

Результати лікування наслідків анатомо-функціональних змін нирок і сечоводів, що виникли на тлі моделі гіперактивного сечового міхура

О. І. Яцина¹, І. М. Савицька², Ф. І. Костев³, С. В. Вернигородський⁴, О. М. Гаврилюк⁵

¹Інститут урології НАМН України, м.Київ,

²Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова НАМН України, м. Київ,

³Одеський національний медичний університет,

⁴Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова,

⁵Національний інститут раку МОЗ України, м. Київ

Results of treatment of consequences of anatomic-functional changes in kidneys and ureters, which have occurred on background of the hyperactive bladder pattern

O. I. Iatsyna¹, I. M. Savytska², F. I. Kostev³, S. V. Vernygorodskyi⁴, O. M. Havryliuk⁵

¹Institute of Urology, Kyiv,

²Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology, Kyiv,

³Odessa National Medical University,

⁴M. I. Pyrogov Vinnytsya National Medical University,

⁵National Cancer Institute, Kyiv

Реферат

Мета. Вивчення анатомо-функціональних уражень нирок та верхніх сечовивідних шляхів (СВШ) у експериментальних тварин із змодельованим гіперактивним сечовим міхуром (ГСМ) та дослідження їх перетворень внаслідок дії фармакологічних препаратів груп холінолітиків, біофлавоноїдів та селективних агоністів бета-3-адренорецепторів.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження виконані на 200 статевозрілих білих щурах-самках, яким відтворювали модель ГСМ. Після підтвердження створення моделі ГСМ тварини були розділені на чотири групи: контрольну (без лікування), 1-шу (лікування спазмексом), 2-гу (лікування кверцетином), 3-тю (лікування мірабегроном). Для підтвердження функціональних змін усім дослідним тваринам під час експерименту проводили магнітно-резонансну томографію (МРТ) з візуалізацією СВШ за модифікованими нами програмами з магнітно-резонансною урографією (МРУ) в режимі гідрографії до та після застосування діуретика. Після виведення тварин з експерименту були проведені гістологічні дослідження нирок та верхніх СВШ.

Результати. Через 14 діб після введення резерпіну відбувались переважно функціональні зміни без виражених структурних проявів. Через 30 діб зареєстровані зміни, що призводили до патологічної перебудови нирок і СВШ. Після проведеного лікування у всіх тварин спостерігали відновні процеси. Зменшувались прояви дистрофічних змін нефроцитів, покращувались обмінні процеси, зменшувалася товщина базальних мембран (БМ) проксимальних каналців нефронів, покращувалися кровопостачання органа та тонус СВШ.

Висновки. Після проведеного лікування у більшості тварин зміни, що виникли після змодельованого ГСМ, виявилися оборотними. Зменшувались прояви дистрофічних змін нефроцитів, покращувались обмінні процеси, зменшувалася товщина БМ проксимальних каналців нефронів, покращувалося кровопостачання органа.

Проведені дослідження свідчать про позитивну динаміку та можливість створення ефективних схем для подальшого вдосконалення лікування з використанням досліджених препаратів.

Ключові слова: нирки; верхні сечовивідні шляхи; гіперактивний сечовий міхур; магнітно-резонансна урографія; діурезне навантаження; базальна мембрана.

Abstract

Objective. Studying of anatomic-functional affections of kidneys and upper urinary tract (UUT) in experimental animals with simulated hyperactive bladder (HAB) and investigation of their transformation under the action of pharmaceutical preparations, belonging to cholinolytics, bioflavonoids and selective agonists of beta-3-adrenoreceptors groups.

Materials and methods. Experimental investigations were performed on 200 mature white female rats, in which the HAB model was simulated. After confirmation of creation of the HAB model the animals were divided into 4 groups: a control one (without treatment), first (treatment, using spasmex), second (treatment, using quercetinum), third (treatment, using mirabegron). While experiment performance a magnet-resonance tomography (MRT) with visualization of UUT in accordance to own modified programs was done. In all animals investigated also a magnet-resonance urography (MRU) in regime of hydrography before and after application of diuretic were done for the functional changes registration. After withdrawal of animals from experiment histological investigations of kidneys and UUT were conducted.

