

РОЛЬ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЕЙ НА ТВАРИНАХ У ВИВЧЕННІ ПАТОГЕНЕЗУ ГІПЕРАКТИВНОГО СЕЧОВОГО МІХУРА

О. І. Яцина, І. М. Савицька, Ю. О. Фурманов, Ф. І. Костєв, О. А. Гейленко,
Н. В. Дячкова, С. В. Вернигородський

Інститут урології НАМН України,
Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова НАМН України, м. Київ,
Одеський національний медичний університет МОЗ України,
Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

THE ROLE OF EXPERIMENTAL PATTERNS ON LABORATORY ANIMALS IN STUDYING OF PATHOGENESIS IN HYPERACTIVE URINARY BLADDER

O. Jatsyna, I. Savytska, Yu. Furmanov, F. Kostev, O. Geilenko,
N. Dyachkova, S. Vernygorodskyi

Institute of Urology,
Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology, Kyiv,
Odessa National Medical University,
Vinnitsya National Medical University named after M. I. Pyrogov

Реферат

Розроблена та відтворена на експериментальних тваринах модель гіперактивного сечового міхура, що може бути базовою для доклінічних досліджень ефективності лікування цього синдрому.

Ключові слова: синдром гіперактивного сечового міхура; імперативні позиви до сечовипускання; ніктурія; гіперактивність м'яза — випорожнювача сечового міхура; моделі гіперактивного сечового міхура; експеримент.

Abstract

The model of hyperactive urinary bladder, which may constitute a base for preclinical investigations concerning efficacy of the syndrome treatment, was elaborated and realized on experimental laboratory animals.

Keywords: syndrome of hyperactive urinary bladder; imperative urges for urination; nocturia; hyperactivity of the urinary bladder muscle detrusor; patterns of hyperactive urinary bladder; experiment.

За даними Міжнародного товариства з проблем нетримання сечі [1] з деякими доповненнями Міжнародного науково—дослідного консультативного товариства з проблем нетримання сечі [2], синдром гіперактивного сечового міхура (СГСМ) — це імперативні позиви до сечовипускання з мимовільним виділенням сечі або без такого, як правило, з збільшенням частоти сечовипускання протягом дня та ніктурією, за відсутності діагностованої інфекції або явних патологічних змін.

Виділяють такі компоненти СГСМ. Основний симптом — це імперативні позиви до сечовипускання, за яких у пацієнта раптово виникає непереборне бажання випорожнити сечовий міхур, що неможливо відкласти [1]. Імперативні позиви до сечовипускання не слід плутати з

сильним бажанням випорожнити сечовий міхур, це є, по суті, нормальним відчуттям, що виникає при досягненні функціонального об'єму сечового міхура. Пацієнти часто висловлюють занепокоєння з приводу "витоку" сечі при імперативних позивах до сечовипускання. Цей "страх витоку" і "страх болю" відрізняє пацієнтів, у яких виявляють імперативні позиви до сечовипускання при СГСМ та при синдромі больового сечового міхура [3]. При СГСМ імперативні позиви до сечовипускання пацієнти відчувають, як правило, в ділянці промежини, в основі статевого члена або піхви/сечівника. При синдромі больового сечового міхура характерним є біль над лобком, хоча пацієнт відчуває й деякий дискомфорт в ділянці промежини (сечівника/піхви/статево-

го члена) [4]. Збільшення частоти сечовипускання вдень — це скарга пацієнтів, які вважають, що сечовипускання відбуваються занадто часто протягом дня [1]. Це стандартизоване визначення не включає мінімальну кількість сечовипускань, оскільки в більшості спостережень немає суттєвих відмінностей щодо функціонування нормального і гіперактивного сечового міхура з точки зору об'єктивної частоти сечовипускання. У теперішній час відсутня доказова база, що допомогла б встановити поріг для визначення підвищеної частоти сечовипускання протягом дня.

