, збільшується просвіт артеріол підуротеліального ГМЦР в 1,11 раза ( $p<0,05$ ), капілярів – зменшується в 1,08 раза ( $p<0,01$ ), а венул – не змінюється ( $p>0,05$ ). При цьому, просвіт артеріол і венул стає більшим, у порівнянні з контролем, відповідно в 1,16 раза ( $p<0,05$ ) і 1,31 раза ( $p<0,001$ ), у

капілярів – не відрізняється ( $p>0,05$ ). Товщина стінок артеріол і венул (див. табл. 5.6), у порівнянні з попереднім терміном, зменшується, відповідно, в 1,28 раза ( $p<0,01$ ) і 1,21 раза ( $p<0,01$ ) і перестає відрізнятися від контролю ( $p>0,05$ ). Водночас, товщина стінки капілярів залишається більшою за контроль в 1,14 раза ( $p<0,05$ ).

На електронномікроскопічному рівні в цей термін серед капілярів підуротеліального ГМЦР спостерігаються двоякі капіляри – із перевагою дистрофічних і перевагою деструктивних явищ. У перших (рис. 5.24 а) – цитоплазма різної електронної щільності, у ній багато електроннощільних ділянок. У цитоплазмі можна ідентифікувати мітохондрії зі зруйнованими гребенями, вакуолі, піноцитозні пухирці. Ядерна оболонка утворює інвагінації. Наявні в невеликій кількості локальні потовщення цитоплазми і міковирости. Найбільшою відмінністю цих капілярів, у порівнянні з капілярами у попередні терміни спостереження, є пластинчастість їхньої БМ. В інших капілярах (рис. 5.24 б) переважають явища деструкції. Їхня цитоплазма електроннощільна, органели не визначаються, наявні піноцитозні пухирці і вакуолі різної величини. Стінка капілярів різної ширини, у ній переважають масивні локальні потовщення цитоплазми і різної товщини та довжини міковирости. Ядро ендотеліоцита деструктивно змінене, електроннощільне, яке з частиною цитоплазми значно пролабує в просвіт капіляра, ядро перицитіта дезорганізоване. БМ капілярів значно поширина, пластинчасти, переривиста. У більшості капілярів відмічається виражений клазматоз. У багатьох навколосудинних ділянках спостерігається виражене плазматичне просякання.

Товщина БМ (див. рис. 5.13) на 56-у добу розвитку СД складає ( $137,67\pm79,99$ ) нм і є більшою за норму в 1,85 раза ( $p<0,001$ ). Вона хоч і потовщується, у порівнянні з попереднім терміном, в 1,14 раза, але це збільшення не є значимим ( $p>0,05$ ) у результаті значної мінливості даної морфометричної ознаки.

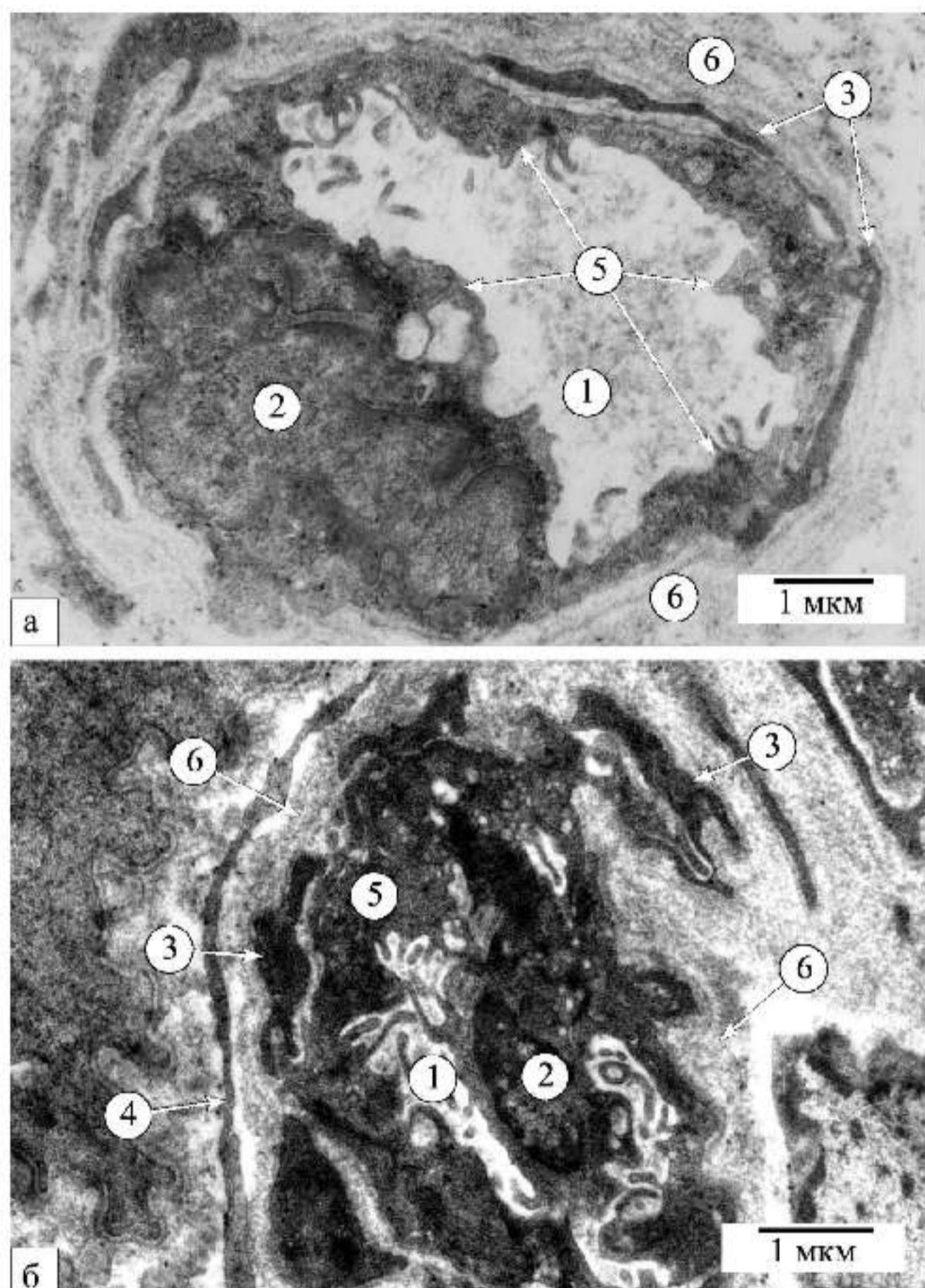


Рис. 5.24. Гемокапіляри з перевагою дистрофічних (а) і деструктивних (б) змін на 56-у добу спостереження. Електронні мікрофотографії. Збільшення:  $\times 8000$  (а);  $\times 9600$  (б).

Позначення: 1 – просвіт капіляра; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – відросток перицитіта; 4 – відросток фіброцита; 5 – мікровирости і локальні потовщення цитоплазми; 6 – потовщена базальна мембрана капіляра.

Через 70 діб від початку індукції СД генералізація сладж-синдрому відбувається в артеріолах і венулах усіх оболонок СМ. На півтонких зрізах виявляються сладжі в розширених венулах і повнокров'я – в артеріях (див рис. 5.15 е і 2.23 б). Еритроцити виявляються також у просвіті СМ (рис. 5.25).

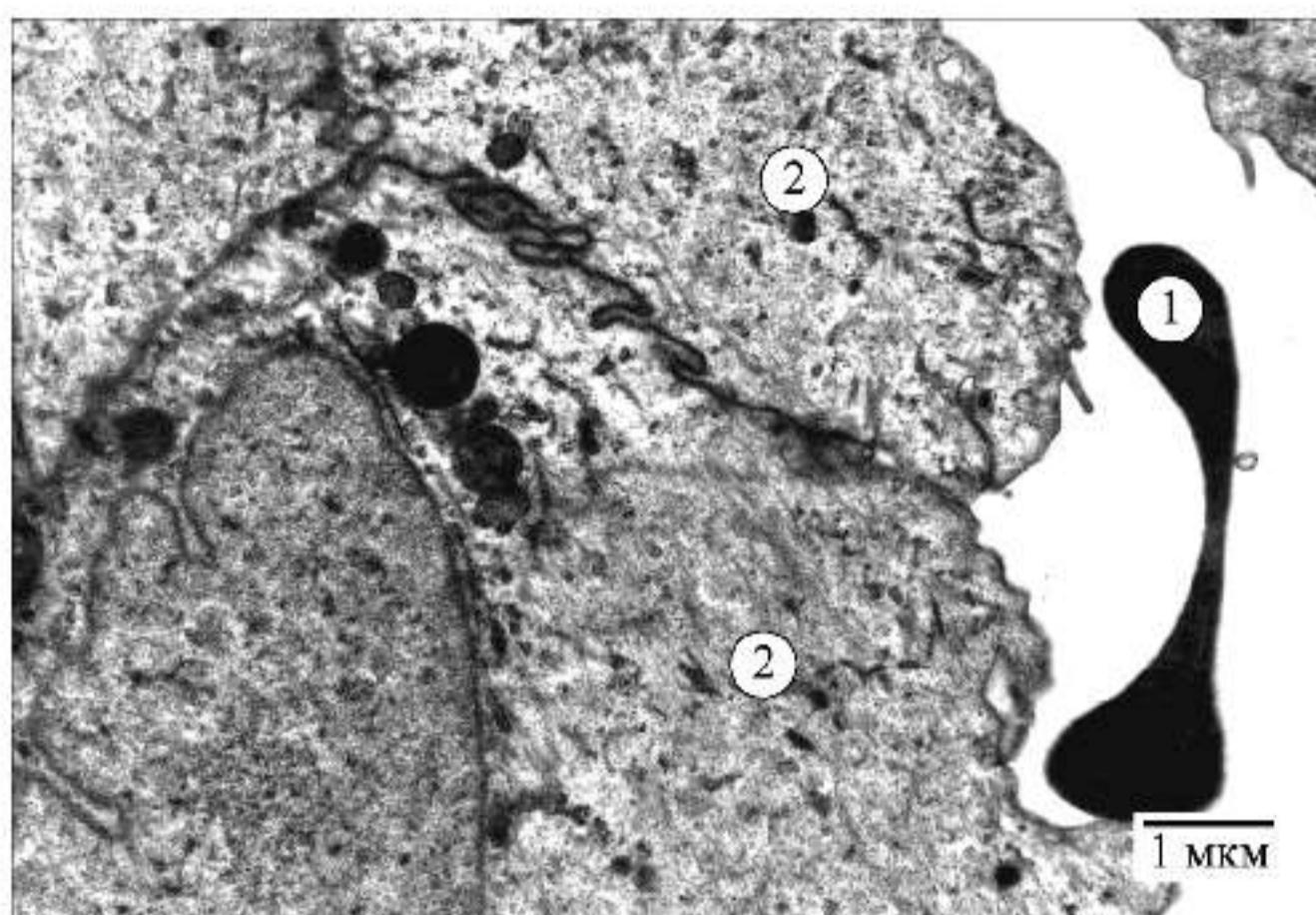


Рис. 5.25. Еритроцит у просвіті сечового міхура на 70-у добу досліду. Електронна мікрофотографія. Збільшення:  $\times 8000$ .  
Позначення: 1 – еритроцит; 2 – парасолькові клітини.

Морфометрично на 70-у добу досліду (див. табл. 5.5) просвіт артеріол підуротеліального ГМЦР стає більшим за контроль в 1,15 раза ( $p<0,01$ ), а венул – в 1,44 раза ( $p<0,001$ ), а товщина їхніх стінок (див. табл. 5.6) не відрізняється від контролю ( $p>0,05$ ). Діаметр просвіту капілярів не змінюється ( $p>0,05$ ), але товщина їхньої стінки стає більшою за контроль в 1,24 раза ( $p<0,05$ ).

Ультраструктурно БМ капілярів стає в багатьох ділянках пластинчастою (рис. 5.26 а). Її товщина в цей термін становить  $(239,36 \pm 115,75)$  нм. Вона потовщується, у порівнянні з попереднім терміном в 1,74 раза ( $p<0,001$ ), а в порівнянні з нормою – в 3,22 раза ( $p<0,001$ ) (див. рис. 5.13). Наростають

деструктивні процеси в гемосудинах, багато капілярів піддаються тотальному руйнуванню (рис. 5.26 б). Спостерігається наростання плазматичного просякання периваскулярної сполучної тканини.

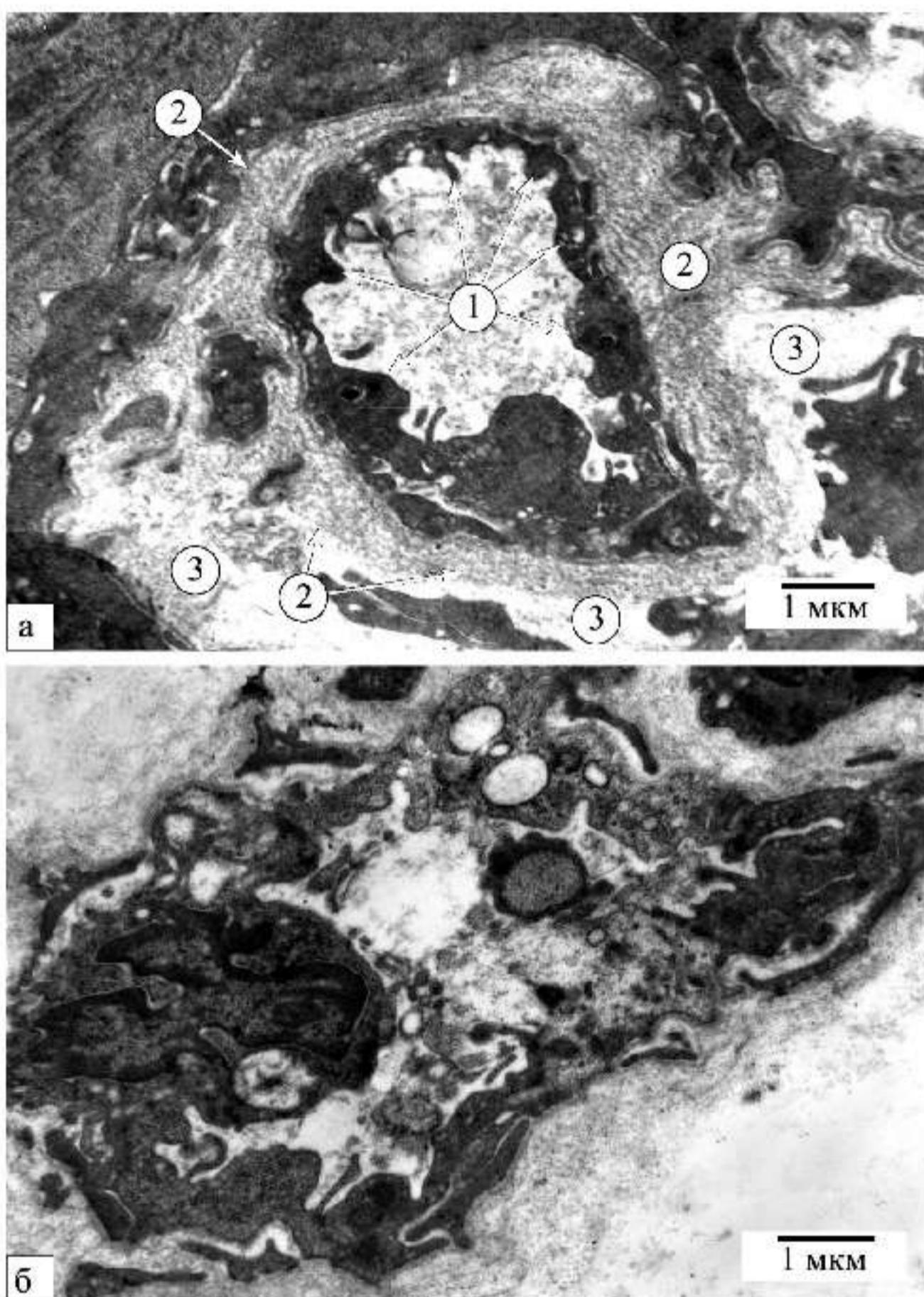


Рис. 5.26. Пластинчаста базальна мембра на капіляра (а) і тотальна деструкція стінки капіляра (б) на 70-у добу досліду. Збільшення:  $\times 8000$ .

Позначення: 1 – мікрорости і локальні потовщення цитоплазми; 2 – пластинчаста БМ капіляра; 3 – ділянки плазматичного просякання.

Упродовж розвитку СД спостерігаються зміни морфометричних ознак клітин ПЕ СМ і відбувається перебудова їхніх кластерних структур. Порушується характерна для норми структурно-функціональна рівновага між частками парасолькових клітин (КЛ 4) і базальних уротеліоців (КЛ 1), а також між частками клітин кластерів 2 і 3 проміжного шару ПЕ, що підтверджується збільшенням відсотків клітин КЛ 1 і зменшенням – КЛ 3 і 4 при відсутності змін частки уротеліоцитів КЛ 2.

Ранні терміни розвитку СД (14–28-а доби експерименту) характеризуються: десквамацією клітин ПЕ, яка спричиняє руйнування уротеліального клітинного бар'єру і зміну відсотків клітин кластерів; розвитком вакуольної дистрофії клітин ПЕ, що приводить до збільшення розмірів площ уротеліоцитів усіх кластерів та їхніх ядер; клиноподібними розривами уротелію; зменшенням відсотків площин колагенових волокон і збільшенням частки площин гладких міоцитів; розширенням міжклітинних просторів м'язової оболонки СМ і розвитком вакуольної дистрофії гладких міоцитів.

На 42–56-у доби досліду спостерігається виражена десквамація клітин ПЕ, порушення стратифікації уротелію і оголення його БМ, зменшення вакуольної дистрофії та маніфестація балонової, зменшення площ уротеліоцитів та їхніх ядер, збільшення відсотків площин колагенових волокон і зменшення частки площин гладких міоцитів. На 56-у добу з'являються щілиноподібні розриви між парасольковими клітинами і розширення міжклітинних просторів глибших шарів ПЕ, а також уротеліоцити з осміофільною цитоплазмою і ультраструктурною перебудовою. Відмічається подальший розвиток вакуольної дистрофії гладких міоцитів, ознаки якої до кінця періоду стихають, короткотривала і помірна балонова дистрофія, поява темних і бідних на органели міоцитів.

На 70-у добу досліду стихають процеси десквамації та дистрофії клітин ПЕ, але нарощає вміст осміофільних уротеліоцитів і кількість розривів на місці сполучних комплексів. Відсотки площин колагенових волокон і гладких міоцитів

не відрізняються від попереднього терміну. Більшість темних гладких міоцитів є інволютивного типу, з'являються ділянки секвестрації їхньої саркоплазми та локального фіброзу міжклітинної речовини.

Перші ознаки діабетичної мікроангіопатії СМ спостерігаються вже на 14-у добу розвитку СД, а саме: розширення просвіту артеріол і поява в окремих венулах невеликих еритроцитарних сладжів. Однією з головних ланок розвитку мікроангіопатії СМ є зміна судинного тонусу його артеріол, що проявляється на 14-у добу досліду їхньою дилатацією, на 28–42-у – поступовим зменшенням просвіту, аж до спазму окремих артеріол, а на 56–70-у – вторинним їхнім розширенням. Другою з головних ланок – є перебудова БМ гемокапілярів. Незначне її потовщення спостерігається вже на 14-у добу досліду, а до 70-ї вона стає більшою за норму в 3,22 раза. Із 42-ї доби досліду виявляється дезорганізація БМ, а на 56–70-у доби – найбільш характерною ознакою в її перебудові є пластинчастість.

Реологічні порушення крові є третьою з основних ланок розвитку діабетичної мікроангіопатії СМ. На 14-у добу досліду вони виражуються невеликими «монетними стовпчиками» еритроцитів в окремих венулах, на 28-у – сладжами в більшості венулах, а на 42-у – також у капілярах. На 56–70-у доби спостерігається генералізація сладж-синдрому в артеріалах і венулах спочатку підслизового прошарку СМ, а на 70-у – в усіх його оболонках.

Набряки різного генезу є характерними проявами діабетичної мікроангіопатії СМ. Інтерстиційні набряки його стінки нарощують до 28-ї доби досліду, а на 42-у добу – зменшуються. У період 42–70-ї доби нарощують явища плазматичного просякання периваскулярної сполучної тканини. Набухання уротеліоцитів і ендотеліоцитів найвиразніше виявляється на 28-у і 42-у доби розвитку СД.

Матеріали даного розділу опубліковані в роботах:

1. Токарук Н. С. Динаміка морфофункціональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22, № 3, ч. 2. – С. 95 – 99 [98].
2. Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу перехідного епітелію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – № 82, Т. 2, кн. 2. – С. 480 – 488 [99].
3. Токарук Н. С. Характеристика гемосудин сечового міхура щурів при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, № 1. – С. 249 – 255 [100].
4. Tokaruk N. Smooth myocytes and collagenous fibers of the urinary bladder of rats in diabetes mellitus / N. Tokaruk // J. Educ. Health Sport. – 2015. – Vol. 5, № 12. – P. 11 – 22 [207].

## АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Зі структурних компонентів стінки СМ лабораторних шурів та інших дослідних тварин найбільш недостатньо вивченим залишається ПЕ як у нормі, так і за умови моделювання експериментальної патології [116, 118, 138, 160, 166]. Проаналізувавши літературу, ми встановили, що морфометричні дослідження ПЕ обмежуються тільки визначенням його товщини і рідше площі [16, 25, 148], тоді як морфометричні ознаки уротеліоцитів не вивчаються. Не проводиться також класифікаційний аналіз клітинного складу ПЕ СМ із використанням кластерного аналізу, який з успіхом використовують у клінічних дослідженнях [12, 55, 58, 125, 126] і почали використовувати в морфології [47, 48, 49, 105, 167].

Ураховуючи вищесказане, ми вперше провели морфометричне дослідження клітин ПЕ СМ інтактних шурів (у нормі) [95, 101, 205]. Спочатку згідно міжнародної гістологічної номенклатури [22], були виділені три групи клітин ПЕ – базального, проміжного і поверхневого шарів. Визначали площу уротеліоцитів та їхніх ядер, їхнє ЯЦВ, коефіцієнт варіації ( $C_v$ ), який характеризує мінливість ознаки [33, 60], а також коефіцієнт форми і коефіцієнт елонгації. Останні два показники дозволили А. В. Абрамову и соавт. [91] виявити статистично детерміновані класи лімфоцитів в органах імунної системи, але результати нашого дослідження показали, що ці показники уротеліоцитів різних шарів ПЕ СМ між собою значимо не відрізняються. Ми встановили, що на гістологічному рівні, статистично значиму різницю між клітинами різних шарів ПЕ мають тільки такі морфометричні ознаки як площа уротеліоцитів і їхніх ядер та ЯЦВ, що вираховується з перших двох. Найбільш важливим із проведеного морфометричного дослідження є те, що ми виявили високу мінливість ЯЦВ у клітинах проміжного шару ПЕ, на що вказує коефіцієнт варіації ( $C_v$ ), який дорівнює 37,9 %, водночас як у клітинах поверхневого і базального шарів ПЕ  $C_v$  становить тільки 9,9 і 15,9 % (див. табл.

3.1). До того ж, на світлооптичному рівні серед клітин проміжного шару ми спостерігали уротеліоцити великі за розмірами з малими ядрами і малі – із великими ядрами. Останні два факти беззаперечно свідчать не тільки про значну мінливість клітинного складу проміжного шару ПЕ, але й про їхню неоднорідність. Це вказує на те, що серед клітин проміжного шару ПЕ є, принаймні, дві різні сукупності.

Таким чином, отримані результати морфометрії спонукали нас до проведення кластерного аналізу клітинного складу ПЕ. Була висунута гіпотеза про наявність серед клітин уротелію СМ щурів 4 груп (кластерів). Кластеризацію ми проводили за класичним варіантом – спочатку за площами клітин і площами їхніх ядер ми визначили кластери уротеліоцитів в інтактних тварин, тобто в нормі [65, 103]. Далі, узявши за основу розроблені методики, кількість кластерів і значення параметрів клітин кожного з кластерів, провели кластеризацію на кожному запланованому етапі перебігу СД. Слід відмітити, що серед великого розмаїття методів кластерного аналізу і методів визначення міжкластерних відстаней (метрик) [65, 103, 110, 125] ми використовували тільки ті, які є найбільш часто вживаними, у тому числі й в медичних дослідженнях, а саме: з агломеративних – метод Варда, з ітераційних – метод k-середніх Мак-Кіна, а з метрик – евклідову метрику.

За таких умов нами вперше проведений кластерний аналіз і вперше отримана кластерна структура, яка характеризує популяцію клітин ПЕ СМ однорічних щурів-самців лінії Вістар. Визначено, що кластерна структура складається з 4 кластерів, з яких найменшу частку посідають уротеліоцити КЛ 1 (10,96%), а клітини КЛ 2, 3 і 4, відповідно становлять 39,47; 34,21 і 15,35 %.

Нами встановлено, що КЛ 1 представлений базальними уротеліоцитами, які є малодиференційованими, на що вказує їхнє високе ЯЦВ ( $0,81 \pm 0,30$ ), і вони є найменшими за розмірами. Площа цих уротеліоцитів становить ( $42,2 \pm 5,09$ )  $\mu\text{м}^2$ , а їхніх ядер – ( $18,3 \pm 4,79$ )  $\mu\text{м}^2$ . Характерними їхніми особливостями є прикріплення до БМ уротелію за допомогою напівдесмосом, ядро, яке займає

більшу частину клітини, і бідність органел. На сьогодні ці клітини вважають за камбіальні комітовані клітини, які диференціюються в клітини інших шарів ПЕ [116, 118, 158, 166].

Ми визначили, що КЛ 4 утворений парасольковими клітинами, які мають найнижче ЯЦВ ( $0,49\pm0,18$ ) і є високодиференційованими клітинами. За розмірами це найбільші клітини за площею ( $115,6\pm11,18$ ) мкм<sup>2</sup> і площею їхніх ядер ( $36,7\pm7,84$ ) мкм<sup>2</sup>. Ці уротеліоцити найкраще вивчені, власне клітини цього кластера утворюють уротеліальний клітинний бар'єр [118, 160, 166].

Нами досліджено, що КЛ 2 і 3 – це уротеліоцити проміжного шару ПЕ СМ. Більшість дослідників вважають їх мігруючими клітинами, які диференціюються і переміщуються до люмінальної поверхні ПЕ та перетворюються в парасолькові клітини [116, 118, 160]. Ряд авторів указують на існування додаткового типу проміжних уротеліоцитів, які знаходяться під парасольковими клітинами і відіграють важливу роль у репарації ПЕ [116, 166, 215]. Вони здатні швидко заміщувати парасолькові клітини в разі їхнього пошкодження [80, 119, 185, 188]. Ми вважаємо, що клітини КЛ 3 є саме тими уротеліоцитами, що характеризують кінцевий етап їхнього диференціювання, який R. E Hurst et al. [158] називають термінальним диференціюванням уротеліоцитів або дозріванням парасолькових клітин. На доказ нашої думки можемо додати наступне: 1) уротеліоцити КЛ 3 розміщуються під парасольковими клітинами, на що вказують згадані автори; 2) ЯЦВ клітин КЛ 3 дорівнює ( $0,62\pm0,20$ ) і воно більш подібне до ЯЦВ клітин КЛ 4, ніж до такого КЛ 1; 3) до того ж ЯЦВ клітин КЛ 3 є меншим від ЯЦВ уротеліоцитів КЛ 2; останні два пункти свідчать, що серед клітин проміжного шару ПЕ СМ більш високий ступінь диференціації мають уротеліоцити КЛ 3; 4) за розмірами клітин ( $85,4\pm7,48$ ) мкм<sup>2</sup> та їхніх ядер ( $31,7\pm6,58$ ) мкм<sup>2</sup> уротеліоцити КЛ 3 є більш зрілими клітинами, ніж КЛ 2; 5) найголовніше – за ультраструктурною будовою клітини КЛ 3 мало відрізняються від парасолькових, тобто належать до уротеліоцитів високодиференційованих.

Ми дослідили, що площа клітини КЛ 2 визначається в  $(62,5 \pm 6,21)$  мкм<sup>2</sup>, а їхніх ядер –  $(26,8 \pm 5,05)$  мкм<sup>2</sup>. ЯЦВ цих клітин становить  $(0,79 \pm 0,28)$ . Ультраструктурно вони є помірнодиференційованими уротеліоцитами. Серед органел переважають мітохондрії. У порівнянні з клітинами КЛ 3, уротеліальні пухирці дрібніші, кількість їхня менша, первинні лізосоми ідентифікуються нечасто, автофаголізосоми відсутні, ГрЕС і КГ менш розвинуті, рибосом і полісом небагато. На нашу думку, клітини КЛ 2 характеризують початковий етап диференціації уротеліоцитів.

Нами вперше встановлено, що в нормі відсотки об'єму сукупної вибірки клітин ПЕ, які припадають на КЛ 1 і 4 та КЛ 2 і 3 між собою значимо не відрізняються ( $p > 0,05$ ), тобто, між указаними парами кластерів наявна певна структурно-функціональна рівновага, яка відображає системні морфометричні особливості функціонування ПЕ СМ.

Таким чином, ураховуючи власні результати і літературні дані [118, 119, 158, 166, 188] можна стверджувати, що в нормі рівні частки клітин КЛ 1 і 4 вказують на структурно-функціональну рівновагу між проліферативними потенціями базальних клітин і цілісністю уротеліального клітинного бар'єру, а рівні частки клітин КЛ 2 і 3 характеризують структурно-функціональну рівновагу між початковим та кінцевим етапами диференціації проміжних уротеліоцитів.

Для образного представлення результатів кластерного аналізу рекомендується використовувати когнітивну графіку [7], кожна частина чи кожний елемент якої зафарбовані різними кольорами, що мають визначений зміст. Вона дає можливість без аналізу великої кількості інформації робити певні висновки. До такої графіки слід віднести представлення результату кластеризації в координатному полі (метод k-середніх) (див. рис. 3.7). На вказаному рисунку представлена кластерна структура клітинного складу ПЕ СМ щурів у нормі, де вісь абсцис – це площа клітин, а вісь ординат – площа їхніх ядер. На графіку уротеліоцити кожного КЛ позначені маркерами різного кольору. Із графіка наочно видно, що кластери розміщені поряд – це вказує на

те, що об'єкти кластерів (у нас уротеліоцити) утворюють єдину структурну систему. Водночас, кластери взаємно не перекриваються, що переконує про те, що кластеризація проведена вдало. Найщільнішими є КЛ 2 і 3, їхні елементи найбільше групуються навколо своїх кластерних центрів, що обґруntовує те, що об'єкти цих КЛ за своїми структурними характеристиками є найбільш однорідними. Наявність у КЛ 4 аномальних викидів і значна розсіяність його елементів вказує на те, що на об'єкти цього кластера, навіть у нормі, впливають зовнішні фактори. Якщо врахувати, що КЛ 4 представлений парасольковими клітинами, які постійно піддаються впливу певного об'єму сечі і агресивних до уротеліоцитів її складових, то остання думка видається правдоподібною. Продовжуючи її, можна також припустити, що більша щільність і однорідність об'єктів КЛ 3 і 2 вказує на певну їхню ізольованість від позасистемних впливів, що підтверджується їхнім розташуванням під уротеліальним бар'єром. У цілому кластерна структура ПЕ СМ щурів характеризує взаємообумовленість і взаємозалежність сукупностей клітин різних кластерів у нормі.

Отримані нами результати щодо структурної організації м'язової оболонки СМ інтактних і контрольних щурів мало чим відрізняються від результатів інших дослідників як на світлооптичному, так і ультраструктурному рівнях [6, 16, 23, 35, 36, 43, 62, 81, 89, 148, 203]. За результатами наших досліджень можемо доповнити, що в нормі і контролі в СМ щурів найчастіше спостерігаються світлі гладкі міоцити.

Отримані нами результати щодо наявності в стінці СМ щурів двох сплетень кровоносних судин (адвентиційно/серозного і сплетення слизової оболонки) і різних ГМЦР (м'язової оболонки і підуротеліального), а також наявності судин, які проходять крізь м'язову оболонку і з'єднують між собою два сплетення, збігаються з результатами авторів, що вивчали ангіоархітектоніку стінки СМ людини [177].

Використовуючи розроблену нами комп'ютерну програму [46] уперше були уточнені значення ряду морфометричних ознак внутрішньоорганних гемосудин СМ, які є органоспецифічними для однорічних щурів-самців лінії

Вістар, а також отримані дані щодо діаметра просвіту і товщини стінки судин підуротеліального ГМЦР в інтактних щурів, які є подібними до результатів інших експериментаторів [76, 156, 164].

ЦД – це метаболічне захворювання, яке супроводжується порушенням усіх видів обміну речовин, у першу чергу вуглеводного, що проявляється стійкою вираженою гіперглікемією [9, 74]. Упродовж останніх років оцінку стабільності діабету здійснюють за рівнем глікозильованого гемоглобіну [44]. Американська діабетична асоціація [114] за основні критерії розвитку ЦД 1-го типу вважає рівень глюкози в крові натще більше 7,0 ммоль/л і вміст глікозильованого гемоглобіну ( $\text{HbA}_{1\text{C}}$ ) більше 6,5 %. За результатами наших досліджень [98] рівень глюкози в крові вже на 14-у добу розвитку СД зростає в 2,60 раза і становить  $(13,57 \pm 1,14)$  ммоль/л, що вказує на розвиток СД у дослідних щурів уже на перших етапах спостереження. Це підтверджує також вміст  $\text{HbA}_{1\text{C}}$ , який у цей термін дорівнює  $(6,78 \pm 0,58)$  %. У наступні два терміни вміст глюкози в крові нарощає і на 42-у добу стає більшим за контроль в 4,75 раза і досягає рівня  $(24,98 \pm 2,16)$  ммоль/л, а на 56–70-у доби спостереження залишається таким же високим. На таку ж динаміку розвитку гіперглікемії вказують автори, які в дослідженнях використовують щурів лінії Vistar [69, 77, 82, 123, 174, 183, 184, 203]. Натомість у дослідах, в яких використовуються щурі лінії Sprague-Dawley рівень глюкози 21–28 ммоль/л у крові дослідних щурів спостерігали вже на 3–14-у добу від індукції ЕЦД [117; 128; 155; 160; 204]. Складається враження, що незважаючи на те, що обидві лінії щурів належать до одного виду (*Rattus norvegicus*), щурі лінії Sprague-Dawley до діабетогенних чинників є більш чутливими.

В інтактних і контрольних тварин вміст глюкози в сечі був виявлений у межах 0,88–0,95 ммоль/л, що вважається за норму [2, 9]. Вищий за контроль рівень глюкози в сечі в 2,47 раза виявляється вже на 14-у добу розвитку СД. У наступний термін рівень глюкози в сечі збільшується у 8,94 раза, а впродовж 42–70-ї доби розвитку СД на фоні стабільної вираженої гіперглікемії встановлюється стабільна значна глюкозурія, при якій вміст глюкози в сечі

перевищує контроль в 21,61–23,84 раза, у той же час як рівень глюкози в крові перевищує контроль тільки в 4,46–4,75 раза. На такий дисонанс у розвитку гіперглікемії і глюкозурії вказує також Г. С. Болеева [12].

На фоні осмотичного діурезу, поліурії, полідипсії і зневоднення організму, які розвиваються при ЦД, важливо визначити рівень спожитої і виділеної рідини. За значеннями коефіцієнта варіації ми довели, що показники, які характеризують спожиту і виділену щурами рідину, які розраховані на 1 кг маси тіла тварини,  $\epsilon$ , у порівнянні з їхніми натуральними аналогами, показниками менш мінливими, а, значить, більш стабільними і вагомими. Так ми визначили, що добовий діурез інтактних щурів становив  $(5,3 \pm 1,2)$  мл/дoba, а з урахуванням маси тіла тварин –  $(22,6 \pm 4,0)$  мл/кг/дoba. При порівнянні цих показників з такими інших дослідників [2, 12, 30] наші дані в першому випадку різняться на 23–78 %, а в другому – тільки на 4–23 %. Виходячи зі сказаного, у діабетичних щурів ці показники ми визначали з урахуванням їхньої маси тіла.

Нами встановлено, що кількість випитої діабетичними щурами води і добовий діурез до 28-ї доби досліду збільшуються, відповідно в 7,61 і 18,54 раза. Перевага діурезу над спожитою рідиною вказує на порушення водного балансу (негативний водний баланс). Із 42-ї доби і до кінця досліду в діабетичних щурів діурез зменшується внаслідок того, що при концентрованій первинній сечі (рівень глюкози в сечі становить 20,10–22,61 ммол/л) зменшується діурез [18]. До того ж у цей період у нашому досліді маніфестує мікроангіопатія, яка, як встановила Г. С. Болеева [12], знижує клубочкову фільтрацію в нирках. Пропорційно до зміни діурезу зменшується полідипсія і таким чином підтримується негативний водний баланс. При цьому обидва показники залишаються на 42–70-у доби досліду більшими за контроль у межах, відповідно, 5,84–4,90 і 13,64–11,10 раза. Виявлена динаміка розвитку полідипсії і поліурії співзвучна з результатами інших авторів [172].

Для ЕЦД характерним є зменшення маси тіла дослідних тварин, на що вказує ряд дослідників [128, 129, 138, 172]. Це пов'язано з порушенням білкового обміну і проявляється як пригніченням анabolізму, так і посиленням

катаболізму білків [74]. В останні роки з'явилося ряд досліджень [175, 197, 221], в яких доведена залежність зменшення маси тіла дослідних тварин при ЕЦД від віку, статі і лінії щурів. A. Scridon et al. [221] встановили, що при індукції СД у 6-тижневих щурів їхня маса тіла протягом 38 тижнів не зменшується відносно початкової, але є значно меншою від контролю. Виходячи з цього, ми використовували однорічних щурів, в яких низький природний приріст маси тіла не міг вплинути на результати експерименту.

Щодо зниження маси тіла щурів при ЕЦД дослідники одностайні, а відносно зниження маси СМ – є розбіжності. Більшість авторів указує, що маса СМ збільшується при СД [129, 172], інші – не змінюються [138]. Ми застосовуємо показник, що характеризує відношення маси СМ у міліграмах до маси тіла щурів у грамах, який використовують у наукових дослідженнях [128, 172]. У діабетичних щурів цей показник на 14–28-у доби досліду стає більшим за контроль в 2,26–3,09 раза, а на 42–70-у збільшується в 2,64–2,31 раза.

Нами вперше встановлено, що в ході розвитку СД порушується, характерна для норми, структурно-функціональна рівновага між парасольковими клітинами (КЛ 4) і базальними уротеліоцитами (КЛ 1), а також між клітинами КЛ 2 і 3. Підтвердженням цього (рис. 1) є збільшення з 14-ї доби досліду і в наступні терміни відсотків клітин КЛ 1 у межах 1,90–2,53 раза і зменшення часток клітин КЛ 3 і 4, відповідно в 1,40–1,83 раза і в 1,42–2,30 раза. Водночас частка клітин КЛ 2 не міняється. Ця перебудова вказує на розладженість системних механізмів функціонування ПЕ СМ, яка настає вже з перших термінів розвитку СД і не відновлюється до кінця експерименту.

Нами досліджено, що вже на ранніх етапах розвитку СД [96, 99, 206] у щурів розвивається десквамація клітин КЛ 4 і 3, яка виявляється як на світлооптичному, так і ультраструктурному рівнях і веде до зменшення відсотків клітин цих кластерів. Ми переконані, що в нашому досліді злущення клітин ПЕ на 14–28-у доби досліду спричиняє гідростатичний тиск збільшеного в 12,14–18,54 раза об'єму сечі. Десквамацію уротелію СМ при ЕЦД спостерігали також інші дослідники [159, 160] тільки в пізніші терміни (на

кінець 8–9-го тижнів). Інші автори [119; 188] при різних патологічних впливах виявили десквамацію парасолькових клітин набагато раніше: перші через 72 години, а другі – на 20-у хвилину після дії чинника.

Ми встановили, що на 42- і 56-у доби розвитку СД [94, 97, 99] десквамація ПЕ СМ наростає. Злущенню піддаються не тільки клітини проміжного шару, але й базального, що веде до порушення стратифікації уротелію і оголення БМ. Посиленню десквамації у нашому досліді сприяє зміщення реакції сечі до кислої [9] (на ці терміни pH сечі становить 6,08–5,53). Ці процеси ведуть до атрофії ПЕ, який стає одно- чи двошаровим. На втрату уротелієм СМ морфологічної стратифікації при цистопатіях на фоні вібраційної хвороби і хронічного простатиту вказують інші автори [62]. Необхідно зазначити, що поряд із ділянками ПЕ, в яких наявні патологічні зміни, виявляються ділянки, де уротелій мало чим відрізняється від норми чи контролю, а також ділянки, де спостерігаються тільки клиноподібні розриви уротелію або розриви сполучних комплексів парасолькових клітин. На такий поліморфізм змін уротеліоцитів при різних цистопатіях указують також інші автори [8, 90, 160].

