

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 611.6+612.46:616.62–008.61–092.9

DOI: 10.26779/2522-1396.2017.09.68

### АНАТОМО–ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ВЕРХНІХ СЕЧОВИХ ШЛЯХІВ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА ГІПЕРАКТИВНОГО СЕЧОВОГО МІХУРА

О. І. Яцина<sup>1</sup>, І. М. Савицька<sup>2</sup>, Ф. І. Костєв<sup>3</sup>, С. В. Вернигородський<sup>4</sup>, Т. С. Головка<sup>5</sup>,  
О. М. Гаврилюк<sup>5</sup>, О. В. Ганіч<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Інститут урології НАМН України, м Київ,

<sup>2</sup>Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова НАМН України, м. Київ,

<sup>3</sup>Одеський національний медичний університет МОЗ України,

<sup>4</sup>Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова МОЗ України,

<sup>5</sup>Національний інститут раку МОЗ України, м. Київ

### ANATOMIC–FUNCTIONAL CHANGES IN UPPER URINARY WAYS IN EXPERIMENTAL ANIMALS WHILE HYPERACTIVE BLADDER

O. I. Iatsyna<sup>1</sup>, I. M. Savytska<sup>2</sup>, F. I. Kostev<sup>3</sup>, S. V. Vernygorodskiy<sup>4</sup>, T. S. Golovko<sup>5</sup>,  
O. M. Gavrylyuk<sup>5</sup>, O. V. Ganich<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Institute of Urology, Kyiv,

<sup>2</sup>Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology, Kyiv,

<sup>3</sup>Odessa National Medical University,

<sup>4</sup>Vinnitsya National Medical University named after M. I. Pyrogov,

<sup>5</sup>National Cancer Institute, Kyiv

#### Реферат

Після створення моделі гіперактивного сечового міхура (ГСМ) у білих щурів здійснювали моніторинг прижиттєвих змін сечових шляхів (СШ), для чого використовували МРТ з МР–урографією до і після діурезного навантаження. Дані гістологічних досліджень після моделювання ГСМ підтвердили результати МРТ. В ранні строки спостерігали функціональні зміни без виражених порушень структури органів, проте, через 30 днів та пізніше виникали морфологічні зміни, що зумовлювало формування уретерогідронефрозу (УГН).

**Ключові слова:** нирки; верхні сечові шляхи; гіперактивний сечовий міхур; МР–урографія; діурезне навантаження; уретерогідронефроз; експеримент.

#### Abstract

After creation of the hyperactive bladder (HAB) simulating model in white rats the monitoring of in–vivo changes of urinary ways was accomplished, using MRT with MR–urography before and after diuretic loading. The histological investigations data after the HAB simulation have confirmed the results of MRT. In early terms functional changes without significant disorders in the organs structure were observed, but in 30 days and further morphological changes have had occurred, causing formation of ureterohydronephrosis.

**Keywords:** kidneys; upper urinary ways; hyperactive bladder; MR–urography; diuretic loading; ureterohydronephrosis; experiment.

Актуальність проблеми урогенітальних захворювань і нетримання сечі (НС) у жінок закономірно збільшується у міру збільшення тривалості життя. Таку тенденцію відзначають не тільки в країнах СНД, а й у розвинених країнах Євросоюзу та США. За даними літератури, НС виявляють майже у 24% жінок віком від 30 до 60 років і більш ніж у 50% – старше 60 років [1].

Результати епідеміологічних досліджень свідчать, що частота ГСМ у дорослих становить 10 – 20%. Значущі відмінності частоти ГСМ у

загальній популяції чоловіків і жінок не виявлені [2, 3]. Відзначене переважає жінок віком до 60 років, у старшому віці частота ГСМ більша у чоловіків [4]. За даними досліджень, частота ГСМ у чоловіків і жінок віком від 20 до 29 років становила відповідно 4,3 і 6,6%, віком від 80 до 89 років – 41,5 і 32,5% [2].

З 119 хворих ГСМ виявлених у 6 чоловіків і 22 жінок віком від 18 до 39 років, у 10 чоловіків і 33 жінок віком від 40 до 59 років, 29 чоловіків і 26 жінок віком старше 59 років [4]. ГСМ діагностований у 41% пацієнтів стар-

ше 74 років [5]. Автори прогнозують, що частота ГСМ буде збільшуватися, якщо у 2000 р. в 5 країнах Європи його виявляли у 20,2 млн. хворих старше 40 років, з яких у 7 млн. – ургентне НС, до 2020 р. таких хворих буде 25,5 млн., з них 9 млн. – з ургентним НС. Відповідно збільшиться щорічні прями витрати на їх лікування з 4,2 млрд. євро – у 2000 р. до 5,2 млрд. – у 2020 р.