СГСМ — це симптомний діагноз. На протипагу цьому, гіперактивність м'яза — випорожнювача сечового міхура (МВСМ) виявляють за даними уродинамічного спостереження,

вона характеризується мимовільним скороченням м'яза під час фази наповнення, що може бути спонтанним або спровокованим [1]. Ці терміни не можуть бути взаємозамінними, оскільки у пацієнтів при СГСМ за даними уродинамічного дослідження не виявляють гіперактивність МВСМ.

Частота виявлення СГСМ становить 12–23 % [5]. Припускають, що нетримання сечі може бути зумовлене відносною слабкістю шийки сечового міхура і зовнішнього м'яза—замикача сечівника у жінок. Також відзначають суттєве збільшення частоти виявлення СГСМ у жінок з віком: від 2% — у пацієток віком від 18 до 24 років до 19,1% — від 65 до 74 років.

СГСМ значно погіршує якість життя пацієнтів; при цьому симптом імперативних позивів до сечовипускання має найсильніший вплив. За результатами великого дослідження, проведеного в США, Великій Британії та Швеції, симптоми, пов'язані з порушенням депонування сечі, мають більший вплив, ніж інші симптоми ураження нижніх сечових шляхів [6]. Крім того, лікування СГСМ потребує значних фінансових витрат. Кошторис витрат населення залежить від точності даних про поширення СГСМ. Середньорічні витрати на одного пацієнта з СГСМ у США у 2000 р. становили 1925 доларів США, в загальнодержавному масштабі — це десятки мільярдів доларів [7]. Також слід мати на увазі непрямий вплив СГСМ, зокрема, порушення соціального або професійного функціонування пацієнта [8].

Для розуміння патофізіології СГСМ необхідне створення експериментальних моделей на тваринах, проте, з огляду на суб'єктивність симптомокомплексу, інтерпретація результатів у тварин потребує особливої уваги [9]. Оскільки імперативні позиви до сечовипускання у тварин визначити неможливо, аналізували опосередковані чинники, зокрема, зміну місця сечовипускання, виділення сечі без скорочення сечового міхура. Жодна експериментальна модель не може повною мірою відтворити суб'єктивні, об'єктивні та

супутні чинники, притаманні окремій клінічній ситуації. Моделі відтворювали на щурах з частковою обструкцією вихідного отвору сечового міхура, з спонтанною гіпертензією, гіперліпідемією, різними неврологічними ураженнями та нокаутом деяких генів [10]. Пошуки найбільш ефективних моделей тривають.

Ми провели власне дослідження, за результатами якого створена модель гіперактивного сечового міхура.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти з відтворення моделі гіперрефлекторного сечового міхура проведені на статевозрілих білих лабораторних щурах—самках, маса тіла 300 г. Тварини розподілені на дві групи. Щурам контрольної групи внутрішньоочеревинно вводили 0,3 мл стерильного ізотонічного розчину натрію хлориду протягом 14 діб.

Тваринам основної групи один раз на добу протягом 14 діб внутрішньоочеревинно вводили 0,3 мл препарату хомбіо—тензин, що містить 0,45 мг резерпіну. Таблетку розтирали в стерильних умовах та розчиняли в ізотонічному розчині натрію хлориду. Складові препарату нормалізують внутрішньосерцеву гемодинаміку, скоротливість міокарда, тонус артерій, функцію нирок, мають кардіопротекторну дію, що забезпечує кращий перебіг експерименту та знижує летальність тварин. Відтворення моделі підтвержене результатами гістологічних досліджень. Модель мало витратна при відтворенні.

Під час роботи з лабораторними тваринами дотримували вимог "Науково—практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин і роботи з ними" ДФЦ МОЗ України (протокол № 8 від 22.06.12).

Через 7, 14, 21, 28 діб тварин вводили з експерименту шляхом передозування 10% розчину тіопентал—натрію, видаляли сечовий міхур, фіксували його в 10% розчині формальдегіду протягом 24 год, зневоднювали у спиртах зростаючої кон-

центрації, просвітлювали у хлороформі та ущільнювали у парафіні. Зрізи товщиною 5 — 7 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозинном, пікрофуксином за ван—Гізон. Для оцінки функціональної активності тканин використовували метод з шифф—йодною кислотою (ШЙК) за Мак Манусом. Препарати фотографували та вивчали з застосуванням світлооптичного мікроскопа Leica ICC50 HD.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У тварин контрольної групи стан сечового міхура не змінювався протягом усього періоду експерименту, модель відтворювалась вже на 14—ту добу, хоча на початку експериментальних досліджень препарат вводили протягом 30 діб.