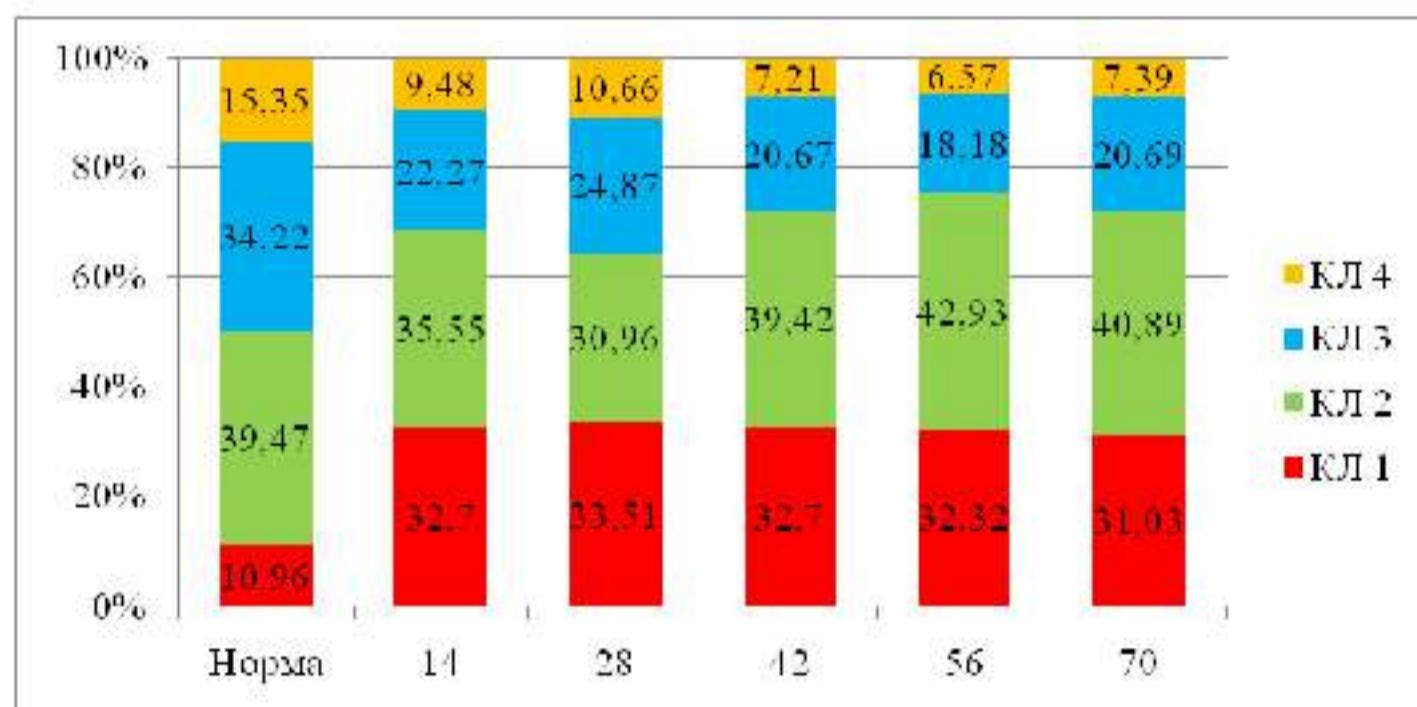


Рис. 1. Кількість уротеліоцитів (%) різних кластерів на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету.

Достеменно відомо, що руйнування уротеліального клітинного бар'єра (клітин КЛ 4) призводить до підвищення проліферативної активності клітин базального шару (КЛ 1), які далі диференціюються в клітини інших шарів ПЕ [116, 118, 119, 141, 160, 166]. Тільки проліферація клітин КЛ 1 могла збільшити їхній відсоток у нашому досліді. Виходячи з даних літератури [166, 188], можна стверджувати, що зменшення часток клітин КЛ 3 свідчить про сповільнення кінцевого етапу диференціації проміжних уротеліоцитів у нашому випадку, при цьому початковий етап їхньої диференціації не страждає, на що вказує відсутність статистично значимої різниці між відсотками клітин КЛ 2 контрольних і діабетичних щурів в усі періоди розвитку СД. До речі R. E. Hurst et al. [158] відзначають, що при деяких патологіях СМ спостерігається дефект саме термінального диференціювання клітин уротелію.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що на 14–28-у доби досліду в усіх кластерах збільшується площа уротеліоцитів в 1,21–1,40 раза, а їхніх ядер – в 1,17–1,44 раза (рис. 2).

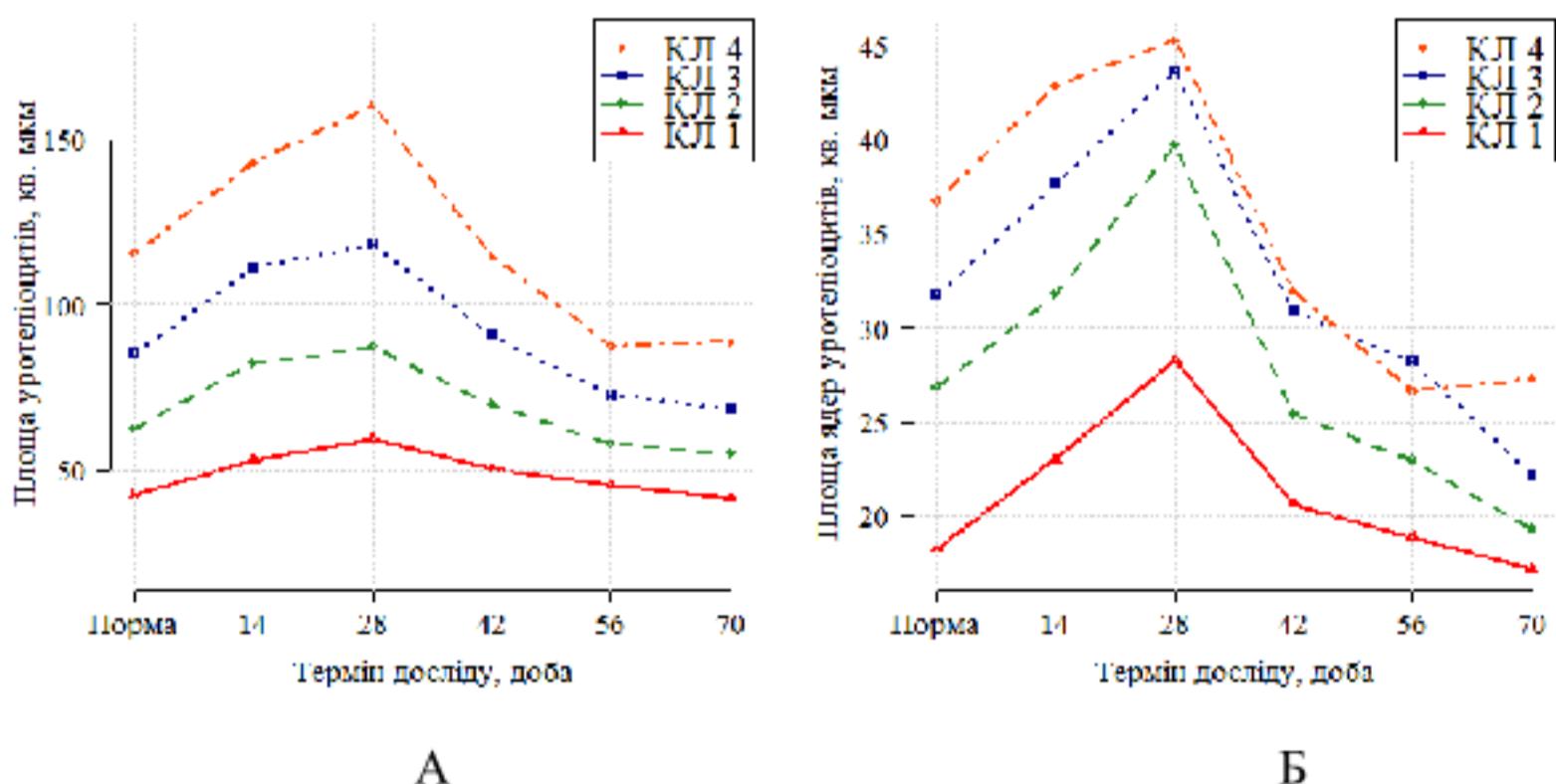


Рис. 2. Зміна площи уротеліоцитів (А) та їхніх ядер (Б) у різних кластерах при стрептозотоциновому діабеті.

Ми встановили, що ці зміни спричинені розвитком вакуольної дистрофії різного ступеня виразності, яка виявляється як на гістологічних препаратах, так і на ультраструктурному рівні. Ряд авторів указують, що після пошкодження уротеліального бар'єру відбувається переміщення компонентів сечі, зокрема води, у глибші шари ПЕ СМ [118, 119]. Цьому в нашому досліді особливо сприяють клиноподібні розриви уротелію, які можуть досягати базальної мембрани. Слід враховувати, що гіперглікемія спричиняє осмотичний діурез, який унаслідок зменшення реабсорбції води в проксимальних трубочках і петлі нефронів призводить на 14–28-у добу досліду до збільшення в 12,14–18,54 раза добового об'єму сечі, яка за рахунок багаторазового збільшення швидкості діурезу [12] стає низької питомої щільності. У транспорті води з такої сечі до уротеліоцитів можуть бути задіяні два механізми: пасивний – дифузія відповідно до концентраційного градієнта [166] і активний – за участю аквапоринів (AQPs) [144] і транспортерів сечовини (UTs), які модулюють розміри уротеліоцитів і осмолярність сечі [144, 199].

У наступні терміни спостереження клітини з вакуольною дистрофією трапляються все рідше і на 70-у добу практично не виявляються. На 42–56-у доби нерідко виявляються клітини, в яких відбулося злиття вакуоль у великі пухирі – балони, що стискають ядро та органели. Вважається, що така (балонова) дистрофія спричиняє розвиток фокального коліквацийного некрозу клітин [1].

Починаючи з 42-ї доби досліду (див. рис. 2), відбувається прогресивне зменшення розмірів клітин ПЕ і їхніх ядер так, що на останній термін досліду площа уротеліоцитів КЛ 1, 2, 3 і 4 стають меншими в 1,07–1,24 раза, а їхні ядер – в 1,16–1,39 раза. У цей термін частина парасолькових клітин (КЛ 4) за ультраструктурною будовою мало відрізняються від таких контрольних щурів, що свідчить про певне відновлення поверхневого шару уротелію. Ряд авторів указують, що парасолькові клітини, які утворилися в результаті регенерації, є меншими за розмірами [115, 118, 119].

На 42–70-у доби розвитку СД збільшується вміст уротеліоцитів, які виглядають дегідратованими. Їхній матрикс осміофільний із малим вмістом уротеліальних пухирців і редукованими цитоплазматичними органелами. На наш погляд, зменшення розмірів клітин ПЕ та їхня ультраструктурна перебудова спричинені глюкозурією, яка в ці терміни спостереження є найбільш вираженою, концентрація глюкози в сечі становить (21,26–21,67) ммол/л і є більшою за контроль у 22,61 і 22,81 раза. При цьому діурез діабетичних щурів у дані терміни, у порівнянні з 28-ю добою, зменшується в 1,74–1,76 раза. Власне, зменшення діурезу при високій глюкозурії значно збільшує питому щільність сечі, осмотичний тиск якої стаєвищим, ніж в уротеліоцитах, і вода за градієнтом концентрації виходить із клітин. Унаслідок цього розвивається дегідратація уротеліоцитів. Із літератури відомо, що при гіпертонічній сечі клітини ПЕ втрачають воду [116, 166]. До цього, треба додати, що в період із 28-ї по 56-у добу досліду десквамація клітин ПЕ ще не відчуває і спостерігається руйнування багатьох сполучних комплексів між парасольковими клітинами, що сприяє переміщенню сечі високої питомої щільності по міжклітинних просторах в глибші шари ПЕ. На можливість за певних умов такого уротеліального паракелюлярного транспорту речовин, навіть без пошкодження уротеліального бар'єра, вказує N. Montalbetti et al. [162]

На 14-у добу розвитку СД (рис. 3) відмічається значне розрідження елементів кластерних структур (у нашому випадку – уротеліоцитів), особливо КЛ 4 і 3, з'являється багато викидів. На 28-у добу досліду розрідженість і викиди нарощують, а лінія, на якій розміщені центри кластерів, вигинається. Беззаперечним є те, що існують позауротеліальні чинники, які значно розбалансують систему клітинного складу ПЕ. До найголовнішого з таких чинників ми відносимо поліурію, так як на 14–28-у доби в діабетичних щурів збільшується діурез в 12,14–18,54 раза. Власне гідростатичний тиск великого об'єму сечі і швидка наповнюваність СМ розбалансують систему клітин ПЕ.

Починаючи з 42-ї доби перебігу СД, спостерігається зворотний процес – елементи кластерів групуються навколо своїх центрів, що вказує на зменшення впливу попереднього фактору, а саме – діурезу в діабетичних щурів. На 56–70-у доби площа кластерних структур стає, у порівнянні з нормою, ще меншою внаслідок ще більшого групування їхніх елементів.

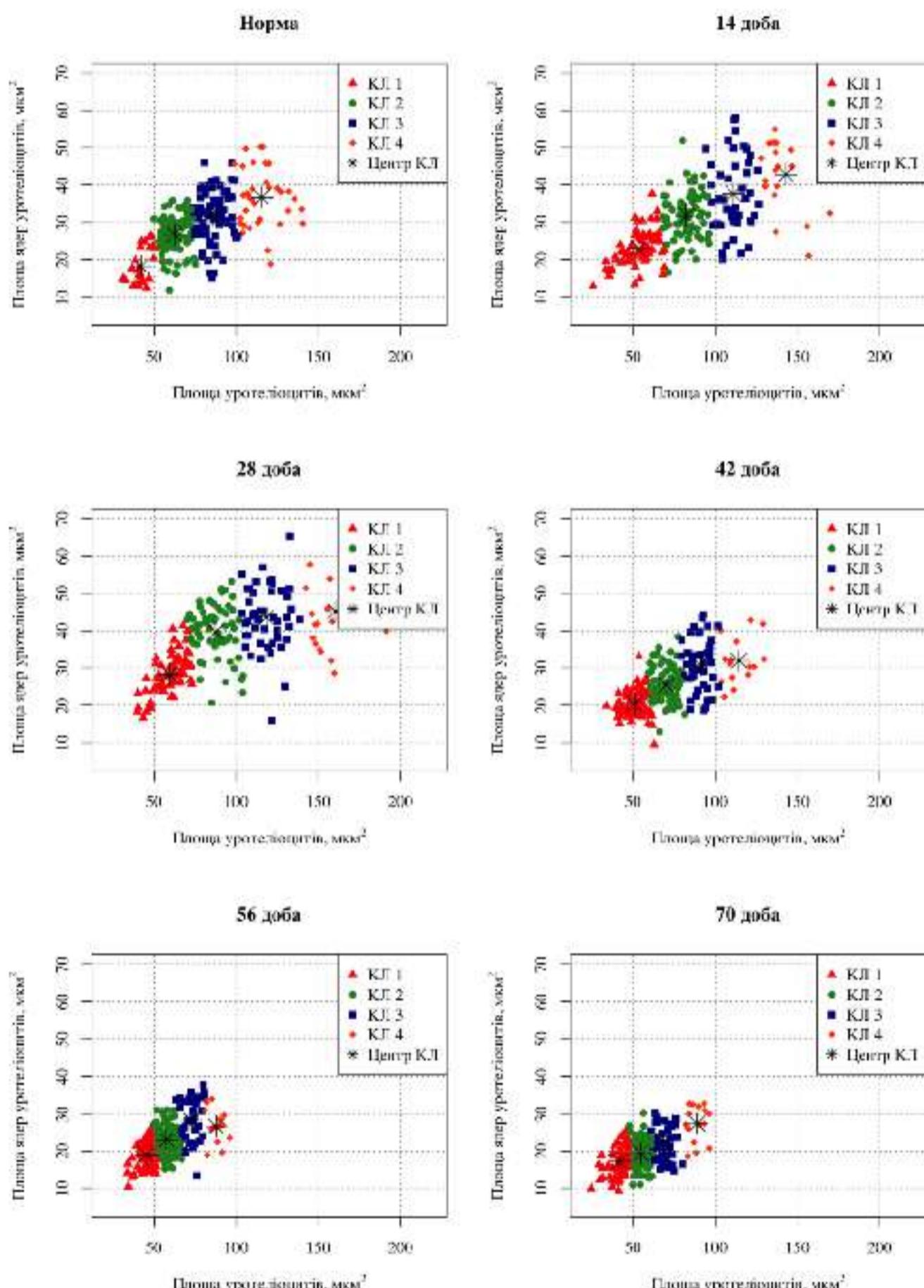


Рис. 3. Кластерні структури клітин переходного епітелію в координатному полі в нормі та в різні терміни розвитку стрептозотоцинового діабету.

До того ж, кластери зміщуються як до осі абсцис, так і до осі ординат, що вказує на зменшення розмірів їхніх елементів. Перебудова кластерної структури в останніх двох термінах свідчить про те, що з'явилися нові потужні впливи позасистемних факторів – виражена глюкозурія, про що було сказано вище. Тільки на 70-у добу розвитку СД лінія, на якій розміщені центри КЛ стає прямою і мало відрізняється від такої в нормі. У цілому кластерна структура в останній термін досліду наводить на думку, що структурна система клітинного складу ПЕ СМ пристосувалася до постійного впливу позауротеліальних (позасистемних) зовнішніх і внутрішніх факторів.

На сьогодні доведено, що для нормального функціонування СМ мають значення три основні структурні складові його стінки: 1) гладкі м'язи, що відповідають за сечовидільну функцію [160, 172, 174]; 2) колагенові волокна, що забезпечують здатність його стінки до розтягнення [129, 172]; 3) уротелій, структурно-функціональний стан якого має детермінантний вплив на функцію м'яза-детрузора [118, 128]. Виходячи зі сказаного, для порівняння цих трьох складових стінки СМ дослідних тварин із контрольними, необхідно використовувати об'єктивні дані, які аргументуються числовими показниками кожної складової. Однак існуючі для цього морфометричні методи [16, 25, 62, 81, 148, 172, 174, 203, 204] не задовольняють за двома моментами. По-перше, більшість із них визначає товщину чи площу вказаних складових стінки СМ разом із площею основної речовини міжклітинного простору, вміст якої міняється при інтерстиційних набряках, дегідратації тканини, збільшенні об'єму СМ. По-друге, ті методи, які здійснюються з використанням гістологічних зрізів, забарвлених за Массоном і усувають недоліки, що вказані в першому пункті, мають неабиякий суб'єктивний фактор – межі значень кольорів для кожного компоненту зображення (уротелію, гладких м'язів і колагенових волокон) задаються в ручному режимі. Розроблений нами метод дозволяє в автоматичному режимі визначити на гістологічних зрізах СМ відсотки площі складової від їхньої сумарної площи і усуває вищевказані недоліки [72].

Визначені відсотки площ цих компонентів стінки СМ контрольних щурів розробленим нами методом, схожі на такі в роботі G. Liu et al. [172], а за результатами інших авторів [204] – відсоток площі міоцитів є більшим за наші дані, а частка площі колагенових волокон – меншою, що скоріше за все, пов’язано з методами дослідження. Указані автори здійснювали кольорову сегментацію «вручну», а ми – в автоматичному режимі. При цьому динаміка гіпертрофії гладких міоцитів, яку ми виявили при СД, подібна до результатів як G. Liu et al. [172], так і D. A. Pitre et al. [204], але потребує уточнення. Перші автори використовували 10-тижневих щурів і найбільшу гіпертрофію детрузора виявили на 3-й тиждень СД, у других – вік щурів був більшим за річні і найвищий рівень гіпертрофії міоцитів вони спостерігали на 5-й тиждень, а ми задіяли 12- місячних щурів і найбільшу гіпертрофію м’яза-детрузора виявили на 28-у добу досліду. Ці розбіжності пояснюються віком тварин – чим молодші щурі, тим більш стрімко виникає гіпертрофія детрузора [172].

Нами встановлено, що відсоток площі гладких міоцитів СМ щурів починає зростати з 14-ї доби розвитку СД і на 28-у добу збільшується в 1,31 раза, що опосередковано вказує на їхню гіпертрофію. Ці дані відповідають найбільшому діурезу у щурів. На 42-у добу відсоток площі гладких міоцитів діабетичних щурів значимо не зменшується від попереднього терміну, але діурез у них зменшується в 1,45 раза. На 56- і 70-у доби розвитку СД відсоток площі гладких міоцитів дослідних щурів зменшується, у порівнянні з 28-ю добою, тільки в 1,08 і 1,07 ( $p<0,01$ ) раза, у той же час як діурез цих щурів зменшується в 2,10 раза. Як видно з представленого, при СД виявляється певна залежність між діурезом щурів і гіпертрофією детрузора СМ. Наші дані узгоджуються з даними інших дослідників, які вважають, що гіпертрофію гладких м’язів СМ при ЕЦД стимулює збільшений у рази діурез [128, 204]. Однак ми відмітили певне відставання регресу гіпертрофії гладких міоцитів від ступеня зниження діурезу.

У нашому дослідженні відсоток площі колагенових волокон стінки СМ діабетичних щурів спочатку прогресивно зменшується і на 28-у добу досліду

стає меншим від такого контрольних в 1,92 раза. Зменшення відсотка площі колагенових волокон на ранніх етапах розвитку СД спостерігали також інші дослідники, які використовували метод кольорової сегментації, а саме: G. Liu et F. Daneshgari [172] – на 3-й, а D. A. Pitre et al. [204] – на 5-й тижні. Із 42-ї до 56-ї доби спостерігається зворотний процес і відсоток площі колагенових волокон значимо зростає, що, скоріше за все, пов’язано з діабетичною мікроангіопатією, яка спричиняє хронічну ішемію стінки СМ [21], і яка в нашому досліді починає маніфестувати саме з 42-ї доби. На 70-у добу відсотки площ як колагенових волокон, так і гладких міоцитів не відрізняються від попереднього терміну. Отримані нами дані на 10-й тиждень експерименту подібні до результатів G. Liu et F. Daneshgari [172] на 9-му тижні розвитку СД.