Results. In 14 days after injection of reserpin a predominantly functional changes without pronounced structural signs have occurred. In 30 days the changes were registered and then – pathological reconstruction of kidneys and UUT. After the treatment conducted a restoration processes were observed in all animals. The dystrophic changes in nephrocytes have reduced, the metabolic processes improved, the basal membranes thickness in the nephrons' proximal tubules reduced, the organ blood supply and the UUT tone improved.

Conclusion. After the treatment with the HAB simulation concluded in majority of animals the changes occurred have appeared reversible. The signs of dystrophic changes in nephrocytes have reduced, metabolic processes improved, the basal membranes thickness in the nephrons' proximal tubules reduced.

The investigations conducted witnesses positive dynamics and possibility of the effective schemes creation for further improvement of treatment, using the preparations investigated.

Keywords: kidneys; upper urinary ways; hyperactive bladder; magnet-resonance urography; diuretic load, basal membrane.

За даними літератури ГСМ є одним із найсуттєвіших чинників сечостатевих розладів. Поширеність патології зумовлена її поліетіологічністю, а труднощі лікування пов'язані з остаточною невизначеністю патогенезу, поліморфізмом механізмів розвитку та міждисциплінарним характером медичної допомоги, якої потребує вказаний контингент хворих [1]. Близько 17% дорослого населення шести найбільш розвинутих країн Європи мають симптоми ГСМ, частота цієї патології зростає з віком, а страждають нею більше жінки [2]. Наявність різних форм ГСМ та пацієнтів, рефрактерних до будь-якого існуючого варіанта терапії, вказують на потребу персоналізованого підходу [3]. Крім того, увагу привертають серйозні та небезпечні для життя ускладнення перебігу захворювання, які є наслідком проблем з сфінктером. Останні призводять до розвитку міхурово-сечовідного рефлюксу з ураженням верхніх СВШ, що може спричинити інвалідність. На такому тлі обґрунтованим є подальше поглиблене вивчення вказаної патології на основі теоретичних знань, здобутих шляхом експериментальних досліджень [4, 5].

Мета дослідження: вивчити анатомо-функціональні ураження нирок та верхніх СВШ у експериментальних тварин із змодельованим ГСМ та дослідити їх перетворення внаслідок дії фармакологічних препаратів груп холінолітиків, біофлавоноїдів та селективних агоністів бета-3-адренорецепторів.

Матеріали і методи дослідження

Проведені хронічні експерименти на 200 статевозрілих білих безпородних щурах-самках вагою 280 – 310 г з дотриманням вимог «Науково-практичних рекомендацій по утриманню лабораторних тварин і роботі з ними» ДФЦ МОЗ України (Протокол №8 від 22.06.2012) та стандартів Guide for the care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press, Revised, 1996) і American Heart Association's "Guidelines for the Use of Animal in Research" [6].

Проаналізовані результати лікування експериментальних тварин після моделювання ГСМ. Для цього тваринам раз на добу протягом 14 діб вводили внутрішньочеревно розчин препарату хомвіотензину, який містив 0,45 мг резерпіну.

Після відтворення моделі ГСМ тварини були розділені на чотири групи. Тваринам контрольної групи лікування не проводили. Тваринам трьох інших груп проводили лікування щодня протягом 14 і 30 діб. Тваринам 1-шої групи вводили внутрішньочеревно щодня розчин спазмексу, що містив 0,4 мг препарату. Тваринам 2-гої групи вводили щодня в стравохід через зонд суспензію кверцитину, що містила 10 мг препарату. Тваринам 3-тьої групи також щодня вводили в стравохід через зонд суспензію мірабегрону, що містила 8 мг препарату.