За даними гістологічних досліджень, епітеліальна пластинка слизової оболонки щурів представлена перехідним епітелієм, що складався з 6 — 8 рядів епітеліальних клітин, власна пластинка слизової оболонки помірно щільна. Слизова оболонка та підслизовий прошарок утворювали численні неглибокі складки помірної ширини. Зміни м'язової оболонки свідчили про її помірний тонус. Адвентиційна оболонка сформована пухкою сполучною тканиною, без особливостей.

Через 7 діб у щурів основної групи спостерігали виражені дистрофічні зміни епітеліальної пластинки, її локальну гіпертрофію, ущільнення власної пластинки слизової оболонки (рис. 1). Відзначали ущільнення строми м'язової оболонки та значне підвищення тонусу гладеньком'язових клітин.

На 14—ту добу у тварин спостерігали атрофічні зміни епітеліальної пластинки слизової оболонки, збільшувалась десквамація її клітин (рис. 2). На деяких невеликих ділянках власна пластинка слизової оболонки майже оголена, щільність кровоносних судин в ній зменшена. Слизова оболонка та підслизовий прошарок утворювали довгі вузькі складки як наслідок вираженого скорочення гладеньком'язових клітин м'язової оболонки.

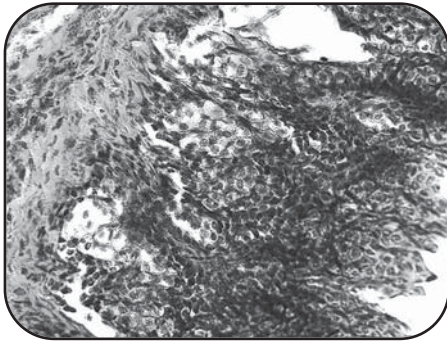


Рис. 1.
Мікрофото.
Стінка сечового міхура щура.
Гіпертрофія епітеліальної пластинки
слизової оболонки через 7 діб.
Забарвлення гематоксилином та еозином.
Зб. $\times 400$.

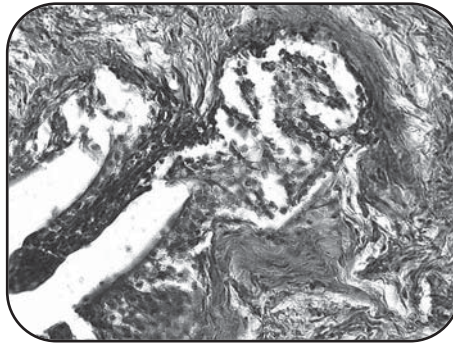


Рис. 2.
Мікрофото.
Дистрофічні зміни епітеліальної пластинки
слизової оболонки сечового міхура,
ділянка десквамації.
14 діб спостереження.
ШІК-реакція. Зб. $\times 400$.

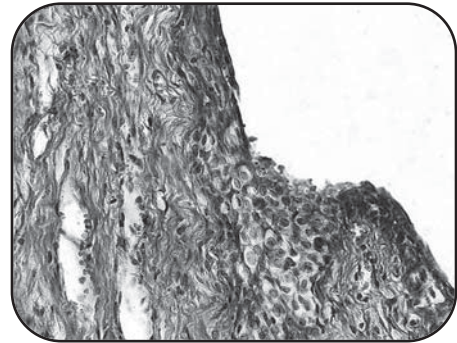


Рис. 3.
Мікрофото.
Стоншення епітеліальної пластинки
слизової оболонки сечового міхура
внаслідок інтенсивної десквамації.
28 діб спостереження.
ШІК-реакція. Зб. $\times 400$.