Ураховуючи те, що до кінця нашого досліду гладкі міоцити залишаються гіпертрофованими, що вказує на збереження сечовидільної здатності СМ [160, 172], а також те, що відсоток площі колагенових волокон є нижчим за контроль і говорити про дифузний фіброз стінки СМ немає підстави, можемо стверджувати, що ДЦ щурів залишається компенсованою до кінця експерименту, який ми проводили. Наш висновок не суперечить твердженню ряду авторів [128, 160, 200], що ДЦ СМ у щурів і мишей, індукована стрептозотоцином, переходить у декомпенсовану стадію на 9–12-й тижні розвитку СД. На об’єктивність нашого висновку вказують результати досліджень, в яких зменшення сечовидільної здатності СМ у діабетичних щурів виявили тільки через 6 місяців [130], а збільшення площі фіброзу – через 6 [168] і 11 [174] місяців від початку індукції ЕЦД.

Нами встановлено, що впродовж експерименту в стінці СМ спостерігаються гладкі міоцити, які за ультраструктурними ознаками знаходяться в стані функціональної напруги [1, 86], а також темні міоцити, які з кожним терміном розвитку СД ідентифікуються все частіше, на що вказують також інші автори [211]. Серед темних міоцитів ми виділяємо темні функціонуючі гладкі міоцити, які наявні також у контрольних щурів, і інволютивні темні міоцити, які перебувають в стані некробіозу. Гіпертрофовані

гладкі міоцити СМ і функціонуючі та інволютивні темні міоцити визначали також при доброкісній гіпертрофії передміхурової залози в біоптатах стінки СМ людини [62, 81], а також у стінці СМ щурів при інфравезикальній обструкції сечовивідних шляхів [20].

Ми вважаємо, що причиною розвитку вакуольної дистрофії гладких міоцитів СМ, яку ми виявили вже з 14-ї доби розвитку СД, яка на 28-у добу маніфестує і на 42-у доповнюється балоновою дистрофією, є розвиток діабетичної мікроангіопатії. Мікроангіопатія СМ у нашому досліді на 14–28-у доби проявляється розширенням артеріол і еритроцитарними сладжами у венулах підуротеліального ГМЦР, що веде до збільшення гідростатичного тиску крові в капілярах та виходу води в міжклітинний простір [18], яка в гладкі міоцити СМ потрапляє відповідно до концентраційного градієнту [74]. На користь нашого висновку слід додати, що в цей період розвитку СД плазма крові діабетичних щурів має високий ступень гідратації, оскільки дослідні щури випивають води в 5,14–7,61 раза більше, ніж контрольні. Ця вода потрапляє в артеріальну частину кровообігу. Беззаперечно, що в такому випадку плазма крові має осмотичний тиск нижчий, ніж у клітинах.

Проте є роботи, в яких порушення водно-мінерального обміну в міоцитах СМ і розвиток в них вакуольної дистрофії пов'язують не з інтерстиційними набряками, а з надмірним розтягненням його стінки. Так, є повідомлення про експериментальне дослідження, в якому проводили трансуретральне одноразове гостре перерозтягнення СМ ізотонічним розчином Рінгера [178]. Автори встановили, що після такого розтягнення СМ виникає виражений набряк у його власній пластинці і між гладкими м'язовими волокнами, а міоцити мають значну кількість вакуоль. Ми допускаємо, що такий механізм порушення водно-мінерального обміну в м'язовій тканині СМ цілком можливий і в нашому досліді, оскільки при будь-якому ЦД швидке перерозтягнення СМ відбувається постійно в результаті поліурії. Ряд авторів указують також, що при доброкісній гіпертрофії передміхурової залози, яка спричиняє гостру затримку сечі і перерозтягнення СМ, вакуолі різних розмірів

присутні в цитоплазмі практично всіх гладких міоцитів, які спостерігали в біоптатах СМ людини [62, 81].

Із 42-ї до 70-ї доби розвитку СД кількість темних інволютивних гладких міоцитів у стінці СМ зростає, що ми пов'язуємо з прогресуванням діабетичної мікроангіопатії, яка спричиняє розвиток гіпоксії, а також із дезорганізацією БМ капілярів і вираженим плазматичним просяканням. У цей період плазма крові діабетичних щурів стає гіпертонічною в результаті підвищення рівня глюкози в крові до 24,11–24,98 ммоль/л і одночасного зменшення в 5,84–4,90 раза полідипсії внаслідок зменшеного діурезу. Гіпертонічна плазма, осмотичний тиск якої вищий, ніж у гладких міоцитах відповідно до концентраційного градієнту викликає їхню дегідратацію [74]. На користь нашого судження вказує зменшення маси тіла щурів і їхніх СМ, а також секвестрація дегідратованих гладких міоцитів, яка є наслідком коагуляційного (сухого) некрозу, що виникає в дегідратованих тканинах [107].

Упродовж усього розвитку СД ми спостерігали поліморфізм у перебудові гладких міоцитів СМ діабетичних щурів. На такі зміни гладких міоцитів при гіперактивному СМ і гіперплазії передміхурової залози вказують ряд авторів [62, 81], які ці зміни розглядають як стереотипні варіанти структурної модифікації м'язової оболонки СМ при різних патологічних процесах і називають їх фенотиповою гетерогенністю.

Виходячи з того, що діабетичні мікроангіопатії розглядаються, у першу чергу, як генералізоване ураження артеріол, капілярів і венул [3, 10, 42, 59], ми проводили морфометрію судин підуротеліального ГМЦР. Ураховуючи також те, що при ЦД виникає ендотеліальна дисфункція, яка супроводжується зміною співвідношення вазодилататорів і вазоконстрикторів, які впливають на тонус судин, а також те, що часто виникає набряк і десквамація ендотелію та набряк гладких міоцитів [3, 82, 109, 132, 146, 157], ми визначали діаметр просвіту і товщину стінки мікрогемосудин.

Нами встановлено, що на 14-у добу розвитку СД діаметр просвіту артеріол указаного русла збільшується в 1,38 раза, що пов'язано з наступним.

По-перше, відомо, що ендотеліальна дисфункція розвивається на ранніх етапах розвитку ЦД [145]. По-друге, на первинну гіперглікемію ендотелій артеріол спочатку відповідає підвищеним вивільненням оксиду азоту (ІІ), який є ключовим медіатором вазодилатації [3, 109]. У цей термін ми також виявили розширення просвіту гемокапілярів в 1,30 раза, але механізм їхньої вазодилатації інший, ніж артеріол. Скоріше всього, це пов'язано зі збільшенням гідростатичного тиску в капілярній сітці за рахунок розширення артеріол [74].

Із 28-ї доби досліду просвіт артеріол починає звужуватися і на 42-у – не відрізняється від контролю. Часто спостерігаються спазмовані артеріоли і дрібні артерії. Це спричинила висока гіперглікемія, яка знижує здатність ендотеліоцитів синтезувати вазодилататори [3, 109, 132, 146]. На 42-у добу досліду, у порівнянні з 28-ю, діаметр просвіту венул стає більшим в 1,13 раза, а капілярів зменшується в 1,15 раза. Така перебудова судин ГМЦР з одночасним розширенням просвіту венул і звуженням капілярів могла відбутися тільки за участі артеріоло-венулярних анастомозів, які розширились і скинули кров у венули [54]. Такі судинні анастомози на 42-у добу перебігу СД І. І. Савка [82] спостерігала в яєчку, а інші дослідники – в шкірі та сідничому нерві в більш ранні терміни розвитку СД [14, 56].

На 56–70-у доби розвитку СД спостерігається помірне розширення артеріол в 1,16–1,15 раза, а венул – в 1,31–1,44 раза. Як вказує В. Ф. Ганонг [18], у більшості тканин розширення судин зумовлене зниженням тонусу вазоконстрикторних симпатичних нервів, які гіперглікемія вражає з тієї причини, що основним переносником глюкози в нейрони та їхні відростки є GLUT 3, а в гліальні клітини, у тому числі шванноцити, – GLUT 1. Обидва переносники глюкози не є інсулінозалежними, що при СД у нейронах, їхніх волокнах і нейролемоцитах спричиняє надмірне нагромадження глюкози, активацію альдозоредуктази і утворення сорбіту, що веде до загибелі клітин і порушення аксонного транспорту [18, 42, 53]. На підтвердження об'єктивності нашого судження наведемо результати дослідження Г. С. Болеевої [12], яка встановила, що розширення артерій нирки в щурів на 6-й тиждень СД

зумовлене зменшенням нейрогенного тонусу при порушенні симпатичної іннервації. Ми не заперечуємо також думки, що спочатку діабетична мікроангіопатія уражас *vasa nervorum* [120], які живлять пучки нервових волокон, спричиняючи в останніх патологічні зміни.

Із 28-ї доби розвитку СД починає потовщуватися стінка судин усіх відділів підуротеліального ГМЦР, яка на 42-у добу в артеріолах потовщується в 1,40 раза, капілярах – в 1,13 і венулах – в 1,24 раза. Ми вважаємо, що причиною цього є набухання їхнього ендотелію. Це пояснюється тим, що транспорт глюкози в ендотеліоцити здійснюється переносниками глюкози, робота яких не залежить від впливу інсулулу. Тому ендотелій судин при СД перевантажується глюкозою [12, 18]. Результати наших досліджень підтверджують думку вказаних авторів. Нами встановлено, що рівень глюкози в крові діабетичних щурів на 42-у добу досліду зростає в 4,77 раза і становить ( $24,98 \pm 2,16$ ) ммоль/л. За таких умов активізується сорбітовий шлях перетворення глюкози, що веде до нагромадження в ендотеліоцитах осмотично активного сорбітулу, затримки  $\text{Na}^+$  і набухання ендотеліальних клітин [42, 53].

Реологічні порушення пов'язують із глікозильованим гемоглобіном, який змінює поверхневий s-потенціал еритроцитів, що спричиняє їхню аглютинацію [59]. Результати наших досліджень збігаються зі ствердженнями цих авторів. Так, на 14-у добу спостереження, коли  $\text{HbA}_{1c}$  більший за контроль в 3,48 раза – еритроцитарні сладжі ми спостерігали тільки в окремих венулах підуротеліального ГМЦР, на 28-у добу, коли вміст  $\text{HbA}_{1c}$  збільшується в 4,12 раза – сладжі виявляються в більшості венул, на 42-у добу вміст  $\text{HbA}_{1c}$  більший за контроль в 4,59 раза – сладжі трапляються ще й в артеріолах та капілярах, а на 56–70-у доби, коли вміст  $\text{HbA}_{1c}$  найбільший, ми спостерігали генералізацію сладж-синдрому в усіх судинах ГМЦР оболонок СМ. Відомо, що агрегація еритроцитів спричиняє розвиток циркуляторної гіпоксії [10].

Однією з головних ланок розвитку діабетичної мікроангіопатії вважають перебудову БМ гемокапілярів [29, 210, 212, 218], що корелює з рівнем і тривалістю гіперглікемії. Ми встановили, що незначне її потовщення

спостерігається вже на 14-у добу досліду, а до 70-ї вона стає більшою за норму в 3,22 раза. Із 42-ї доби досліду виявляється дезорганізація її структури, а на 56–70-у доби БМ стає пластинчастою. Ці зміни БМ пов'язані з неферментативним глікозилюванням її білків, що запускає гіперглікемія і посилює впродовж розвитку СД [42, 51, 52, 59, 218], на що опосередковано в нашому досліді вказує зростання вмісту HbA<sub>1C</sub>, починаючи з 14-ї доби і до кінця експерименту.

На 14-у добу експерименту з'являються інтерстиційні набряки стінки СМ, які нарощують до 28-ї доби. На нашу думку, причиною цих набряків є розширення артеріол і обструкція більшості венул еритроцитарними сладжами, що за Е. Старлінгом призводить до підвищення фільтраційного тиску в капілярах і розвитку інтерстиційних набряків. На 42-у добу ми відмітили зменшення цих набряків, яке пов'язуємо зі спазмом артеріол і їхньою обструкцією сладжами, що створює передкапілярну констрикцію, яка знижує тиск капілярної фільтрації і зменшує об'єм інтерстиційної рідини [18]. На 42-у добу досліду з'являються ділянки з плазматичним просяканням периваскулярної сполучної тканини окремих капілярів. Слід відмітити, що інші автори в яснах і підніжньощелепній залозі виявили плазматичне просякання капілярів у більш ранні періоди розвитку СД [57, 169].

Ми переконані, що набряки, які виникають на 56–70-у доби розвитку СД спричинені високою, стабільною і тривалою гіперглікемією – із 42-ї до 70-ї доби досліду рівень глюкози в крові становив (24,98–23,50) ммоль/л, яка підвищує неспецифічну проникність стінки капілярів за двома причинами. Перша: осмотично активні молекули глюкози гіпертонічної плазми крові, осмотичний тиск якої вищий ніж у клітинах, викликають зменшення розмірів ендотеліоцитів у результаті їхньої дегідратації [18] і, як наслідок, – розриви чи розширення міжендотеліальних сполучень до такого ступеня, що в екстравазальний простір проходять білки плазми і формені елементи крові [42]. Друга причина: підвищується неспецифічна проникливість БМ у результаті неферментативного глікозилювання її білків [42, 51, 152, 218]. Тому в цей

період ми спостерігали виражене плазматичне просякання периваскулярної сполучної тканини і рідко ділянки з діапедезом еритроцитів.

На ультраструктурному рівні з 42-ї доби розвитку СД ми виявили виражені дистрофічні зміни ендотеліоцитів, які наростили до кінця експерименту, коли з'являлися ознаки їхньої деструкції. На такі процеси, які маніфестиють із 42-ї доби розвитку СД, указують багато дослідників [10, 13, 14, 40, 41, 169]. До посилення цих патологічних процесів призводить вазоконстрикція артеріол та дрібних артерій і циркуляторна гіпоксія, наявність якої підтверджують еритроцитарні сладжі. Вищевказані зміни, а також зміни в цей термін БМ капілярів дослідники розглядають як виражену діабетичну мікроангіопатію [3, 10, 42, 59, 109, 169].

Результати комплексної оцінки морфофункціональних змін СМ на етапах розвитку СД ми представили на трьох узагальнюючих схематичних рисунках (рис. 4 – 6). На рис. 4 представлені морфофункціональні зміни, які виникають у ході розвитку діабетичної мікроангіопатії. На вертикальних різномірних стрічках указані зміни показників у рази, у порівнянні з контролем. На горизонтальних смугах вказані терміни спостереження

Слід сказати, що весь каскад змін запускає гіперглікемія, яка визначається вже в перший термін спостереження, до 42-ї доби досліду нарощає, а в останні два терміни – залишається стабільно високою. Гіперглікемія спричиняє осмотичний діурез, який на 14-у добу експерименту зростає більше як в 12 разів, до 28-ї доби збільшується, а в наступні терміни статистично значимо дещо зменшується. Діурез призводить до зневоднення організму, у результаті чого виникає полідипсія, ступінь якої узгоджується зі змінами діурезу. Первина гіперглікемія спричиняє розширення просвіту артеріол, а висока гіперглікемія на 42-у добу досліду звужує їхній просвіт, який перестає відрізнятися від контролю. На 56- і 70-у доби експерименту деяке розширення артеріол пов'язують із порушенням їхньої адренергічної іннервації внаслідок високої гіперглікемії.

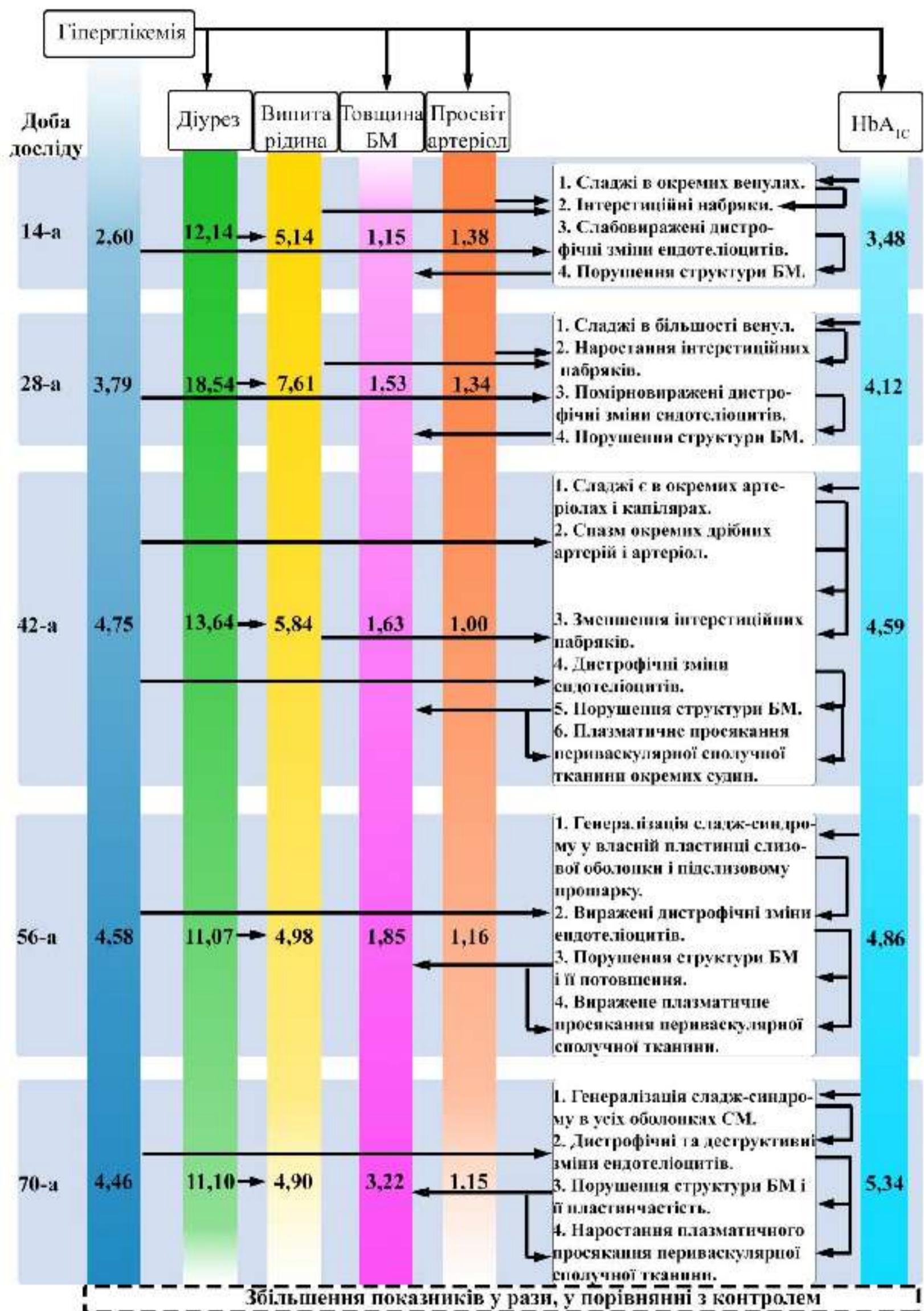


Рис. 4. Морфофункціональні зміни, які виникають у ході розвитку діабетичної мікроангіопатії в сечовому міхурі.

Гіперглікемія спричиняє глікозилювання гемоглобіну ( $\text{HbA}_{1c}$ ), який призводить, до адгезії і агрегації еритроцитів та утворення сладжів. Ступінь і поширеність сладжів чітко узгоджується зі збільшенням вмісту  $\text{HbA}_{1c}$ . Сладжі спочатку утворюються в окремих венулах, потім – у більшості венул, на 42-у добу досліду виявляються в артеріолах і капілярах, а в останні два терміни відбувається генералізація сладж-синдрому.

Гіперглікемія викликає наростаючі дистрофічні зміни ендотеліоцитів капілярів, які на 70-у добу досліду доповнюються ознаками їхньої деструкції, що ведуть до порушення синтезу і структури БМ, а глікозилювання її білків, яке спричиняє висока і тривала гіперглікемія, – до її пластиначності, що виявляється на 56–70-у доби досліду. У цілому ці процеси впродовж експерименту призводять до прогресивного потовщення БМ.

На 14-у добу досліду розширення артеріол, полідипсія і сладжі в окремих венулах є причиною розвитку інтерстиційних набряків, які на 28-у добу наростають унаслідок збільшення сладжів у венулах і наростання полідипсії, а на 42-у добу – зменшуються в результаті зменшення полідипсії, а також спазму дрібних артерій і артеріол та обструкції останніх і капілярів. Із 42-ї до 70-ї доби досліду нарстає плазматичне просякання периваскулярної сполучної тканини внаслідок наростання дистрофічних змін ендотеліоцитів і підвищенння неспецифічної проникності БМ капілярів.