Масштабність проблеми спричинена анатомо–фізіологічними особливостями, що супроводжують по-

старіння населення [6]. Крім того, вона є міждисциплінарною, оскільки ускладнює перебіг різних хвороб, зокрема, в галузі урології, андрології, акушерства, гінекології, онкології, неврології, а також вроджених вад сечостатевої системи, травми органів малого таза, хребта тощо.

Ураження органів сечостатевої системи виявляють при різних нозологічних формах, однією з них є міхурово-сечовідний рефлюкс [7]. Захворювання виявляють у дорослих і дітей, причому у дітей – найчастіше. Якщо своєчасно не діагностувати і не коригувати захворювання, виникають ускладнення, зокрема, пієлонефрит, УГН, що спричиняють погіршення функції нирок та СШ [8].

З метою вивчення анатомо-функціональних змін нирок та верхніх СШ, що виникають після створення моделі ГСМ, проведені дослідження з застосуванням МР-урографії [9, 10] та гістологічних методів.

## **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Модель ГСМ відтворювали на ставевозрілих білих щурах-самках, маса тіла 250 – 280 г. Тваринам один раз на добу протягом 14, 30 і 90 днів внутрішньоочередово вводили розчин препарату Хомбіо-Тензин, що містив 0,45 мг резерпіну.

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 22.06.2012).

Всім тваринам під час експерименту проводили МРТ з візуалізацією СШ за модифікованими нами програмами з МР-урографією в режимі гідрографії до і після застосування діуретика.

Обстеження проводили в стані наркотичного сну на магніторезонансному томографі Philips INTERA 1,5 T.

З метою моніторингу прижиттєвих змін СШ використовували МРТ з МР-урографією до і після діурезного навантаження.

Контрастність зображення тканин на томограмах залежала від часу, необхідного для релаксації протонів, точніше, від двох компонентів: T2 – часу поперечної (спін-спіно-

вої) релаксації і T1 – часу поздовжньої (спін-решіткової) релаксації.

Для характеристики тканин отримували T1W-TSE, T2W, T2W-SPAIR зображення з ідентичною орієнтацією та параметрами зрізів. Для визначення функціональної здатності СШ використовували Urogramm 3D SENSE до і після діурезного навантаження. Дослідження проводили в Coil SENSE-BODY, зрізи орієнтували коронально під невеликим кутом, приблизно паралельно хребту.

T1W-TSE зображення в корональній площині отримували з застосуванням послідовності Turbo SE (швидке спінове ехо) з такими параметрами: TR 490 мс, TE 10 мс, матриця 416 × 512, FoV 478 мм, товщина зрізу 2 мм, через 0,5 мм.

T2W-TSE зображення в корональній площині отримували з застосуванням послідовності Turbo SE (швидке спінове ехо) з такими параметрами: TR 3539 мс, TE 80 мс, матриця 407 × 528, FoV 468 мм, товщина зрізу 2 мм, через 1 мм.

T2W-SPAIR зображення в корональній площині отримували з такими параметрами: TR 4000 мс, TE 80 мс, матриця 407 × 528, FoV 468 мм, товщина зрізу 3 мм, через 1 мм.

Urogramm 3D SENSE зображення в корональній площині отримували з такими параметрами: TR 1216 мс, TE 650 мс, матриця 230 × 576, FoV 293 мм.

Дослідження проводили за методикою товстого блоку (сумарне двовимірне зображення від блоку тканин заданої товщини) або тонких зрізів (товщина зрізу від 0,5 мм); при MIP, Urogramm 3D SENSE-реконструкції отримували тривимірне зображення рідиновмісних структур. Зображення формували як з одного блоку збору даних, так і шляхом «склеювання» кількох блоків для аналізу більш широких зон інтересу.

На отриманих зображеннях діагностували варіанти будови та взаємодіювання СШ. При аналізі первинних тонких зрізів Urogramm 3D SENSE зображення детально пошарово оцінювали дрібні рідинні структури.

**Підготовка і проведення дослідження.** Оскільки МР-зображення статичне і є сукупним результатом сканування за кілька хвилин, підготовка до МР-дослідження була спрямова-

на на створення оптимальних умов для отримання якісних зображень, нівелювання рухових артефактів, адекватне заповнення сечового міхура (СМ), надання суміжним органам найбільш вигідного діагностичного положення.