Усім дослідним тваринам під час експерименту проводили МРТ з візуалізацією СВШ за модифікованими нами програмами з МРУ в режимі гідрографії до та після застосування діуретика. Обстеження проводили у стані наркотичного сну, використовували магнітно-резонансний томограф Philips INTERA 1,5 T.

З метою моніторингу прижиттєвих змін СВШ проводили МРТ із застосуванням МРУ до та після діурезно-

го навантаження. На отриманих реконструкціях діагностували варіанти будови та взаємовідношення СВШ. Аналізуючи первинні тонкі зрізи Urogramm 3D SENSE, детально оцінювали дрібні рідинні структури пошарово.

Підготовка і спосіб проведення дослідження. Оскільки магнітно-резонансне зображення статичне та є сукупним результатом сканування за кілька хвилин, підготовка до обстеження була спрямована на створення оптимальних умов для отримання якісних зображень та зводилась до нівелювання рухових артефактів, адекватного наповнення сечового міхура (СМ) та надання суміжним органам найбільш вигідного діагностичного положення.

Для знерухомилення тварин під час проведення досліджень внутрішньочеревинно вводили 0,2 мл 5% розчину тіопенталу натрію та 0,4 мл 1% розчину пропофолу. Тварини в положенні лежачи на спині були зафіксовані за передні та задні кінцівки.

З експерименту тварин виводили передозуванням 10% розчину тіопенталу натрію внутрішньочеревно.

Для гістологічних досліджень висікали ділянки нирок із сечоводами. Отриманий матеріал фіксували в розчині формальдегіду з об'ємною часткою 10%, потім його ущільнювали в парафіні за загальноприйнятою схемою. Зрізи товщиною 5 – 7 мкм забарвлювали гематоксилином та еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, проводили ШИК-реакцію за Мак-Манусом і контроль з амілазою. Для морфометричних досліджень (вимірювання товщини БМ проксимальних каналців нефронів) використовували світлооптичний мікроскоп Leica DM 500 (збільшення $\times 400$) та програму аналізу зображення «Eva» (Україна). Статистичний аналіз результатів дослідження проводили з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати

На 14-ту добу експерименту проведено перше обстеження за допомогою МРТ з метою оцінки анатомічних структур та виявлення змін СМ, СВШ та нирок. Незважаючи на клінічні прояви ГСМ, анатомо-функціональні зміни були в межах норми. Нирки розташовані типово, паренхіма збережена. Зовнішній контур нирок чіткий та рівний. Верхні СВШ не розширені. Органи черевної порожнини та малого тазу в межах норми.

На МРУ до та після введення діуретика на 30-ту добу лікування кверцитином відмічали покращення анатомо-функціонального стану верхніх СВШ, помірне розширення сечоводів на всій протяжності, паренхіма нирок була збережена. Через 5 хв після введення діуретика малюнок верхніх СВШ посилювався, СМ наповнений, контури чіткі та рівні (рис. 1).

Порівняння МРТ до лікування та на 30-ту добу лікування спазмексом та мірабегроном суттєвих змін не виявило. Верхні СВШ залишалися помірно розширеними, паренхіма нирок була збережена (позитивна динаміка лікування), спостерігалась стабілізація анатомо-функціонального стану (рис. 2).

У слизовій оболонці сечоводу спостерігали підвищену порівняно з нормою гіпертрофію епітеліальної пластинки. У м'язовій оболонці кровоносні судини помірно

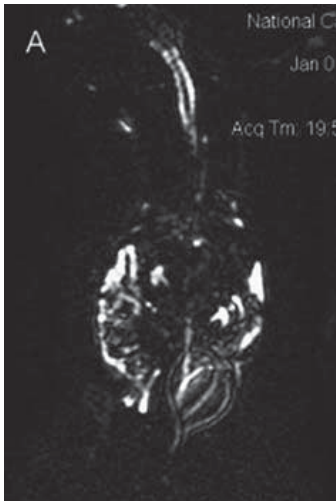


Рис. 1.

Рис. 1.
 МРУ (Urogramm 3D SENSE) на 30-ту добу відтворення моделі ГСМ.