На рис. 5 схематично представлені особливості перебудови уротеліоцитів СМ у ході розвитку стрептозотоцинової гіперглікемії. Великий об'єм сечі на 14–28-у добу досліду спричиняє наростаючу десквамацію і клиноподібні розриви парасолькових клітин та перебудову кластерних структур уротелію, а сеча низької питомої щільності надходить в уротеліоцити – розвивається наростаюча вакуольна дистрофія і збільшуються розміри клітин та їхніх ядер.

На 42–56-у доби експерименту вплив високого діурезу збільшується в часі, що спричиняє десквамацію клітин проміжного і базального шарів уротелію, розриви сполучних комплексів і розширення міжклітинних просторів, а дрібні вакуолі зливаються з утворенням балонів. У ці терміни

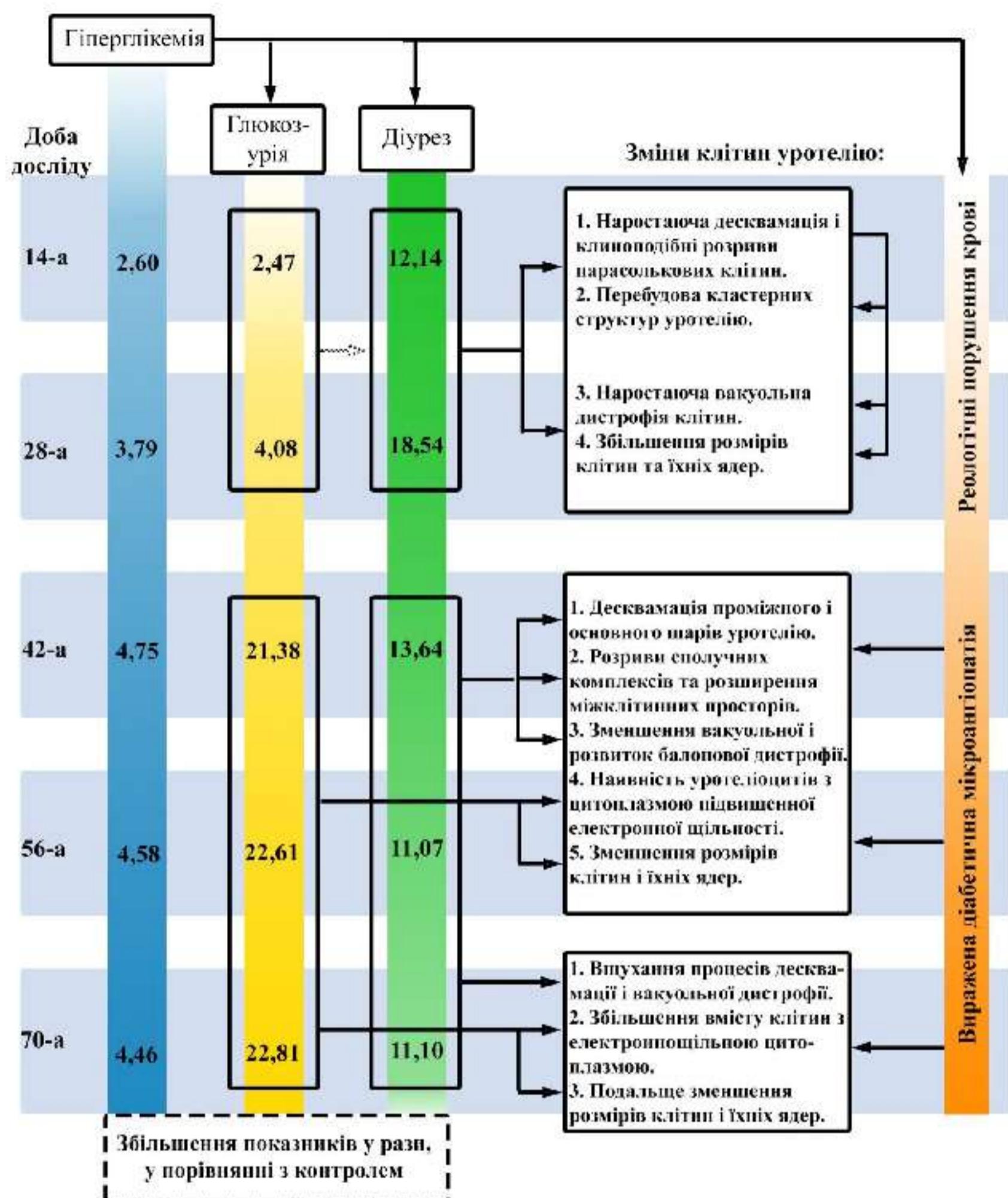


Рис. 5. Морфофункціональні зміни уротеліоцитів у ході розвитку стрептозотоцинової гіперглікемії.

досліду висока глюкозурія і зменшення діурезу значно збільшують питому щільність сечі, яка спричиняє дегідратацію уротеліоцитів, що ультраструктурно проявляється ущільненням їхньої цитоплазми і морфометрично

підтверджується зменшенням розмірів клітин та їхніх ядер. Ці процеси нарощують до 70-ї доби досліду, що пов'язано зі збільшенням тривалості впливу на уротелій глюкозурії та мікроциркуляторної гіпоксії внаслідок вираженої діабетичної мікроангіопатії.

На рис. 6 схематично представлені морфофункціональні зміни гладких міоцитів і колагенових волокон на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету. На 14–28-у доби досліду великий об'єм сечі спричиняє компенсаторну гіпертрофію гладких міоцитів, яка на ультраструктурному рівні проявляється ознаками функціональної напруги, а морфометрично підтверджується збільшенням відсотка їхньої площини. Водночас зменшується відсоток площини колагенових волокон, що також є компенсаторною реакцією. Збільшений об'єм випитої щурами рідини робить плазму крові гіпотонічною, яка разом із реологічними порушеннями крові спричиняє інтерстиційні набряки і вакуольну дистрофію міоцитів, що було описано вище.

На 42–56-у доби досліду зменшення діурезу призводить до зменшення навантаження на м'язову оболонку СМ, що спричиняє на тлі вираженої діабетичної мікроангіопатії зменшення вмісту міоцитів з ознаками функціональної напруги і зменшення відсотка їхньої площини та збільшення відсотка площини колагенових волокон. Зменшення за цих умов об'єму випитої щурами рідини веде до зменшення вакуольної дистрофії і розвитку балонової, а тривала висока гіперглікемія спричиняє дегідратацію гладких міоцитів, які ультраструктурно виявляються як темні інволютивні міоцити. На 70-у добу досліду збільшення вмісту таких міоцитів і їхня секвестрація пов'язана зі збільшенням часу впливу високої гіперглікемії і гіпоксії, яку спричиняє виражена діабетична мікроангіопатія.

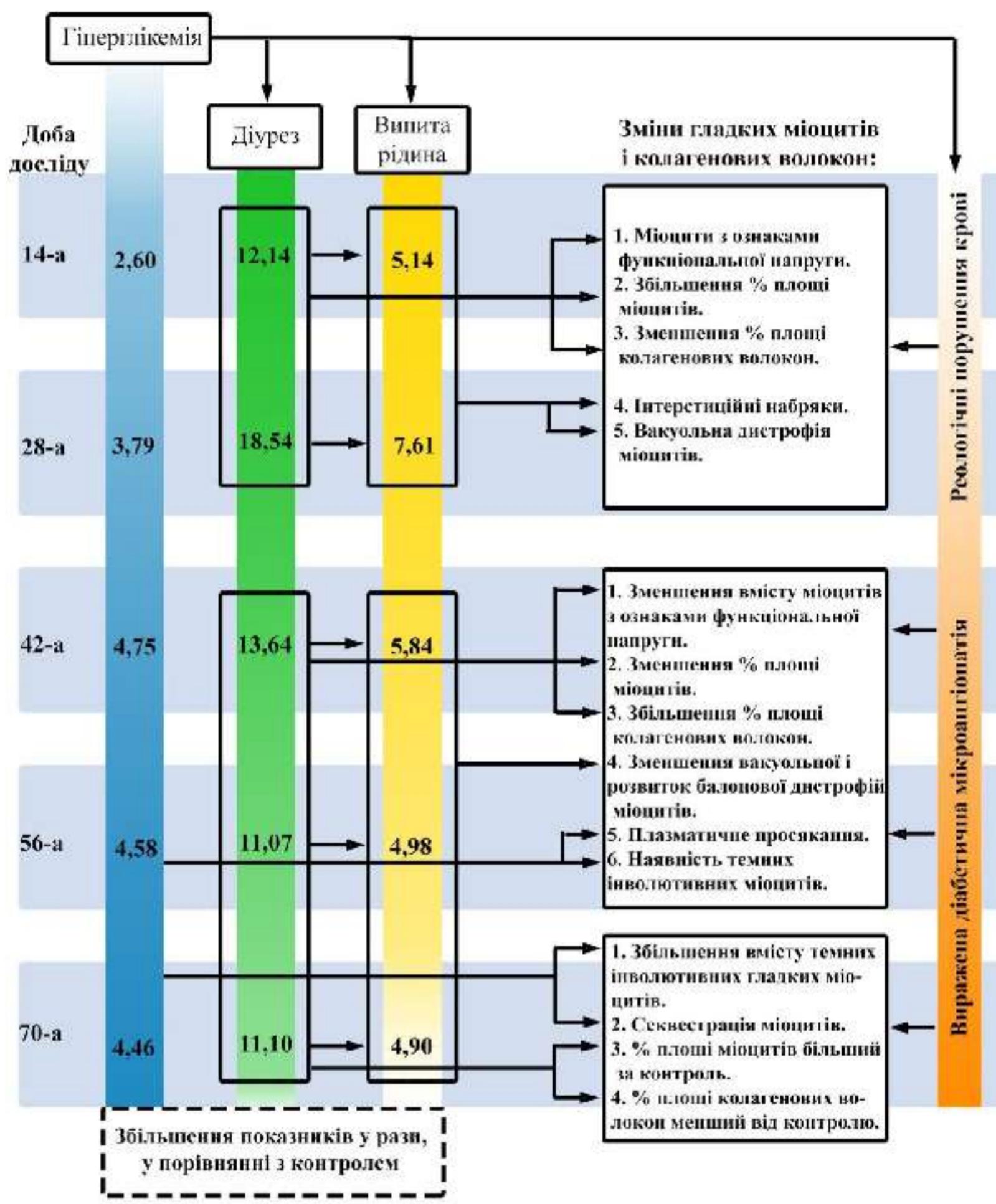


Рис. 6. Морфофункціональні зміни гладких міоцитів і колагенових волокон сечового міхура на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету.

## ВИСНОВКИ

1. Незважаючи на постійне зростання захворюваності на цукровий діабет і високу соціальну значимість розвитку діабетичної цистопатії, як одного зі специфічних його ускладнень, що знижує якість життя хворих, має клінічний поліморфізм і невизначеність механізмів розвитку, питання щодо моррофункциональної організації сечового міхура в нормі та при стрептозотоциновому діабеті залишається неналежно вивченим і вимагає комплексного дослідження з використанням морфологічних, морфометричних, біохімічних методів та методів багатовимірної статистики.

2. Стінка сечового міхура щурів у нормі характеризується наступними метричними показниками: частка площі уротелію дорівнює  $(7,62 \pm 2,24) \%$ , а частка гладких міоцитів і колагенових волокон відповідно –  $(53,81 \pm 6,66) \%$  і  $(38,57 \pm 6,13) \%$ . Діаметри просвітів судин підуротеліального гемомікроциркуляторного русла становлять: артеріол –  $(9,81 \pm 2,78) \text{ мкм}$ , капілярів –  $(7,10 \pm 1,94) \text{ мкм}$  і венул –  $(16,46 \pm 3,32) \text{ мкм}$ . Клітини уротелію формують чотири кластери, частки яких складають відповідно  $10,96 \%$ ,  $39,47 \%$ ,  $34,22 \%$  і  $15,35 \%$ . У нормі між кількістю клітин (%) кластерів 1 і 4 та кластерів 2 і 3 існує структурно-функціональна рівновага.

3. Встановлено гістометричні та електронномікроскопічні характеристики клітин кластерів уротелію: кластер 1 – базальні уротеліоцити, найменші за площею  $(42,2 \pm 5,09) \text{ мкм}^2$  і площею їхніх ядер  $(18,3 \pm 4,79) \text{ мкм}^2$ , із найвищим ядерно-цитоплазматичним відношенням, малодиференційовані; кластери 2 і 3 – клітини проміжного шару уротелію, що диференціюються і різняться між собою за розмірами уротеліоцитів  $(62,5 \pm 6,21) \text{ мкм}^2$  і  $(85,4 \pm 7,48) \text{ мкм}^2$  та їхніх ядер  $(26,8 \pm 5,05) \text{ мкм}^2$  і  $(31,7 \pm 6,58) \text{ мкм}^2$ , а також за рівнем ядерно-цитоплазматичного відношення, виразністю комплексу Гольджі, наявністю уротеліальних пухирців і лізосом, з яких кластер 2 – помірно-, а кластер 3 – високодиференційовані клітини; кластер 4 – парасолькові клітини, що

утворюють уротеліальний бар'єр, найбільші за площею ( $115,6 \pm 11,18$ ) мкм<sup>2</sup> та площею їхніх ядер ( $36,7 \pm 7,84$ ) мкм<sup>2</sup>, із найнижчим ядерно-цитоплазматичним відношенням, високодиференційовані, для яких властиві бляшкові та петлеподібні ділянки, сполучний комплекс, розвинутий комплекс Гольджі, багато уротеліальних пухирців і первинних та вторинних лізосом.

4. Рівень глюкози та вміст глікозильованого гемоглобіну в крові нарощують, починаючи з 14-ї доби досліду. Так, у порівнянні з контролем, перший збільшується до 42-ї доби в 4,75 раза ( $p < 0,01$ ), а другий до 70-ї – у 5,34 раза ( $p < 0,01$ ). У сечі на 42-у добу концентрація глюкози зростає в 21,38 раза ( $p < 0,01$ ), pH сечі зміщується до кислої реакції. Масометричні показники до 70-ї доби виявляють зменшення маси тіла ( $p < 0,01$ ) і збільшення маси сечового міхура ( $p < 0,01$ ). Розлади водного балансу проявляються в збільшенні об'єму випитої рідини і діурезу відповідно в 4,90 і 11,10 раза ( $p < 0,01$ ). Ці зміни підтверджують розвиток стабільного стрептозотоцинового діабету.

5. Порушення структурно-функціональної рівноваги між кластерами 1 і 4 та 2 і 3 виявляється вже з 14-ї доби і до кінця експерименту: кількість клітин (%) кластера 1 вірогідно збільшується, кластера 3 і 4 – зменшується, при відсутності зміни частки клітин кластера 2. Характерними ознаками морфологічної перебудови уротеліоцитів є десквамація і розриви парасолькових клітин, збільшення площині клітин та їхніх ядер усіх кластерів до 28-ї доби, що супроводжується вакуольною дистрофією. Із 42-ї до 70-ї доби площа уротеліоцитів та їхніх ядер зменшується на тлі ущільнення цитоплазми і ультраструктурної перебудови органел (гіпотрофія цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі, дрібні мітохондрій з деструкцією гребенів і темним матриксом, зменшення вмісту уротеліальних пухирців), що є наслідком тривалої високої глюкозурії.

6. На 14–28-у доби розвитку стрептозотоцинового діабету виявлено компенсаторну гіпертрофію гладких міоцитів стінки сечового міхура з ультраструктурними ознаками функціональної напруги, а морфометрично – збільшенням частки площині міоцитів в 1,31 раза ( $p < 0,001$ ) та зменшенням

колагенових волокон в 1,92 раза ( $p<0,001$ ) на тлі інтерстиційних набряків. Упродовж 42–70 діб частка площ гладких міоцитів, порівняно з 28-ю добою, зменшується в 1,12 раза ( $p<0,01$ ), а колагенових волокон збільшується 1,55 раза ( $p<0,01$ ), при тім на кінець досліду відсоток площі міоцитів залишається більшим за контроль ( $p<0,01$ ), а колагенових волокон – меншим ( $p<0,01$ ), що вказує на те, що діабетична цистопатія впродовж експерименту залишається компенсованою. Ультраструктурно в ці терміни виявляються темні інволютивні міоцити з біdnістю органел, субсарколемальних пухирців, міофіламентів і секвестрацією саркоплазми та ознаки локального фіброзу міжклітинної речовини.

7. Перші ознаки діабетичної мікроангіопатії в стінці сечового міхура визначаються вже на 14–28-у доби розвитку стрептозотоцинового діабету, а саме: розширення діаметрів просвіту артеріол, потовщення базальної мембрани в 1,53 раза ( $p<0,001$ ), сладжі у венулах. 42-а доба досліду характеризується вазоконстрикцією артеріол, подальшим розширенням венул, сладжами в капілярах, значними ультраструктурними змінами ендотеліоцитів (ущільнення цитоплазми, маргінальний гетерохроматин, біdnість органел, мікроворости і потовщення цитоплазми, мікроклазматоз). На 56–70-у доби спостерігається вторинне розширення артеріоло-венулярного відділу мікроциркуляторного русла і виражені гемореологічні порушення кровотоку, нарстають дистрофічні зміни ендотеліоцитів і плазматичне просякання периваскулярної сполучної тканини, базальна мембрастає пластинчастою та потовщується до 70-ї доби в 3,22 раза ( $p<0,001$ ).

8. У патогенезі розвитку експериментальної стрептозотоцинової діабетичної цистопатії можна виділити два періоди. Перший триває упродовж 14–28 діб і проявляється нарстаючою гіперглікемією та глюкозурією, вираженою поліурією та полідипсією, перебудовою кластерних структур клітинного складу уротелію, десквамацією парасолькових клітин та клиноподібними розривами уротелію, збільшенням площі та вакуольною дистрофією уротеліоцитів, компенсаторною гіпертрофією гладких міоцитів

стінки сечового міхура, розвитком початкових ознак діабетичної мікроангіопатії. Другий період охоплює 42–70-у доби і характеризується високою стабільною гіперглікемією і глюкозурією, зменшенням, у порівнянні з 28-ю добою, поліурії і полідипсії, дегідратацією уротеліоцитів (із відповідними якісними та морфометричними змінами) і гладких міоцитів (зі зменшенням частки їхньої площини та превалюванням темних інволютивних типів), що відбуваються на тлі вираженої діабетичної мікроангіопатії.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авцын А. П. Ультраструктурные основы патологии клетки / А. П. Авцын, В. А. Шахламов. – М. : Медицина, 1979. – 320 с.
2. Активность адренокортичальной системы у крыс с высокой и низкой устойчивостью к диабетогенному действию аллоксана / В. Г. Селятицкая, Н. А. Пальчикова, Н. В. Кузнецова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 3. – С. 142 – 147.
3. Балаболкин Н. И. Патогенез ангиопатий при сахарном диабете / Н. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Креминская // Сахарный диабет. – 1999. – № 1. – С. 2 – 8.
4. Баринов Э. Ф. Протеинкиназа С при сахарном диабете – роль в развитии эндотелиальной дисфункции у крыс с различной исходной активностью eNOS / Э. Ф. Баринов, Х. В. Григорян, О. Н. Сулаева // Світ біології та медицини. – 2008. – № 1. – С. 6 – 9.
5. Бармина А. О. Молекулярные механизмы регуляции сокращения гладких миоцитов. / А. О. Бармина, А. Л. Зашихин, Я. Селин // Морфология. – 2010. – Т. 137, № 4. – С. 27 – 27.
6. Башилова Е. Н. Сравнительный анализ реактивной трансформации гладкой мышечной ткани некоторых висцеральных органов человека / Е. Н. Башилова, А. Л. Зашихин // Морфология. – 2010. – Т. 137, № 4. – С. 28.
7. Берестнева О. Г. Методы исследования структуры медицинских данных / О. Г. Берестнева, И. А. Осадчая, Е. В. Немеров // Вестник науки Сибири. – 2012. – Т. 1, № 2. – С. 333 – 338.
8. Биосинтетические реакции и ультраструктура уротелиоцитов при хроническом цистите и цистопатиях / Л. М. Непомнящих, С. В. Айдагулова, О. И. Иванинский [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, № 9. – С. 349 – 355.