Білих щурів під час дослідження знерухомлювали шляхом внутрішньоочередово введення 0,2 мл 5% розчину тіопентал-натрію та 0,4 мл 1% розчину пропофолу. Тварин в положенні лежачи на спині фіксували за передні й задні кінцівки.

Адекватного заповнення СМ і СШ досягали за допомогою фізіологічного водного навантаження.

Спосіб проведення МРТ – МР-урографії в режимі гідрографії з діурезним навантаженням включав отримання серії зрізів та післяпроцесингову обробку, побудову тривимірних зображень. Топограму виконували в трьох ортогональних проекціях.

Для діагностики стану СШ від чашково-мискового комплексу (ЧМК) до СМ проводили першу безконтрастну МР-урографію у фронтальній проекції (T2 FSE зображення, FOV 36 – 48 см, TE від 1100 мс і більше, TR від 20 000 мс, тривалість сканування від 20 с до 1 хв). Наступним етапом внутрішньовенно вводили діуретик з розрахунку 0,8 мг/кг маси тіла.

Після оцінки стану СМ та СШ проводили сканування в корональній площині з T2 FSE, потім в T1 режимі з ідентичною орієнтацією зрізів, як за Ax T2 – зваженого зображення (33). Застосовували послідовність T1-FSE. Далі проводили другу МР-урографію, ідентичну першій щодо орієнтації зрізів та параметрів сканування, через 5 – 10 хв після введення діуретика. Використання діуретиків дозволяло оцінити та порівняти МР-урографічні зображення до і після навантаження.

Таким чином оцінювали анатомічні і функціональні зміни СШ.

Тривалість дослідження разом з укладкою не більше 15 – 20 хв.

Отримані зображення аналізували на робочих станціях Philips з використанням програмного забезпечення Extended MR Workspace 2.6.3.3.

Для гістологічного дослідження тварин виводили з експерименту через 14, 30, 90 діб шляхом пере-

дозування 5% розчину тіопентал-натрію, видаляли нирки з сечоводами, СМ та сечівник, матеріал фіксували в 10% розчині формальдегіду, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, просвітлювали у хлороформі, ущільнювали у парафіні. Зрізи товщиною 5 – 7 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, 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**

Для об'єктивної оцінки змін СШ ми ретельно вивчили нормальну анатомію СМ та СШ.

На МР-зображеннях нормальний СМ мав каплеподібну форму в усіх площинах. Розміри, форма, товщина стінок та положення СМ залежали від ступеня його наповнення. Незмінний СМ симетричний, розташований по серединній лінії в порожнині малого таза. Розрізняли верхівку, тіло, дно та шийку – нижче розташовану вузьку частину СМ, що переходила в сечівник. Шийка СМ краще візуалізувалась на сагітальних зрізах, була конічної форми. СМ – порожнистий м'язовий орган, фізіологічний об'єм 0,65 – 0,75 мл.

На МР-томограмах, незважаючи на наявність кількох анатомічних оболонок, стінка СМ мала вигляд лінійної структури зниженої інтенсивності, аналогічної інтенсивності сигналу від скелетних м'язів. На Т1–33 відзначено проміжну інтенсивність МР-сигналу між низькоінтенсивною сечею і високоінтенсивною перивезикальною клітковиною.

На Т2–33 стінка СМ візуалізувалась чітко внаслідок диференціювання від високоінтенсивної сечі і помірно інтенсивної перивезикальної клітковини.

Сечовід – парний орган, забезпечує пасаж сечі з нирок у СМ. Це м'язова трубка довжиною 8 – 10 мм, зовнішній діаметр до 455 мкм. На МР-сканах нерозширений сечовід мав вигляд гіпоінтенсивної вертикально орієнтованої смужки, що погано диференціювалась на тлі кишеч-

нику. Після виповнення сечею сечовід мав вигляд трубчастої структури з чітким зовнішнім контуром, на Т2–33 – гіперінтенсивного, на Т1–33 – гіпоінтенсивного сигналу.

Розрізняли три частини сечоводу, між якими не було чітких анатомічних меж. Загальність м'язової оболонки СМ, інтрамуральних відділів сечоводу, сечівника дозволяла розглядати ці частини СШ як єдину анатомо-функціональну структуру.