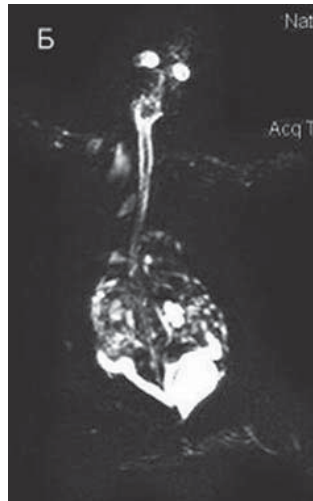


Рис. 2.

Рис. 2.
 МРУ на 30-ту добу лікування мірабегроном.

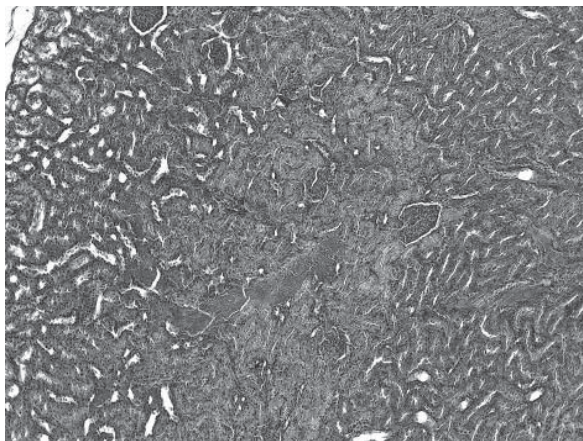


Рис. 3. Мікрофото.
 Повнокров'я кіркової речовини нирки, дистрофічні зміни каналців нефронів через 30 днів після введення резерпіну. Зб. $\times 100$.

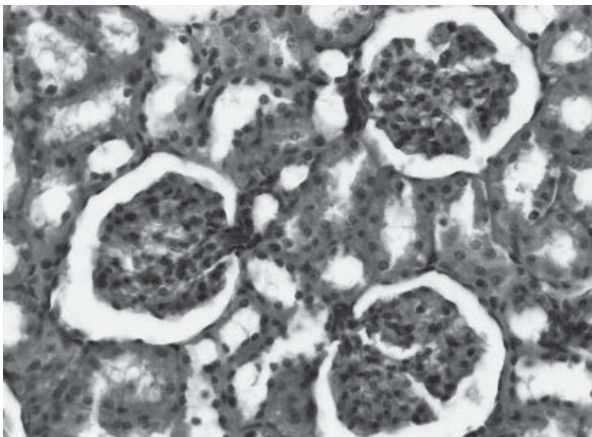


Рис. 4. Мікрофото.
 Кіркова речовина нирок через 30 днів після лікування кверцитином. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. $\times 400$.

розширені і повнокровні, скорочення міоцитів по довжині сечоводу нерівномірне, тому діаметр його просвіту по ходу варіював.

Гістологічні дослідження, проведені після відтворення моделі ГСМ, виявили структурні зміни в нирках та верхніх СВШ.

На 14-ту добу в нирках спостерігали повнокров'я, а також капілярно-венозний стаз, переважно в кірковій речовині. Слабо або помірно виражені ознаки туболопатії (дистрофічні зміни епітеліоцитів каналців нефрону) були у більшості тварин, спостерігали різке розширення збірних трубочок у мозковій речовині.

Через 30 днів у нирках відзначали повнокров'я кровонесних судин і явища стазу в кірковій речовині (у капілярах клубочків і вторинної сітки), менш виражені явища стазу помітні в мозковій речовині, повнокров'я мало переважно мозаїчний характер. У деяких тварин спостерігали атрофічні зміни клубочків і виражені ознаки туболопатії, діаметр збірних трубочок збільшений у порівнянні з нормою, деякі з них заповнені пінистими масами (рис. 3).

У сечоводах товщина епітеліальної пластинки слизової оболонки нерівномірна, власна пластинка ущільнена. За ходом сечоводів на деяких ділянках слизова оболонка формувала глибші складки, ніж у контролі, на інших – складок не було, збільшувався діаметр просвіту.