9. Біохімічні показники в нормі і при патології : навч. довідник / [Д. П Бойків, Т. І. Боднарчук, О. Л. Іванків [та ін.]; за ред. О. Я. Склярова. – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
10. Блищак Н. Б. Діабетичні ангіопатії / Н. Б. Блищак // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 74 – 77.
11. Блищак Н. Б. Структурна перебудова підщелепних слинних залоз щура та їх судинного русла за умов експериментального цукрового діабету / Н. Б. Блищак // Вісник морфології. – 2014. – Т. 20, № 1. – С. 129 – 132.
12. Болеева Г. С. Регуляторные изменения артерий почек у крыс при сахарном диабете 1 типа: автореф. дис. на соискание канд. бiol. наук: спец.03.03.01 «Физиология» / Г. С. Болеева. – М., 2013. – 24 с.
13. Борис Р. Я. Електронно-мікроскопічне дослідження гемомікроциркуляторного русла різних шарів шкіри білого щура при експериментальному діабеті / Р. Я. Борис // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 63 – 66.
14. Борис Р. Я. Якісно-кількісні зміни гемомікроциркуляторного русла шкіри при експериментальному стрептозотоцинному цукровому діабеті / Р. Я. Борис // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 11 – 17.
15. Буслик Т. В. Структурні та функціональні зміни еритроцитарних мембран за умов цукрового діабету 1 типу / Т. В. Буслик, Н. І. Климишин, Н. О. Сибірна // Лабораторна діагностика. – 2008. – Т. 43, № 1. – С. 24 – 27.
16. Вітрук Ю. В. Гістологічні зміни в стінці сечового міхура при хронічній затримці сечі, спричиненій доброкісною гіперплазією передміхурової залози / Ю. В. Вітрук, А. М. Романенко // Урологія. – 2008. – № 1 – 4. – С. 47 – 49.
17. Воспроизведение стрептозотоцин-индуцированной эндотелиальной дисфункции у крыс / А. И. Маяков, М. В. Покровский, Т. Г. Покровская [и др.] // Научные ведомости. Серия «Медицина. Фармация». – 2010. – Т. 93, № 22, вып. 12. – С. 56 – 63.

18. Ганонг В. Ф. Фізіологія людини: підручник / В. Ф. Ганонг; перекл. з англ. [наук. ред. перекладу М. Гжегоцький, В. Шевчук, О. Заячківська]. – Львів: БаК, 2002. – 784 с.
19. Гаргула Т. И. Особенности ремоделирования артерий двенадцатиперстной кишки при экспериментальной язве в условиях алюминиевого отравления / Т. И. Гаргула, М. С. Гнатюк // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – Т. 28, № 1. – С. 101 – 104.
20. Гетерогенность морфологических и функциональных изменений разных отделов мочевого пузыря крыс при инфравезикальной обструкции мочевых путей / Ю. В. Кудрявцев, В. И. Кирпатовский, И. С. Мудрая [и др.] // Архив патологии. – 2012. – Т. 74. – С. 49 – 51.
21. Гипербарическая оксигенация в комплексном лечении интерстициального цистита / Д. Ю. Пушкарь, А. В. Зайцев, А. П. Гавриленко [и др.] // Урология. – 2010. – № 1. – С. 22 – 24.
22. Гістологічна термінологія. Міжнародні терміни з цитології та гістології людини – Terminologia Histologica. International Terms for Human Cytology and Histology: навч. посіб. / Федеративний міжнародний комітет з анатомічної термінології: Переклад з анг. вид.: за ред. Ю. Б. Чайковського, О. Д. Луцика. – К.: “Медицина”, 2010. – 304 с.
23. Гістологія людини : підручник / О. Д. Луцик, А. Й. Іванова, К С Кабак [та ін.]. – [4-е вид.]. – Київ : Книга плюс, 2010. – 584 с.
24. Гистотопография мышечных оболочек перистальтирующих органов – новый взгляд на их функцию и дискинезии / Н. Л. Кернесюк, М. Н. Кернесюк, А. В. Гетманова [и др.] // Морфология. – 2010. – Т. 137, № 4. – С. 91.
25. Гнатюк М. С. Морфометрична оцінка вікових особливостей ремоделювання структур стінки сечового міхура / М. С. Гнатюк, С. О. Нестерук, Л. В. Татарчук // Вісник наукових досліджень. – 2013. – № 1. – С. 119 – 120.
26. Гойдало Т. Р. Морфометрична характеристика перебудови легеневих і бронхіальних артерій у динаміці експериментального моделювання

гострої тонкокишкової непрохідності / Т. Р. Гойдало // Шпитальна хірургія. – 2013. – № 3. – С. 41 – 45.

27. Головацький А. С. Мікроструктурні зміни шкіри при експериментальному цукровому діабеті / А. С. Головацький, Р. Я. Борис // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2015. – Т. 15, № 4. – С. 220 – 223.

28. Грицюк М. І. Порівняльна характеристика експериментальних моделей цукрового діабету / М. І. Грицюк, Т. М. Бойчук, О. І. Пертишен // Світ медицини та біології. – 2014. – Т. 2, № 44. – С. 199 – 203.

29. Джалілова Е. А. Ультраструктурна характеристика капілярної ланки лівих відділів серця білих щурів у нормі та на ранніх термінах перебігу стрептозотоцинового цукрового діабету / Е. А. Джалілова, Ю. Я. Кривко // Галицький лікарський вісник. – 2010. – Т. 17, № 2, ч. 2. – С. 51 – 53.

30. Єрмоленко Т. І. Вплив фларосукцину на біохімічні показники сечі щурів за умови розвитку оксалатного нефролітіазу / Т. І. Єрмоленко, С. К. Шебеко // Український біофармацевтичний журнал. – 2013. – Т. 24, № 1. – С. 47 – 51.

31. Єрошенко Г. А. Гісто-функціональні особливості великих слінних залоз щурів за умов стимуляції симпатичного та парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи: дис. доктора мед. наук: 14.03.09 / Г. А. Єрошенко. – Полтава, 2010. – 319 с.

32. Жураківська О. Я. Морфофункціональний стан гіпоталамо-гіпофізарної системи в постнатальному періоді онтогенезу в нормі та при експериментальному цукровому діабеті : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : спец. 14.03.01 «Нормальна анатомія» / О. Я. Жураківська. – Івано-Франківськ, 2013. – 35 с.

33. Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика: учебное пособие / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – СПб : Фолиант, 2003. – 432 с.

34. Зашихин А. Л. К вопросу об особенностях структурно-функциональной организации регуляторных систем гладкой мускулатуры / А. Л. Зашихин, Я. Селин // Морфология. – 2008. – Т. 132, № 2. – С. 50.
35. Зашихин А. Л. К вопросу о специфике ультраструктурной организации интерстициальных клеток Кахаля в составе гладкой мускулатуры висцеральных органов человека / А. Л. Зашихин, Я Селин, А. Ю. Любезнов. // Вопросы морфологии ХХI века. – 2012. – № 3. – С. 56 – 57.
36. Зашихин А. Л. Механизмы регуляции сократительной активности гладких миоцитов / А. Л. Зашихин, Я. Селин, А. О. Бармина // Морфология. – 2010. – Т. 138, № 6. – С. 56 – 59.
37. Зашихин А. Л. Структурно-функциональная организация темных и светлых гладких миоцитов в составе мускулатуры висцеральных органов / А. Л. Зашихин, Я. Селин, Ю. В. Агафонов // Морфология. – 2004. – № 5. – С. 41 – 45.
38. Иваськива Е. Ю. Применение эрбисола в комплексном лечении инфекции мочевых путей у больных сахарным диабетом / Е. Ю. Иваськива, В. Л. Орленко, А. С. Ефимов // Сімейна медицина. – 2008. – № 1. – С. 59 – 61.
39. Кирик Х. А. Стан судинного русла очного яблука при цукровому діабеті / Х. А. Кирик // Практична медицина. – 2006. – Т. 12, № 4. – С. 116 – 122.
40. Кирик Х. А. Судинна оболонка очного яблука при стрептозотоцин-індукованому цукровому діабеті / Х. А. Кирик // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 23 – 27.
41. Кирик Х. А. Морфометричний аналіз гемокапілярної ланки судинної оболонки очного яблука в нормі та при цукровому діабеті (експериментальне дослідження) / Х. А. Кирик // Український медичний альманах. – 2013. – Т. 16, № 2. – С. 38 – 39.
42. Кіхтяк О. П. Патохімічні аспекти розвитку ангіопатій при цукровому діабеті / О. П. Кіхтяк, А. Т. Кіхтяк // Львівський медичний часопис. – 2006. – Т. 12, № 1. – С. 137 – 144.

43. Клеточные механизмы трансформации гладкой мускулатуры разных отделов матки крыс при развитии беременности. / О. В. Долгих, Ю. В. Агафонов, А. Л. Захишин [и др.] // Экологическая морфология. – 2010. – № 9. – С. 18 – 21.
44. Королев В. А. Диагностика гипогликемии в клинике / В. А. Королев, Г. А. Семенова // Лабораторная диагностика. – 2010. – Т. 54, № 4. – С. 10 – 21.
45. Костєв Ф. І. Особливості сечовипускання у хворих на цукровий діабет II типу / Ф. І. Костєв, Р. Р. Антонів // Одеський медичний журнал. – 2006. – Т. 94, № 2. – С. 55 – 58.
46. Котик Т. Л. Дослідження гемосудин підніжньощелепної залози та сечового міхура з використанням оригінального морфометричного аналізу / Т. Л. Котик, Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22, № 2. – С. 49 – 53.
47. Котик Т. Л. Морфометричний аналіз паренхіми підніжньощелепної залози інтактних щурів з використанням методів багатовимірної статистики / Т. Л. Котик // Світ медицини та біології. – 2015 – № 1 (48). – С. 138 – 142.
48. Котик Т. Л. Морфометричний і кластерний аналіз перебудови кінцевих відділів підніжньощелепної залози щура при стрептозотоцинному діабеті / Т. Л. Котик // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – № 82, Т. 1, кн. 2. – С. 97 – 105.
49. Котик Т. Л. Структурна організація ацинозних клітин під'язикової та підніжньощелепної залоз інтактних щурів з використанням кластерного аналізу / Т. Л. Котик // Інновації в медицині: тези доповідей 83-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених із міжнародною участю (Івано-Франківськ, 27-28 березня 2014 р.). – Івано-Франківськ, 2014. – С. 92.
50. Крайничин Н. Я. Цукровий діабет: більше питань, ніж відповідей / Н. Я. Крайничий // Вісник наукових досліджень. – 2008. – № 3. – С. 21 – 25.
51. Крутиков Е. С. Изменение показателей капилляроскопии у больных сахарным диабетом 1-го типа при развитии хронических осложнений /

Е. С. Крутиков, В. А. Житова, М. С. Крутикова // Международный эндокринологический журнал. – 2014. – Т. 2, № 58. – С. 40 – 44.

52. Кузьмин И. В. Исследование микроциркуляции в стенке мочевого пузыря у женщин с диабетической цистопатией / И. В. Кузьмин, М. Н. Слесаревская, Н. О. Шабудина // Урологические ведомости. – 2012. – Т. 2, № 3. – С. 14 – 17.

53. Кузьмин И. В. Патогенетические основы развития диабетической цистопатии / И. В. Кузьмин, Н. О. Шабудина // Экспериментальная и клиническая урология. – 2014. – № 4. – С. 92 – 98.

54. Куприянов В. В. Микроциркуляторное русло / В. В. Куприянов, Я. Л. Караганов, В. И. Козлов. – М.: Медицина, 1975. – 216 с.

55. Лебедь В. Г. Использование кластерного анализа для оценки частотных показателей вариабельности ритма сердца у больных стабильной стенокардией / В. Г. Лебедь, Е. Б. Королева // Современные технологии в медицине. – 2012. – № 1. – С. 70 – 74.

56. Матківський Р. М. Морфологія сідничого нерва та його мікроциркуляторного русла в нормі та при експериментальному цукровому діабеті: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед наук : спец. 14.03.01 «Нормальна анатомія» / Р. М. Матківський. – Вінниця, 2010. – 19 с.

57. Мікроструктура ясен в нормі та на ранніх стадіях розвитку інсулінозалежного цукрового діабету / І. О. Онисько, О. С. Фіталько, Р. М. Онисько [та ін.] // Новини стоматології. – 2012. – № 1. – С. 51 – 54.

58. Модная Ю. Н. Взаимосвязь физико-химических показателей нестимулированной ротовой жидкости и состояния вегетативного тонуса организма у практически здоровых молодых людей / Ю. Н. Модная // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. 9, № 3. – С. 63 – 65.

59. Морфофункциональні зміни стінок судин гемомікроциркуляторного русла на фоні діабетичних пародонтопатій (огляд літератури) / Є. В. Пальтов, Ю. Я. Кривко, В. Б. Фік [та ін.] // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2008. – Т. 42, № 2. – С. 81 – 86.

60. Нарушение микроциркуляции и реологических свойств крови как фактор формирования детрузорной гиперактивности / А. В. Гудков, Д. В. Титов, М. Б. Плотников [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – № 2. – С. 10 – 12.
61. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [и др.]. – К. : Авіцена, 2002. – 155 с.
62. Непомнящих Л. М. Ремоделироване мышечной оболочки (детрузора) гиперактивного мочевого пузыря при гиперплазии предстательной железы / Л. М. Непомнящих, Е. Л. Лушникова, А. И. Неймарк // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 153, № 5. – С. 742 – 747.
63. Нечитайло О. Ю. Особливості мікроциркуляції у пацієнтів із ускладненим цукровим діабетом / О. Ю. Нечитайло, В. М. Коновчук, І. О. Юхимець // Буковинський медичний вісник. – 2015. – Т. 19, № 2 (74). – С. 141 – 144.
64. Ноздрачев А. Д. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков. – СПб.: «Лань». – 2001. – 464 с.
65. Олдендерфер М. С. Кластерный анализ / М. С. Олдендерфер, Р. К. Блешфилд // Факторный, дискриминантный и кластерный анализ / Дж.-О. Ким, Ч. У. Мьюллер, У. Р. Клекка [и др.]; [под ред. И. С. Енюкова; пер. с англ. А. М. Хотинского, С. Б. Королева]. – М.: Финансы и статистика, 1989. – С. 139 – 210.
66. Орловский М. А. Экспериментальные исследования сахарного диабета 1 типа: причины меж и внутривидовых к диабетогенным факторам (обзор литературы и собственных исследований) / М. А. Орловский // Журнал АМН України. – 2006. – Т. 12, № 2. – С. 255 – 268.
67. Особенности заболеваний мочеполовой системы при сахарном диабете / Р. В. Роживанов, А. Н. Акимова, С. А. Дубский [и др.] // Диагностика, контроль и лечение. – 2009. – № 2. – С. 40 – 45.

68. Пальтов Є. В. Ультраструктурна організація м'яких тканин пародонту у білих щурів в нормі та динаміка їх змін протягом перебігу стрептозотоциніндукованого експериментального цукрового діабету / Є. В. Пальтов, Ю. Я. Кривко // Світ медицини та біології. – 2006. – № 3. – С. 35 – 44.
69. Пальтов Є. В. Морфологічні особливості та кровопостачання м'яких тканин пародонту в нормі та при цукровому діабеті (експериментальне дослідження): дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед наук: спец. 14.03.01 «Нормальна анатомія» / Євгеній Володимирович Пальтов. – Львів, 2007. – 221 с.
70. Пат. 102664 Україна, МПК A61B 5/107 (2015.01). Способ напівавтоматизованого визначення діаметра просвіту і товщини стінки гемосудин / Котик Т. Л., Токарук Н. С., Юрах О. М.; заявники і патентовласники Котик Т. Л., Токарук Н. С., Юрах О. М. – № u201504992; заяв. 21.05.2015; опубл. 10.11.2015, Бюл. №21.
71. Пат. 62966 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01), A61B 10/00. Способ моделювання цукрового діабету 1-го типу у тварин різного віку / В. А. Левицький, О. Я. Жураківська, В. А. Міськів, Л. М. Заяць, Р. Б. Петрів, Ю. М. Якимів, Б. М. Кіщук, Р. З. Гнатюк; заявники і патентовласники В. А. Левицький, О. Я. Жураківська, В. А. Міськів, Л. М. Заяць, Р. Б. Петрів, Ю. М. Якимів, Б. М. Кіщук, Р. З. Гнатюк – № u201101566; заявл. 11.02.2011; опубл. 20.09.2011, Бюл. № 18.
72. Пат. № 97270. Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01), A61B 5/107. Автоматизований спосіб визначення площ уротелію, колагенових і гладком'язових волокон на екваторіальних поперечних гістологічних зрізах сечового міхура експериментальних тварин / Токарук Н. С. – № u201408837; заяв. 04.08.2014; опубл. 10.03.2015, Бюл. № 5.
73. Пат. № 97771. Україна, МПК A61B 5/20 (2006.01). Метаболічна камера для забору сечі дрібних тварин / Токарук Н. С., Котик Т. Л., Юрах О. М., Жураківська О. Я., Попович Ю. І.; заявки і патентовласники Токарук Н. С.,

Котик Т. Л., Юрах О. М., Жураківська О. Я., Попович Ю. І. – № u201408798; заяв. 04.08.2014; опубл. 10.04.2015, Бюл. № 7.

74. Патофізіологія: підручник / М. Н. Зайко, Ю. В. Биць, Г. М. Бутенко [та ін.]; за ред. М. Н. Зайка і Ю. В. Биця. – [3-е вид.]. – К.: Медицина, 2010. – 704 с.

75. Переверзев А. С. Диагностические и лечебные аспекты синдрома гиперактивного мочевого пузыря / А. С. Переверзев // Международный медицинский журнал. – 2007. – № 2. – С. 105 – 109.

76. Попадинець О. Г. Морфометричний аналіз структурних перетворень у стінці сечового міхура при дії холодового фактора / О. Г. Попадинець // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т. XI, № 2 (40). – С. 122 – 126.

77. Покотило П. Б. Ангіоархітектоніка нирки щура в нормі та при експериментальному цукровому діабеті : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед наук : спец. 14.03.01 «Нормальна анатомія» / П. Б. Покотило. – Львів, 2013. – 19 с.

78. Продіус П. Г. Епідеміологія та економіка цукрового діабету / П. Г. Продіус, О. В. Северин, Н. В. Письменна. // Ендокринологія. – 2000. – Т. 5, № 1. – С. 109 – 114.

79. Проект концепції державної цільової соціальної програми «Цукровий діабет на період до 2018 року» // Международный эндокринологический журнал. – 2013. – Т. 56, № 8. – С. 169 – 173.

80. Регенерація уроепітелія сечового міхура після видалення слизової оболонки / О. Г. Костюк, В. В. Гончарук, Г. Я. Костюк [та ін.] // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 34 – 36.

81. Роль структурно-функциональных изменений гладкомышечных клеток детрузора и предстательной железы в развитии гиперактивного мочевого пузыря / Е. Л. Лушникова, Л. М. Непомнящих, Л. М. Неймарк [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 5. – С. 68 – 73.

82. Савка І. І. Морфологія яєчка щура та його судинного русла в нормі та при стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед наук: спец. 14.03.01 «Нормальна анатомія» / І. І. Савка. – Львів, 2014. – 20 с.
83. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова. – Москва: Медицина, 1996. – 544 с.
84. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 57116 від 17.11.2014. Комп'ютерна програма “Набір інструментів для морфометрії “MorphoTools for ImageJ” (“MorphoTools for ImageJ”). Автори Котик Т. Л., Токарук Н. С.
85. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 59192 від 07.04.2015. Комп'ютерна програма “Набір інструментів для морфометрії гемосудин “Vessels MorphoTools for ImageJ” (“VesselsMorphoTools for ImageJ”). Автори Котик Т. Л., Токарук Н. С., Юрах О. М.
86. Серов В. В. Ультраструктурная патология / В. В. Серов, В. С. Пауков. – М.: Медицина, 1975. – 432 с.
87. Снигур Г. Л. К вопросу стандартизации патогистологической диагностики сахарного диабета / Г. Л. Снигур, А. В. Смирнов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2010. – Т. 3, № 35. – С. 112 – 115.
88. Согуйко Ю. Р. Морфологічні особливості структури печінки в нормі та при експериментальній діабетичній гіперглікемії: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед наук : спец. 14.03.01 «Нормальна анатомія» / Ю. Р. Согуйко. – Львів, 2014. – 19 с.
89. Созыкин А. А. Морфологические аспекты развития гладкой мышечной ткани в миометрии млекопитающих / А. А. Созыкин, П. А. Хлопонин // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 4. – С. 116.
90. Стереотипные варианты структурной модификации уретелия при различных патологических процессах в мочевом пузыре и предстательной железе / Г. И. Непомнящих, С. В. Айдагулова, Д. Л. Непомнящих [и др.] //

Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, № 10. – С. 395 – 399.

91. Структурно-функциональная организация лимфоидной популяции тимуса: опыт применения математического классификационного анализа / А. В. Абрамов, А. М. Камышный, В. А. Любомирская [и др.] // Клінічна та експериментальна патологія. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 5 – 9.

92. Султан Р. Я. Морфологічні зміни язика при експериментальному цукровому діабеті / Р. Я. Султан // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 31 – 32.

93. Татарчук Л. В. Морфометричні аспекти артерій шлуночків серця при його гіперфункції / Л. В. Татарчук, О. Б. Слабий, М. С. Гнатюк // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 47 – 50.

94. Токарук Н. С. Зміни переходного епітелію сечового міхура щурів у пізні терміни експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Морфологічні аспекти ангіології: збірник мат. Всеукр. наук.-практ. конф. (Тернопіль, 24-25 жовтня 2013 р.). – Тернопіль, 2013. – С. 165.