Через 21 добу в сечовому міхурі спостерігали дистрофічні зміни епітеліальних клітин, ущільнення власної пластинки слизової оболонки, набряк колагенових волокон. Ішемічні зміни та набряк виявляли в гладеньком'язових клітинах м'язової оболонки.

На 28—му добу відзначали дистрофічні зміни епітеліальної пластинки слизової оболонки. Збільшення десквамації епітеліоцитів на деяких ділянках зумовило значне стоншення пластинки, іноді аж до повного злущення клітин (рис. 3). Слизова оболонка та підслизовий прошарок утворювали широкі короткі складки, спостерігали ущільнення власної пластинки слизової оболонки, в ній та в підслизовому прошарку відзначали венозне повнокров'я, набряк. В м'язовій оболонці виявляли ознаки підвищення тону м'язів.

Ін'єкція щурам розчину препарату хомбіо—тензин, починаючи з 7—ї доби експерименту, зумовлювала дистрофічні зміни епітеліальної пластинки слизової оболонки. Починаючи з 14—ї доби, збільшувалась десквамація епітеліальних клітин. У ранні строки спостереження переважали ознаки гіпертрофії, в подальшому (з 14—ї доби) відзначали переважно атрофічні зміни. Власна пластинка слизової оболонки ущільнена, набрякла. Підвищення тону м'язової оболонки було стійким і зберігалось до кінця експерименту, крім того, в м'язовій оболонці спостерігали ділянки ішемічних змін.

Таким чином, надмірний тонус спричинив порушення трофіки, що найбільш виражено проявлялось патологічними змінами у слизовій та м'язовій оболонці.

ВИСНОВКИ

1. СГСМ є поширеним станом, що істотно впливає на якість життя пацієнтів. Диференційна діагностика СГСМ потребує виключення тяжких патологічних станів та інших важливих чинників, кожний варіант лікування має свої обмеження, що необхідно мати на увазі, щоб уникнути серйозних проблем.

2. Розробка та використання відповідної експериментальної моделі дозволить вирішити значущі як практичні, так і теоретичні питання.

3. Запропонована модель гіперактивного сечового міхура виявилася ефективною, відтворена в усіх тварин основної групи.

4. Модель за якісними оцінками структурних змін в подальшому може бути використана як база для доклінічних досліджень ефективності лікування пацієнтів з приводу розладів сечовипускання.

ЛІТЕРАТУРА

- Abrams P, Cardozo L, Fall M. The standardization of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardization Subcommittee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn.* 2002;21(2):167—78.
- Drake MJ. Do we need a new definition of the over active bladder syndrome? ICI—RS 2013. *Ibid.* 2014;33(5):622—4.
- Hanno P, Nordling J, Fall M. Bladder pain syndrome. *Med Clin N Am.* 2011;95(1):55—73.
- FitzGerald MP, Kenton KS, Brubaker L. Localization of the urge to void inpatients with painful bladder syndrome. *Neurourol Urodyn.* 2005;24(7):633—7.
- Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S. Population—based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptom sin five countries: results of the EPIC study. *Eur Urol.* 2006;50(6):1306—14.
- Sexton CC, Coyne KS, Kopp ZS. The overlap of storage, voiding and postmicturition symptoms and implications for treatment seeking in the USA, UK and Sweden: EpiLUTS. *Br J Urol Int.* 2009;103, suppl. 3:12—23.
- Ganz ML, Smalarz AM, Krupski TL. Economic costs of overactive bladder in the United States. *Urology.* 2010;75(3):526—32.
- Goren A, Zou KH, Gupta S. Direct and indirect cost of urge urinary incontinence with and without pharmacotherapy. *Int J Clin Pract.* 2014;68(3):336—48.
- Савчук РВ, Костев ФІ, Сейфуллина ІІІ, Шматкова НВ. Регуляція сократительной активности мочевого пузыря in vitro и in vivo. *Здоровье мужчины.* 2009;2(29):179—82.
- Person BA, Drake MJ. Animal models in overactive bladder research. *J Urol.* 2011;170(1):15—43.