Товщина БМ, виміряна на препаратах після ШИК-реакції, у здорових тварин становила 1,13 мкм. Через 7 днів після введення резерпіну у деяких тварин на тлі виражених дистрофічних процесів вона зменшувалася і погано контурувалася, у інших – збільшувалася і дорівнювала в середньому 2,42 мкм. Майже те саме спостерігали на 14-ту добу (товщина БМ дорівнювала 2,51 мкм). На 30-ту добу товщина БМ в усіх спостереженнях була від 1,81 до 4,25 мкм.

Після того як модель була створена і підтверджена функціональними і гістологічними дослідженнями, починали лікування дослідних тварин. Для отримання більш виражених змін модель ГСМ відтворювали протягом 30 днів.

Через 14 днів після лікування спазмексом на тлі моделі ГСМ, відтвореної впродовж 30 днів, спостерігали недо-

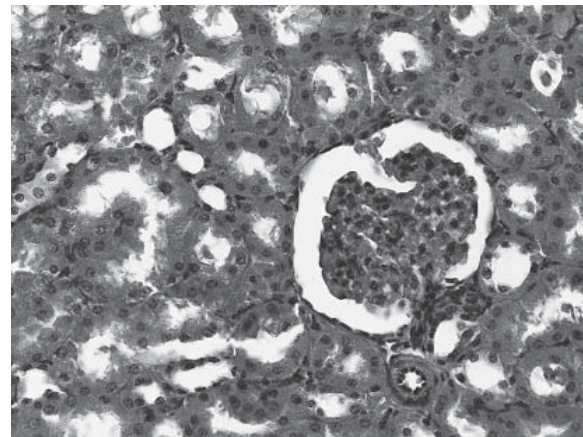


Рис. 5. Мікрофото.
 Помірне повнокров'я кіркової речовини через 30 днів після лікування мірабегроном. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. $\times 400$.

крів'я кіркової речовини, в мозковій речовині відзначали розширення каналців нефронів зі зменшенням висоти нефроцитів, а також збиральних трубочок, розташованих ближче до мозкової речовини. Товщина БМ проксимальних каналців збільшувалась до 1,76 мкм. Сечоводи розширювались, складок на деяких ділянках практично не було.

Через 30 діб нирки були без особливостей. Товщина БМ проксимальних каналців нефронів дорівнювала 1,59 мкм, проте спостерігали ділянки з більш щільною і більшої товщини БМ. Сечоводи були помірно розширені, без особливостей.

Через 14 діб після лікування кверцитином на тлі моделі ГСМ, відтвореної впродовж 30 діб, у нирках спостерігали мозаїчне повнокров'я, інколи – стаз у капілярах кіркової і мозкової речовин. На деяких ділянках зберігалися осередки помірних дистрофічних змін каналців нефронів, товщина БМ проксимальних каналців дещо збільшувалась – до 1,43 мкм. У сечоводах відзначали осередки стоншування епітеліальної пластинки слизової оболонки. Через 30 діб у нирках було помірно виражене мозаїчне повнокров'я в мозковій речовині. Кіркова речовина не мала виражених змін (рис. 4), БМ проксимальних каналців нефронів ставала тоншою у порівнянні з попереднім терміном, її товщина дорівнювала в середньому 1,26 мкм. Сечоводи не мали виражених змін.

Через 14 діб після лікування мірабегроном на тлі моделі ГСМ, відтвореної впродовж 30 діб, капсули клубочків були розширені, нефроцити зберігали ознаки помірно виражених дистрофічних змін, товщина БМ проксимальних каналців нефронів дорівнювала 1,67 мкм. У сечоводі відзначали помірну гіпертрофію епітеліальної пластинки, а також помірне ущільнення власної пластинки слизової оболонки.

Через 30 діб в нирках спостерігали помірне повнокров'я кіркової (рис. 5) і мозаїчне повнокров'я мозкової речовини.