95. Токарук Н. С. Кластерный анализ клеточного состава переходного эпителия мочевого пузыря крыс в норме / Н. С. Токарук // Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии: сб. науч. трудов межд. научной конф., (Москва, 16-17 апреля 2014г.). – Москва, 2014. – С. 276 – 278.

96. Токарук Н. С. Зміни морфометричних характеристик клітин і кластерної структури переходного епітелію сечового міхура щурів на ранніх етапах розвитку стрептозотоцинового діабету / Н. С. Токарук // II Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів і молодих вчених: матеріали (Чернівці, 8-10 квітня 2015 р.). – Чернівці, 2015. – С. 218.

97. Токарук Н. С. Характеристика діабетичної цистопатії в пізні терміни стрептозотоцинового цукрового діабету за результатами морфометричного та кластерного аналізу / Н. С. Токарук // XIX міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений пам'яті ректора,

члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука: мат. (Тернопіль, 27-29 квітня 2015 р.). – Тернопіль, 2015. – С. 311.

98. Токарук Н. С. Динаміка морфофункциональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22, № 3, ч. 2. – С. 95 – 99.

99. Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу переходного епітелію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – № 82, Т. 2, кн. 2. – С. 480 – 488.

100. Токарук Н. С. Характеристика гемосудин сечового міхура щурів при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, № 1. – С. 249 – 255.

101. Токарук Н. С. Характеристика переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі за результатами морфометричного та кластерного аналізів // Світ медицини та біології. – 2015. – Т. 48, № 1. – С. 163 – 166.

102. Урологические и андрологические заболевания при сахарном диабете / И. И. Дедов, Д. Г. Курбатов, Р. В. Роживанов [и др.] // Урология. – 2009. – № 4. – С. 74 – 78.

103. Халафян А. А. Statistica 6: Статистический анализ данных / А. А. Халафян. – [3-е изд.]. – М. : Бином-Пресс, 2007. – 512 с.

104. Хэм А. Гистология : в 5 т. / А. Хэм, Д. Кормак; пер. с англ. В. Л. Быкова; под ред. Ю. И. Афанасьева, Ю. С. Ченцова. – М. : Мир, 1983. – Т. 4. – 247 с.

105. Цуканов Д. В. Характеристика каріометричних показників епітеліоцитів привушної залози щурів в нормі та за умов стимуляції прозерином / Д. В. Цуканов, Г. А. Єрошенко, Н. В. Гасюк // Світ медицини та біології. – 2012. – № 1. – С. 159 – 162.

106. Шабудина Н. О. Особенности уродинамических нарушений у больных с диабетической цистопатией / Н. О. Шабудина, И. В. Кузьмин,

А. С. Аль-Шукри // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – Т. 8, № 2. – С. 168 – 172.

107. Шлопов В. Г. Патологічна анатомія : підручник / В. Г. Шлопов. – Вінниця : Нова книга, 2004. – 768 с.

108. Эндотелиальная дисфункция в развитии диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа / Ю. Б. Бельчина, Л. К. Соколова, Н. Д. Тронько [и др.] // Ендокринологія. – 2013. – Т. 18, № 1. – С. 44 – 49.

109. Ярек-Мартынова И. Р. Сахарный диабет и эндотелиальная дисфункция / И. Р. Ярек-Мартынова, М. В. Шестакова // Сахарный диабет. – 2004. – № 2. – С. 48 – 52.

110. Abbas O. Comparisons between data clustering algorithms / O. Abbas // Int. Arab. J. Inf. Technol. – 2008. – Vol. 5, № 3. – P. 320 – 325.

111. Acetylcholine and molecular components of its synthesis and release machinery in the urothelium. / K. S. Lips, J. Wunsch, S. Zarghooni [et al.] // Eur. Urol. – 2007. – Vol. 51, № 4. – P. 1042 – 1053.

112. Alberti K. G. M. M. Global burden of disease-where does diabetes mellitus fit in? / K. G. M. M. Alberti, P. Zimmet // Nat. Rev. Endocrinol. – 2013. – Vol. 9, № 5. – P. 258 – 60.

113. Alves C. Autonomic bladder dysfunction in an adolescent with type 1 diabetes / C. Alves, M. M. Sobral // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. – 2010. – Vol. 23, № 4 – P. 401 – 402.

114. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. Sec. 2. In Standards of Medical Care in Diabetes / Diabetes Care. – 2015. – Vol. 38, Suppl. 1. – S. 8 – 16.

115. Apical plasma membrane traffic in superficial cells of bladder urothelium / M. E. Kreft, K. Jezernik, M. Kreft [et al.] // Ann. NY Acad. Sci. – 2009. – № 1152. – P. 18 – 29.

116. Apodaca G. The uroepithelium: not just a passive barrier / G. Apodaca // Traffic. – 2004. – № 3. – P. 117 – 128.

117. Atalik K. E. Diabetes mellitus- and cooling-induced bladder contraction: an in vitro study / K. E. Atalik // J. Smooth Mus. Res. – 2010. – Vol. 46, № 4. – P. 175 – 183.
118. Birder L. Urothelial signaling / L. A. Birder, K.-E. Andersson // Physiol. Rev. – 2013. – № 93. – P. 653 – 680.
119. Bladder permeability barrier: recovery from selective injury of surface epithelial cells / J. Lavelle, S. Meyers, R. Ramage [et al.] // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2002. – № 283 (2). – P. 242 – 253.
120. Brown J. S. Diabetic cystopathy – What does it mean? / J. S. Brown // J. Urology. – 2009. – Vol. 181, № 1. – P. 13 – 14.
121. Carmines P. K. The renal vascular response to diabetes / P. K. Carmines // Cur. Opin. Nephrol. Hypertens. – 2010. – Vol. 19, № 1. – P. 85 – 90.
122. Cellular basis of urothelial squamous metaplasia: roles of lineage heterogeneity and cell replacement / F. X. Liang, M. C. Bosland, H. Huang [et al.] // J. Cell. Biol. – 2005. – № 171. – P. 835 – 844.
123. Changes in functioning of rat submandibular salivary gland under streptozotocin-induced diabetes are associated with alterations of  $\text{Ca}^{2+}$  signaling and  $\text{Ca}^{2+}$  transporting pumps / N. V. Fedirko, I. A. Kruglikov, O. V. Kopach [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2006. – Vol. 1762, № 3. – P. 294 – 303.
124. Cheng J. T. Changes of M3-muscarinic receptor protein and mRNA expressions in the bladder urothelium and muscle layer of streptozotocin-induced diabetic rats / J. T. Cheng, B. C. Yu, Y. C. Tong // Neurosci. Lett. – 2007. – Vol. 423, № 1. – P. 1 – 5
125. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes / P. Haldar, I. D. Pavord, D. E. Shaw [et al.] // Am. J. Resp. Crit. Care Med. – 2008. – Vol. 178, № 3. – P. 218 – 224.
126. Cluster analysis in phenotyping a portuguese population / C. C. Loureiro, P. Sa-Couto, A. Todo-Bom [et al.] // Rev. Port. Pneumol. (English Ed.). – 2015. – Vol. 21, № 6. – P. 299 – 306.

127. Cuce G. Evaluation of TGF beta1 expression and comparison the thickness of different aorta layers in experimental diabetes / G. Cuce, S. S. Kalkan, H. H. Esen // Bratisl. Lek. List. – 2011. – Vol. 112, № 6. – P. 318 – 322.
128. Daneshgari F. Time dependent changes in diabetic cystopathy in rats include compensated and decompensated bladder function / F. Daneshgari, G. Liu, P. B. Imrey // J. Urol. – 2006. – Vol. 176. – P. 380 – 386.
129. Diabetes induced alternation in the biomechanical properties of the urinary bladder wall in rats / C. C. Wang, J. Nagatomi, K. K. Toosi [et al.] // Urology. – 2009. – Vol. 73, № 4. – P. 911 – 915.
130. Diabetes induced decrease in detrusor smooth muscle force is associated with oxidative stress and overactivity of aldose / A. K. Changolkar, J. A. Hypolite, M. Disanto [et al.] // J. Urol. – 2005. – Vol. 173, № 1. – P. 309 – 313.
131. Diabetes mellitus due to viruses – some recent developments / T. M. Szopa, P. A. Titchener, N. D. Portwood [et al.] // Diabetologia. – 1993. – Vol. 36, № 8. – P. 687 – 695.
132. Diabetes mellitus is associated with low secretion rates of immunoglobulin a in saliva / J. Oikawa, S. Ukawa, H. Ohira [et al.] // J. Epidemiol. – 2015. – Vol. 25, № 7. – P. 470 – 474.
133. Diabetic bladder dysfunction: current translational knowledge / F. Daneshgari, G. Liu, L. Birden [et al.] // J. Urol. – 2009. – Vol. 182. – S. 18 – 26.
134. Diabetic cystopathy correlates with a long-term decrease in nerve growth factor levels in the bladder and lumbosacral dorsal root ganglion / K. Sasaki, M. B. Chancellor, M. W. Phelan [et al.] // J. Urology. – 2002. – Vol. 168. – P. 1259 – 1264.
135. Diabetic cystopathy: do we recognise this in our patients? / B. Jose, E. Karampini, M. Pucci [et al.] // Pract. Diab. Int. – 2011. – Vol. 28, № 3. – P. 129 – 131.
136. Diabetic plasticity of non-adrenergic non-cholinergic and P2X-mediated rat bladder contractions / A. Munoz, T. B. Boone, C. P. Smith [et al.] // Brain Res. Bull. – 2013. – № 95. – P. 40 – 45.

137. Drake M. J. Structural characterization of myofibroblasts in the bladder / M. J. Drake, C. H. Fry, B. Eyden // BJU International. – 2006. – Vol. 97. – P. 29 – 32.
138. Effect of urothelium on bladder contractility in diabetic rats / M. Kosan, G. Hafez, B. Öztürk [et al.] // Inter. J. Urol. – 2005. – № 12. – P. 677 – 682.
139. Effects of streptozotocin-induced diabetes on bladder and erectile (dys)function in the same rat in vivo / G. J. Christ, Y. Hsieh, W. Zhao [et al.] // BJU International. – 2006. – № 97. – P. 1076 – 1082.
140. Ely J. J. Diabetes and stress: an anthropological review for study of modernizing populations in the US-Mexico border region / J. J. Ely, T. Zavaskis, S. L. Wilson // Rural Remote Health. – 2011. – Vol. 11, № 3. – P. 1 – 17.
141. Endocytotic activity of bladder superficial urothelial cells is inversely related to their differentiation stage / M. E. Kreft, R. Romih, M. Kreft [et al.] // Differentiation. – 2009 – № 77. – P. 48 – 59.
142. Etuk E. U. Animals models for studying diabetes mellitus / E. U. Etuk // Agric. Bio. J. N. Am. – 2010. – Vol. 1, № 2. – P. 130 – 134.
143. Expression and distribution of transient receptor potential (TRP) channels in bladder epithelium / W. Yu, W. G. Hill, G. Apodaca [et al.] // Am. J. Physiol. Renal Physiol. – 2011. – Vol. 300, № 1. – P. 49 – 59.
144. Expression, localization, and regulation of aquaporin-1 to -3 in rat urothelia / D. A. Spector, J. B. Wade, R. Dillow [et al.] // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2002. – № 282. – P. 1034 – 1042.
145. Forbes J. M. Mechanisms of diabetic complications / J. M. Forbes, M. E. Cooper // Physiol. R. – 2013. – Vol. 93, № 1. – P. 137 – 188.
146. Fowler M. J. Microvascular and macrovascular complications of diabetes / M. J. Fowler // Clin. Diabetes. – 2011. – Vol. 29, № 3. – P. 116 – 122.
147. Functional characterization of transient receptor potential channels in mouse urothelial cells / W. Everaerts, J. Vriens, G. Owsianik [et al.] // Am. J. Physiol. Renal Physiol. – 2010. – Vol. 298, № 3. – P. 692 – 701.

148. Functional, morphological and molecular characterization of bladder dysfunction in streptozotocin-induced diabetic mice: evidence of a role for L-type voltage-operated  $\text{Ca}^{2+}$  channels / L. O. Leiria, F. Z. Mónica, F. D. Carvalho [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2011 – Vol. 163, № 6. – P. 1276 – 1288.
149. Ginter E. Type 2 diabetes mellitus, pandemic in 21st century / E. Ginter, V. Simko // Diabetes: An Old Disease, a New Insight. – Landes Bioscience and Springer Science, 2012. – Ch. 6. – P. 42 – 50.
150. Golbidi S. Bladder dysfunction in diabetes mellitus / S. Golbidi, I. Laher // Front. Pharm. – 2010. – Vol. 1, Article 136. – P. 1 – 9.
151. Gomez C. S. Bladder dysfunction in patients with diabetes / C. S. Gomez, P. Kanagarajah, A. E. Gousse // Curr. Urol. Rep. – 2011. – Vol. 12, № 6. – P. 419 – 426.
152. Hadi H. A. R. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus / H. A. R. Hadi, J. A. I. Suwaidi // Vasc. Health Risk Managt. – 2007. – Vol. 3, № 6. – P. 853 – 876.
153. Hedgehog/Wnt feedback supports regenerative proliferation of epithelial stem-cells in bladder / K. Shin, J. Lee, N. Guo [et al.] // Nature. – 2011. – № 472. – P. 110 – 114.
154. Hill S. R. Diabetes mellitus and female lower urinary tract symptoms: a review / S. R. Hill, A. M. Fayyad, G. R. Jones // Neurourol. Urodynam. – 2008. – № 27. – P. 362 – 368.
155. Histological analysis of the sublingual gland in rats with streptozotocin-induced diabetes / M. Kamata, M. Shirakawa, K. Kikuchi [et al.] // Okajimas Folia Anat. Jpn. – 2007. – Vol. 84, № 2. – P. 71 – 76.
156. Hossler F. E. Microvasculature of the rabbit urinary bladder / F. E. Hossler, F. C. Monson // Anat. Rec. US. – 1995. – Vol. 243, № 4. – P. 438 – 448.
157. Hudacko R. M. Diabetic microangiopathy in the liver: an autopsy study of incidence and association with other diabetic complications / R. M. Hudacko,

J. P. Sciancalepore, B. S. Fyfe // Am. J. Clin. Pathol. – 2009. – Vol. 132, № 4. – P. 494 – 499.

158. Hurst R. E. Bladder defense molecules, urothelial differentiation, urinary biomarkers, and interstitial cystitis / R. E Hurst, R. M Moldwin, S. G. Mulholland // Urology. – 2007. – № 69. – P. 17 – 23.

159. Ibrahim S. H. Evaluation of time-dependent structural changes of rat urinary bladder in experimentally-induced diabetes mellitus light and electron microscopic study / S. H. Ibrahim // Egypt. J. Urol. – 2007. – № 30. – P. 367 – 382.

160. Impact of diabetes mellitus on bladder uroepithelial cells / A. T. Hanna-Mitchell, G. W. Ruiz, F. Danechgari [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2013. – Vol. 304, № 2. – P. 84 – 93.

161. Impaired M3 and enhanced M2 muscarinic receptor contractile function in a streptozotocin model of mouse diabetic urinary bladder / K. J. Pak, R. S. Ostrom, M. Matsui [et al.] // Naunyn Schmidebergs Arch Pharmacol. – 2010. – Vol. 381, № 5. – P. 441 – 454.

162. Increased urothelial paracellular transport promotes cystitis / N. Montalbetti, A. C. Rued, D. R. Clayton [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Physiol. – 2015. – Vol. 309, № 12. – F. 1070 – 1081.

163. Inhibition of the cation channel trpv4 improves bladder function in mice and rats with cyclophosphamide-induced cystitis / W. Everaerts, X. Zhen, D. Ghosh [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2010. – Vol. 107, № 44. – P. 19084 – 19089.

164. Inoue T. A vascular network closely linked to the epithelium of the urinary bladder of the rat / T. Inoue, G. Gabella // Cell Tissue Res. – 1991. – Vol. 263, № 1. – P. 137 – 143.

165. International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas / International Diabetes Federation. – Brussels, Belgium : International Diabetes Federation, 2015. 144 p.

166. Khandelwal P. Cell biology and physiology of the uroepithelium / P. Khandelwal, S. N. Abraham, G. Apodaca // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2009. – Vol. 297, № 6. – F. 1477 – 1501.
167. Khoroshchak Y. M. Cluster analysis of myelinated sciatic nerve fibres / Y. M. Khoroshchak // 2<sup>nd</sup> International Medical Congres for students and young scientists: abstract book (Chernivtsi, 8-10 April 2015). – Chernivtsi, 2015. – P. 209.
168. Kizilay G. Structural changes in tunica mucosa cells of bladder in rats with experimental diabetes mellitus / G. Kizilay, M. Uygun // Pakistan J. Biol. Sci. – 2005. – Vol. 8, № 2. – P. 181 – 185.
169. Kotyk T. Features of ultrastructural restructuring of hemocapillaries of the submandibular gland in rats in case of diabetes mellitus / T. Kotyk // J. Educ. Health Sport. – 2015. – Vol. 5, № 10. – P. 284 – 290.
170. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // Diabetologia. – 2008. – Vol. 51, № 2. – P. 216 – 226.
171. Li W. J. Diabetic cystopathy is associated with PARP/JNK/mitochondrial apoptotic pathway-mediated bladder apoptosis / W. J. Li, S. J. Oh // Neurourol. Urodyn. – 2010 – Vol. 29, № 7. – P. 1332 – 1337.
172. Liu G. Temporal diabetes- and diuresis-induced remodeling of the urinary bladder in the rat / G. Liu, F. Daneshgari // Am. J. Physiol. Regul. Integ. Comp. Physiol. – 2006. – № 291. – R. 837 – 843.
173. Llewelyn J. G. The diabetic neuropathies: types, diagnosis and management / J. G. Llewelyn // J. Neurol. Neurosurg. Psych. – 2005. – Vol. 74, № 2. – P. 15 – 19.
174. Long term evaluation of functional and morphological bladder alterations on alloxan-induced diabetes and aging. Experimental study in rats / A. A. Rodrigues, H. J. Suaid, S. J. Tucci [et al.] // Acta Cirurgica Brasileira. – 2008. – Vol. 23 (Suppl. 1). – P. 53 – 58.
175. Metabolic syndrome markers in wistar rats of different ages / A. Ghezzi, L. Cambri, J. Botezelli [et al.] // Diabetol. Metab. Syndr. – 2012. – Vol. 4, № 1. – P. 1 – 7.

176. Michel M. C. Are blood vessels a target to treat lower urinary tract dysfunction? / M. C. Michel, R. Chess-Williams, S. S. Hegde // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. – 2015. – Vol. 388, № 7. – P. 687 – 694.
177. Miodonski A. J. Microvascular architecture of the human urinary bladder wall: a corrosion casting study / A. J. Miodonski, J. A. Litwin // Anatom. Rec. – 1999. – № 254. – P. 375 – 381.
178. Morphological analysis of the acute effects of overdistension on the extracellular matrix of the rat urinary bladder wall / G. M. Souza, W. S. Costa, H. Bruschini [et al.] // Ann. Anat. – 2004. – Vol. 186, № 1. – P. 55 – 59.
179. Moussa S. A. Oxidative stress in diabetes mellitus / S. A. Moussa // Romanian J. Biophys. – 2008. – Vol. 18, № 3. – P. 225 – 236.
180. Mustafa S. Effect of diabetes on the ion pumps of the bladder / S. Mustafa // Urology. – 2013. – Vol. 81, № 1. – P. 17 – 21.
181. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 27 million participants / G. Danaei, M. M. Finucane, Y. Lu [et al.] // Lancet. – 2011. – Vol. 378, № 9785. – P. 31 – 40.
182. Neurogenic bladder in diabetes mellitus / S. Koubaa, F. Z. Ben Salah, I. Miri [et al.] // Tunis. Med. – 2009. – Vol. 87, № 4. – P. 279 – 282.
183. Nicolau J. Activity, distribution and regulation of phosphofructokinase in salivary gland of rats with streptozotocin-induced diabetes / J. Nicolau, D. N. Souza, F. N. Nogueira // Braz. Oral Res. – 2006. – Vol. 20, № 2. – P. 108 – 113.
184. Nsabimana A. M. Diabetes mellitus and responses of the urinary bladder to acetylcholine: an in vitro study / A. M Nsabimana, J-A. O. Ojewole // J. Smooth Muscle Res. – 2008. – Vol. 44, № (3&4) – P. 143 – 150.
185. Park H. Urinary uroplakin expression in cyclophosphamide-induced rat cystitis model / H. Park, Y. S. Kyung, G. Lee // Hum. Exp. Toxicol. – 2016. – Vol. 35, № 6. – P. 613 – 622.

186. Phasic activity of urinary bladder smooth muscle in the streptozotocin-induced diabetic rat: effect of potassium channel modulators / B. Vahabi, K. Lawson, N. G. McKay [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2011. – Vol. 660, № 2. – P. 431 – 437.
187. Poladia D. P. Functional, structural, and neuronal alterations in urinary bladder during diabetes: Investigations of a mouse model / D. P. Poladia, J. A. Bauer // Pharmacol. – 2005. – № 74. – P. 84 – 94.
188. Rapid differentiation of superficial urothelial cells after chitosan-induced desquamation / P. Veranic, A. Erman, M. Kerec-Kos [et al.] // Histochem Cell Biol. – 2008. – № 131. – P. 129 – 139.
189. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing / R Core Team. – Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2015.
190. Recent advances in understanding the biology of diabetes-associated bladder complications and novel therapy / N. Yoshimura, M. B. Chancellor, K-E. Andersson [et al.] // BJU Internat. – 2005. – № 95. – P. 733 – 738.
191. Recipes for creating animal models of diabetic cardiovascular disease / W. Hsueh, E. D. Abel, Jan L. Breslow [et al.] // Circul. Res. – 2007. – Vol. 100. – P. 1415 – 1427.
192. Role of ayurveda in management of diabetes mellitus / P. K. Srivastava, S. Srivastava, A. K. Singh [et al.] // Inter. Res. J. Pharm. – 2015. – Vol. 6, № 1. – P. 8 – 9.
193. Roles of polyuria and hyperglycemia in bladder dysfunction in diabetes / N. Xiao, Z. Wang, Y. Huang [et al.] // J. Urology. – 2013. – Vol. 189, № 3. – P. 1130 – 1136.
194. Ruggieri M. R. Regulation of bladder muscarinic receptor subtypes by experimental pathologies / M. R. Ruggieri, A. S. Braverman // Auton. Autacoid Pharmacol. – 2006. – Vol. 26, № 3. – P. 311 – 325
195. Schneider C. A. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis / C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri // Nature Methods. – 2012. – Vol. 9, № 7. – P. 671 – 675.

196. Sellers D. J. Muscarinic agonists and antagonists: effects on the urinary bladder / D. J. Sellers, R. Chess-Williams // Handb. Exp. Pharmacol. – 2012. – № 208. – P. 375 – 400.
197. Sexual dimorphism in rat aortic endothelial function of streptozotocin-induced diabetes: possible involvement of superoxide and nitric oxide production / X. Han, R. Zhang, L. Anderson [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2014. – Vol. 723. – P. 442 – 450.
198. Smooth muscle cell transplantation improves bladder contractile function in streptozocin-induced diabetic rats / C. Gopinath, P. Ponsaerts, E. Fransen [et al.] // Cyotherapy. – 2013. – Vol. 15, № 7. – P. 869 – 878.
199. Spector D. A. High urea and creatinine concentrations and urea transporter b in mammalian urinary tract tissues / D. A. Spector, Q. Yang, J. B. Wade // Am. J. Physiol. Renal Physiol. – 2007. – Vol. 292, № 1. – P. 467 – 474.
200. Temporal differences in bladder dysfunction caused by diabetes, diuresis, and treated diabetes in mice / F. Daneshgari, X. Huang, G. Liu [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2006. – № 290. – P 1728 – 1735.
201. The association between urodynamic findings and microvascular complications in patients with long-term type 2 diabetes but without voiding symptoms / A. Esteghamati, A. Rashidi, A. Nikfallah [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2007. – Vol. 78, № 1. – P. 42 – 50.
202. The protective effects of vitamin E on urinary bladder apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats / M. C. Ustuner, S. Kabay, H. Ozden // Urology. – 2010. – Vol. 75, № 4. – P. 902 – 906.
203. The smooth muscle of rat bladder in the early stages of streptozotocin-induced diabetes / J. Lincoln, A. J. Haven, M. Sawyer [et al.] // British J. Urol. – 1984. – Vol. 56, № 1. – P. 24 – 30.
204. Time-dependent urinary bladder remodeling in the streptozotocin-induced diabetic rat model / D. A. Pitre, T. Ma, L. J. Wallace [et al.] // Acta Diabetol. – 2002. – № 39. – P. 23 – 27.

205. Tokaruk N. S. Normal urinary bladder urothelial cells morphometric characteristics of a white rat / N. S. Tokaruk // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2013. – Т. 8, № 1 (д). – С. 133.
206. Tokaruk N. Changes in morphometric parameters and cluster structure of the bladder urothelial cells on the 28<sup>th</sup> day of experimental diabetes / N. S. Tokaruk, O. Balashchuk // Information Booklet of XIII International Congress of Medical Sciences (Sofia, 8-11 May 2014). – Sofia, 2014. – P. 31.
207. Tokaruk N. Smooth myocytes and collagenous fibers of the urinary bladder of rats in diabetes mellitus / N. Tokaruk // J. Educ. Health Sport. – 2015. – Vol. 5, № 12. – P. 11 – 22.
208. Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin / S. G. Grossi, F. B. Skrepcinski, T. DeCaro [et al.] // J. Periodontol. – 1997. – Vol. 68, № 8. – P. 713 – 719.
209. Type I diabetes in the BB rat: a polygenic disease / R. Wallis, K. Wang, L. Marandi [et al.] // Diabetes. – 2009. – Vol. 8. – P. 1201 – 1215.
210. Ultrastructural features of retinal capillary basement membrane thickening in diabetic swine / S. E. Lee, W. Ma, E. M. Rattigan [et al.] // Ultrastruct. Pathol. – 2010. – Vol. 34, № 1. – P. 35 – 41.
211. Ultra-structural morphological abnormalities of the urinary bladder in streptozotocin-induced diabetic female rats / D. E. E. Rizk, R. P. S. Tarig, M. Shafiullag, [et al.] // Int. Urogynecol. J. – 2006. – № 17. – P. 143. – 154.
212. Ultrastructural morphometry of capillary basement membrane thickness in normal and transgenic diabetic mice / E. C. Carlson, J. L. Audette, N. J. Veitenheimer [et al.] // Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell Evol. Biol. – 2003. – Vol. 271, № 2. – P. 332 – 341.
213. Urodynamic profile of diabetic patients with lower urinary tract symptoms: association of diabetig cystopathy with autonomic and peripheral neuropathy / R. Bansal, M.M. Agarwal, M. Modi [et al.] // Urology. – 2011. – Vol. 77, № 3. – P. 699 – 705.

214. Urologic complications of diabetes / J. S. Brown, H. Wessells, M. B. Chancellor [et al.] // Diabetes Care. – 2005. – Vol. 28, № 1. – P. 177 – 185.
215. Uroplakins in urothelial biology, function and disease / X. R. Wu, X. P. Kong, A. Pellicer // Kidney Int. – 2009. – № 75. – P. 1153 – 1165.
216. Urothelial progenitor cells: regional differences in the rat bladder / M. M. Nguyen, D. K. Lieu, L. A. deGraffenreid [et al.] // Cell Prolif. – 2007. – № 40. – P. 157 – 165.
217. Voiding function in obese and type 2 diabetic female rats / G. Gasbarro, D. L. Lin, D. Vurbic [et al.] // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2010. – № 298. – P. 72 – 77.
218. Vojtková J. Diabetic microangiopathy – etiopathogenesis, new possibilities in diagnostics and management / J. Vojtková, M. Čiljaková, P. Bánovčin // Microangiopathy. – InTech, 2012. – P. 37 – 66.
219. Wehner H. Morphometric investigations on intrarenal vessels of streptozotocin-diabetic rats / H. Wehner, G. Nelischer // Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol. – 1991. – Vol. 419, № 3. – 231 – 235.
220. Wild S. H. Commentary: sub-types of diabetes – what's new and what's not / S. H. Wild, C. D. Byrne // Int. J. Epidemiol. – 2013. – Vol. 42, № 6. – P. 1600–1602.
221. Wistar rats with long-term streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus replicate the most relevant clinical, biochemical, and hematologic features of human diabetes / A. Scridon, M. Perian, A. Marginean [et al.] // Rev. Română Med. Lab. – 2015. – Vol. 23, № 3. – P. 263 – 274.

## Додаток А

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**  
 Проректор з науково-педагогічної  
 роботи ВДНЗ України «Буковинський  
 державний медичний університет»  
 доцент   
 I.B. Геруш  
 2016 р.

### **АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Пропозиція до впровадження:** «Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
- 2. Установа-розробник, автор:** ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”; асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
- 3. Джерела інформації:**
  1. Токарук Н. С. Динаміка морфо функціональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т22, Ч 2. – С. 95-99.
  2. Котик Т. Л., Токарук Н. С. Дослідження гемосудин піднижньощелепної залози та сечового міхура щура з використанням оригінального морфометричного аналізу / Т. Л. Котик, Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 2. – С. 49-53.
  3. Tokaruk, N. (2015). Smooth myocytes and collagenous fibers of the urinary bladder of rats in diabetes mellitus. Journal of Education, Health and Sport formerly Journal of Health Sciences, 5(12), 2015;5(12):11-22.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини імені М.Г. Туркевича ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет».
- 5. Форма впровадження:** у навчальний процес, матеріал лекцій та практичних занять з анатомії людини.
- 6. Термін впровадження:** січень – березень 2016 р.

**Завідувач кафедри анатомії  
 людини імені М.Г. Туркевича  
 ВДНЗ України «Буковинський державний  
 медичний університет»  
 доктор медичних наук, професор**



**В.В. Кривецький**

## Додаток Б



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиції для впровадження:** "Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті".

**Установа-розробник:** ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет", кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, асистент Токарук Надія Степанівна.

**Джерело інформації:**

1. Токарук Н. С. Характеристика переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі за результатами морфометричного та кластерного аналізів / Н. С. Токарук // Світ медицини та біології. – 2015. – Т. 48, № 1. – С. 163-166.
2. Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу переходного епітелію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т.2, № 2. – С. 480- 486.
3. Котик Т. Л. Дослідження гемосудин піднижньощелепної залози та сечового міхура щура з використанням оригінального морфометричного аналізу / Т. Л. Котик, Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 2. – С. 49-53.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет".

**Термін впровадження:** листопад 2015 р. – лютий 2016 р.

**Форма впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії для студентів, а також у наукову роботу кафедри.

**Завідувач кафедри анатомії, топографічної  
анатомії та оперативної хірургії  
Вищого державного  
навчального закладу України  
"Буковинський державний  
медичний університет",  
доктор медичних наук, професор**

**О. М. Слободян**

## Додаток В

«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Вищого державного навчального закладу  
України “Буковинський державний медичний  
університет”, доцент

  
В. Геруш  
«21» березня 2016 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція до провадження:** «Морфофункциональна характеристика сечового міхура шурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
- 2. Установа-розробник, автор:** ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”; асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та томографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
- 3. Джерела інформації:**
  1. Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу перехідного епітелію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т.2, № 2. – С. 480-486.
  2. Котик Т. Л., Токарук Н. С. Дослідження гемосудин підніжньошлункової залози та сечового міхура щура з використанням оригінального морфометричного аналізу / Т. Л. Котик, Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 2. – С. 49-53.
  3. Токарук Н. С. Динаміка морфофункциональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т22, №3, Ч 2. – С. 95-99.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра гістології, цитології та ембріології Вищого державного навчального закладу України “Буковинський державний медичний університет”.
- 5. Форма впровадження:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
- 6. Термін впровадження:** листопад 2015 – лютий 2016 р.

В. о. завідувача кафедри гістології, цитології та ембріології  
ВДНЗ «Буковинський державний  
медичний університет»  
д.мед.н., доцент



Цигикало О. В.

## Додаток Д

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**



Проректор з наукової роботи  
Вищого державного навчального  
закладу України «Буковинський  
державний медичний університет»

д.мед.н., професор

О.І. Івашук

Івашук Ольга

2016 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція до впровадження: «Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
2. Установа-розробник, автор: ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет"; асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
3. Джерела інформації:
  1. Токарук Н. С. Характеристика переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі за результатами морфометричного та кластерного аналізів / Н. С. Токарук // Світ медицини та біології. – 2015. – Т. 48, № 1. – С. 163-166.
  2. Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу переходного епітелію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т.2, № 2. – С. 480-486.
  3. Токарук Н. С. Динаміка морфо функціональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукроного діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т22, Ч 2. – С. 95-99.
  4. Tokaruk N. Smooth myocytes and collagenous fibers of the urinary bladder of rats in diabetes mellitus / N. Tokaruk // J. Educ. Health Sport. –2015. –Vol. 5, № 12.– P.11-22.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра медичної біології та генетики Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет».
5. Форма впровадження: у навчальній матеріал та наукову роботу кафедри.
6. Термін впровадження: січень – лютий 2016 р.

**Відповідальний за впровадження**  
засідувач кафедри медичної біології  
та генетики Вищого державного навчального  
закладу України «Буковинський державний  
медичний університет», д.мед.н., професор

R.S. Butik

## Додаток Е



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція до впровадження:** «Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
- 2. Установа-розробник, автор:** ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”; асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та тонографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
- 3. Джерела інформації:**
  - Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу перехідного епітелію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т.2, № 2. – С. 480- 486.
  - Котик Т. Л., Токарук Н. С. Дослідження гемосудин піднижньощелепної залози та сечового міхура щура з використанням оригінального морфометричного аналізу / Т. Л. Котик, Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 2. – С. 49-53.
  - Токарук Н. С. Динаміка морфофункциональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т22, №3,Ч 2. – С. 95-99.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії Вищого державного навчального закладу України “Буковинський державний медичний університет”.
- 5. Форма впровадження:** у наукову роботу кафедри; у навчальний процес – у матеріалізованій та практичних заняттях при вивченні патології нирок та сечовивідних шляхів, а також під час вивчення патології підшлункової залози (цукровий діабет).
- 6. Термін впровадження:** листопад 2015 – лютий 2016 р.

Професор кафедри патологічної анатомії  
Вищого державного навчального закладу України  
“Буковинський державний медичний університет”.  
д. мед. н., професор

I. Ю. Олійник

## Додаток Ж

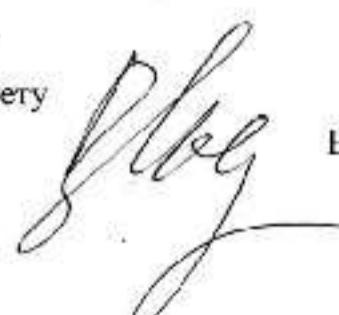


### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція до впровадження:** «Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
- 2. Установа-розробник, автор:** ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”; асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
- 3. Джерела інформації:**
  1. Токарук Н. С. Динаміка морфофункциональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т22, №3, Ч 2. – С. 95-99.
  2. Токарук Н. С. Характеристика переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі за результатами морфометричного та кластерного аналізів / Н. С. Токарук // Світ медицини та біології. – 2015. – Т. 48, № 1. – С. 163-166.
  3. Tokaruk, N. (2015). Smooth myocytes and collagenous fibers of the urinary bladder of rats in diabetes mellitus. Journal of Education, Health and Sport formerly Journal of Health Sciences, 5(12), 2015;5(12):11-22.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету.
- 5. Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри.
- 6. Термін впровадження:** грудень 2015 – березень 2016 р.

Завідувач кафедри анатомії людини  
оперативної хірургії та топографічної анатомії  
Запорізького державного медичного університету  
д.мед.н., професор

Волошин М.А.



### Додаток 3

**«Затверджую»**  
**Перший проректор ЗДМУ**  
**«Запорізького державного**  
**медичного університету»**  
**к. мед. н., доц. М.О. Авраменко**

  
“14” березня 2016 р.

#### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція до впровадження: «Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
2. Установа-розробник, автор: ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”; асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
3. Джерела інформації:
  1. Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу перехідного епітелію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т.2, № 2. – С. 480-486.
  2. Токарук Н. С. Характеристика перехідного епітелію сечового міхура щурів у нормі за результатами морфометричного та кластерного аналізів / Н. С. Токарук // Світ медицини та біології. – 2015. – Т. 48, № 1. – С. 163-166.
  3. Котик Т. Л., Токарук Н. С. Дослідження гемосудин підніжньошлепеної залози та сечового міхура щура з використанням орігінального морфометричного аналізу / Т. Л. Котик, Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 2. – С. 49-53.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету.
5. Форма впровадження: в наукову роботу кафедри.
6. Термін впровадження: жовтень 2015 – лютий 2016 р.

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології  
Запорізького державного медичного університету  
д. мед. н., професор



Сирцов В.К.

## Додаток І

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

**Перший проректор**

**ДВНЗ «Івано-Франківський**

**національний медичний університет»**

**д. біол. н., проф. Ерзенюк Г.М.**

**«25 »**

**2016 р.**



### **АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Пропозиція до впровадження:** «Морфофункциональна характеристика сечового міхура шурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
- 2. Установа розробника:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
- 3. Джерело інформації:** Tokaruk N. Smooth myocytes and collagenous fibers of the urinary bladder of rats in diabetes mellitus / N. Tokaruk // J. Educ. Health Sport. – 2005. – Vol. 5, № 12. – P. 11-22.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патоморфології та судової медицини ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет».
- 5. Форма впровадження:** в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять з патоморфології за темами: «Хвороби органів сечовидільної системи», «Ендокринна патологія», а також у наукову роботу кафедри.
- 6. Термін впровадження:** грудень 2015 р. – березень 2016 р.
- 7. Суть впровадження:** в матеріалах дослідження наведені особливості ультраструктурних змін сечового міхура, а також зміни співвідношень компонентів його стінки в залежності від тривалості експериментального цукрового діабету.

Завідувач кафедрою патоморфології та судової медицини

ДВНЗ «Івано-Франківський національний

медичний університет»

д.мед.н., професор

Михайлюк І.О.

## Додаток К

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

**Перший проректор**

**ДВНЗ «Івано-Франківський**

**національний медичний університет»**

**д. біол. н., проф. Ерстенюк Г.М.**



### **АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Пропозиція до впровадження:** «Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
- 2. Установа розробника:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
- 3. Джерело інформації:** Токарук Н. С. Динаміка морфофункциональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22, № 3, ч. 2. – С. 95-99.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патофізіології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет».
- 5. Форма впровадження:** в навчальний процес – в матеріали лекцій і практичних занять з патофізіології за темами: «Патофізіологія сечовидільної системи», «Патофізіологія ендокрипної системи», а також у наукову роботу кафедри.
- 6. Термін впровадження:** жовтень – грудень 2015 р.
- 7. Суть впровадження:** в матеріалах дослідження представлена морфофункциональна характеристика сечового міхура і порівняльний аналіз біохімічних показників крові та сечі з результатами морфологічного дослідження та кластерного аналізу перехідного епітелію на етапах розвитку стрептозотоцинового діабету у щурів. Визначені позауротеліальні фактори, які найбільше розбалансують систему клітинного складу уротелію.

Завідувач кафедрою патофізіології  
ДВНЗ «Івано-Франківський національний  
медичний університет»  
д.мед.н., професор

Заяць Л.М.

## Додаток Л

**«Затверджую»**  
**Проректор з науково-педагогічної**  
**роботи Львівського національного**  
 **медичного університету**  
**імені Данила Галицького**  
**професор М. Р. Ржегецький**

*20* 2016 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** «Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
2. **Установа-розробник, автор:** ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет"; асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу переходного спітслію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т.2, № 2. – С. 480-486.
  2. Котик Т. Л., Токарук Н. С. Дослідження гемосудин піднижньощелепної залози та сечового міхура щура з використанням оригінального морфометричного аналізу / Т. Л. Котик, Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 2. – С. 49-53.
  3. Токарук Н. С. Динаміка морфофункциональних змін сечового міхура щура за умов експериментального цукрового діабету / Н. С. Токарук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т22, №3, Ч 2. – С. 95-99.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
5. **Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри.
6. **Термін впровадження:** грудень 2015 – березень 2016 р.

Професор кафедри нормальної анатомії  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького  
д.мед.н., проф.

*Матешук,*

Матешук-Вацеба Л. Р.

## Додаток М

**«Затверджую»**  
 перший проректор з науково-педагогічної  
 роботи ДВНЗ «Тернопільського  
 державного медичного університету»  
 ім. І.Я Горбачевського МОЗ України  
 д.мед.н., професор О.Л. Ковальчук



“*12*” 03.04

2016 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція до впровадження: «Морфофункциональна характеристика сечового міхура щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті».
2. Установа-розробник, автор: ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”; асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії – Токарук Надія Степанівна.
3. Джерела інформації:
  1. Токарук Н. С. Морфологічне обґрунтування результатів кластерного аналізу переходного епітелію сечового міхура щура при цукровому діабеті / Н. С. Токарук // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т.2, № 2. – С. 480-486.
  2. Токарук Н. С. Характеристика переходного епітелію сечового міхура щурів у нормі за результатами морфометричного та кластерного аналізів / Н. С. Токарук // Світ медицини та біології . – 2015. – Т. 48, № 1. – С. 163-166.
  3. Tokaruk, N. (2015). Smooth myocytes and collagenous fibers of the urinary bladder of rats in diabetes mellitus. Journal of Education, Health and Sport formerly Journal of Health Sciences, 5(12), 2015;5(12):11-22.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедри анатомії людини ДВНЗ «Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я Горбачевського МОЗ України»
5. Форма впровадження: в наукову роботу кафедри.
6. Термін впровадження: грудень 2015 – березень 2016 р.

Завідувач кафедри анатомії людини  
 ДВНЗ «Тернопільського державного медичного  
 університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України»  
 д.мед.н., професор

I.E. Герасимюк