У деяких спостереженнях відзначали повнокров'я і стаз, особливо виражені в кірковій речовині, помірно виражених дистрофічних змін зазначали переважно епітеліоцити проксимальних каналців, товщина їх БМ дорівнювала 1,48 мкм. Сечоводи були помірно розширені, слизова оболонка без особливостей, спостерігали помірну лімфоцитарну інфільтрацію адвентиційної оболонки.

Після лікування спазмексом та мірабегроном впродовж 14 діб товщина БМ проксимальних каналців залишалась збільшеною, а через 30 діб вона зменшувалась, але була більшою за норму. На 14-ту добу після лікування кверцитином товщина БМ зменшувалась більш виражено, ніж після лікування спазмексом, а на 30-ту добу майже відповідала нормі.

При подальшому лікуванні підібраними препаратами товщина БМ залишалась збільшеною порівняно з товщиною через 14 діб відтворення моделі ГСМ, проте тенденція до її зменшення зберігалась.

Висновки

1. Через 14 діб після введення резерпіну відбувались переважно функціональні зміни без виражених структурних проявів. Через 30 діб зареєстровані структурні зміни, які з часом посилювалися, викликаючи переважно каналцеву дисфункцію і структурні зміни нирок (атрофію кори, розростання сполучної тканини) і СВШ.

2. Після проведеного лікування у більшості тварин зміни, що виникли після змодельованого ГСМ, виявилися оборотними. Зменшувалися прояви дистрофічних змін нефроцитів, покращувалися обмінні процеси, зменшувалась товщина БМ проксимальних каналців, покращувалося кровопостачання органа.

3. За допомогою МРТ виявлено більш значне покращення анатомо-функціонального стану нирок та верхніх СВШ після лікування кверцитином, ніж після лікування спазмексом та мірабегроном. Лікування спазмексом та мірабегроном приводило до стабілізації анатомо-функціонального стану. Суттєвих змін між показниками у тварин, яких лікували спазмексом та мірабегроном, не спостерігали.

4. Зміна товщини БМ проксимальних каналців корелює зі зміною функціональної активності та рівнем фільтраційних процесів у нирках. Більш повноцінний стан БМ відновлювався після лікування кверцитином, менш значне відновлення було після лікування спазмексом та мірабегроном.

5. Проведені дослідження свідчать про позитивну динаміку та можливість створення ефективних схем для подальшого вдосконалення лікування з використанням досліджених препаратів.

References

1. Krivoborodov GG, Tur EI. Kompleksnyj medikamentoznyj podhod k lecheniju simptomov giperaktivnogo mochevogo puzyrja. Urologija. 2017;1:82–7. [In Russian].
2. Nejmark AI, Vojtenko AN, Bondarenko AV, Muzalevskaia NI, Kruglyhin IV. Diagnostika i lechenie sindroma giperaktivnogo mochevogo puzyrja pri povrezhdenii taza. Urologija. 2015;5:38–42. [In Russian].
3. Herrera-Imbroda B, Lara MF, Izeta A, Sieverr KD, Hart ML. Stress urinary incontinence animal models as a tool to study cell-based regenerative therapies targeting the urethral sphincter. Adv Drug Deliv Rev. 2014;23.
4. Loran OB, Sinjakova LA, Shishlo VK, Korolev PV. Reaktivnye preobrazovanija mikrososudov v uretre jeksperimental'nyh zhivotnyh pri vozdejstvii kollagenovogo gelja. Moskovskij hirurgicheskij zhurnal. 2012;2(24):33–7. [In Russian].
5. Makarov AV, Fathudinov TH, Tuhovskaja EA, Apolihina IA, Arutjunjan IV, i dr. Jeksperimental'nye modeli stessovogo nederzhanija mochi. Urologija. 2015;4:24–8. [In Russian].
6. Denisov SD, Morozkina TS. Trebovanija k nauchnomu jeksperimentu s ispol'zovaniem zhivotnyh. Zdravoohranenie. 2001;4:40–2.