У план дослідження входило обстеження усіх тварин з використанням МР-урографії в режимі гідрографії з діурезним навантаженням за власною методикою. Проводили статичну МР-урографію до і після введення діуретика. Аналізували уротеліальний тракт, оцінювали анатомічні зміни нирок, СШ, суміжних органів черевної порожнини, малого таза як єдиної анатомо-фізіологічної ділянки. Після аналізу та порівняння даних статичної та діурезної МР-урографії оцінювали положення, форму, розміри, стан верхніх СШ та СМ. Слід відзначити, що до і після проведення фармакологічного тесту вдалося діагностувати не тільки анатомічні, а й функціональні зміни нирок і СШ. Для порівняння результатів МРТ тварини з діагностованим УГН розподілені за ступенем розширення СШ.

Варіабельність розширення отриманих променевих ознак анатомо-функціональних змін верхніх СШ дозволила виділити 3 ступеня їх розширення, за яким у подальшому проводили порівняльний аналіз змін СШ.

Розширення I ступеня – порушення уродинаміки верхніх СШ від стази сечі в сечоводах до помірного розширення з формуванням пілоектазії за збереженої або незначно порушеної функції нирки;

II ступеня – виражені анатомо-функціональні порушення верхніх СШ, значне пригнічення функції нирки внаслідок вираженого розширення сечоводу та ЧМК;

III ступеня – втрачена функція нирки.

На 14-ту добу експерименту проведено МРТ з метою оцінки анатомічних структур та детекції змін СМ, верхніх СШ та нирок. Незважаючи на наявність клінічних проявів ГСМ, анатомо-функціональні зміни бу-

ли в межах норми. Нирки розташовані типово, паренхіма збережена. Зовнішній контур нирок чіткий, рівний. Верхні СШ не розширені. Органи черевної порожнини та малого таза без патологічних змін.

На зображеннях в режимі МР-урографії чітко візуалізувався СМ каплеподібної форми, невеликих розмірів, з чіткими контурами. Оскільки верхні СШ не розширені, на МР-урограмі не візуалізувались. СМ виповнений максимально, контури чіткі та рівні, об'єм 0,7 мл. Верхні СШ не розширені, на МР-урограмі не візуалізуються.

На 30-ту та 90-ту добу експерименту виявлені анатомо-функціональні зміни верхніх СШ різної вираженості.

Характерними ознаками змін верхніх СШ I ступеня було помірне розширення сечоводу та ЧМК нирок, що проявлялось стазом сечі. Сечоводи не розширені. СМ виповнений, об'єм до 0,85 мл.

Після внутрішньовенного введення діуретика сеча вільно проходила через верхні СШ, спостерігали значне розширення правого сечоводу в пілоуретеральному сегменті та розширення миски правої нирки при збереженні її функції, паренхіма правої нирки нерівномірно стоншена, збережена. Помірне розширення миски лівої нирки, сечовід не розширений, паренхіма нирки збережена. СШ виповнений, об'єм до 1,1 мл.

Для розширення СШ II ступеня характерне розширення сечоводу, паренхіма нирки збережена або нерівномірно стоншена, також спостерігали розширення миски. Після введення діуретика у тварин при УГН другого ступеня виявлені два варіанти змін СШ: у 3 (37,5%) – суттєві зміни не виявлені, скоротливі властивості верхніх СШ відсутні, функція нирки потенційно знижена, сечоводи розширені в пілоуретеральних сегментах, розширені миски обох нирок, СМ максимально виповнений, контури чіткі, рівні; у 5 (62,5%) – посилення діурезу, супрастенотичне розширення сечоводу, ознаки його скорочення, що свідчило про стійку обструкцію при збереженні резервної функції нирки.

У (9,1%) тварин при розширенні СШ III ступеня відзначали стій-

ке розширення ЧМК нирки, сечовід розширений по всій довжині, звивистий. Значно стоншена паренхіма нирки візуалізувалась фрагментарно або у вигляді полікістозного утворення. Введення діуретика виявилось неефективним, скоротливі властивості верхніх СШ відсутні. Після введення діуретика на МР-сканах виявлено атонію розширеного афункційного сечоводу, паренхіма нирки стоншена, сечоводи супрастенотично розширені, звивисті, розширення миски лівої нирки, постгідронефротична трансформація правої нирки.

Застосування МР-урографії в режимі гідрографії та з діурезним навантаженням за власною методикою дозволило вивчити особливості анатомічних змін та функціональної спроможності нирок і верхніх СШ та розподілити тварин залежно від ступеня УГН.

Наведені зміни підтверджені результатами гістологічних досліджень. Так, на 14-ту добу після відтворення моделі ГСМ в нирках не було виражених патологічних змін, проте, спостерігали повнокров'я судин, переважно капілярів, як у кірковій, так і мозковій речовині, де воно було мозаїчним.

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

повнокровні, скорочення міоцитів по довжині сечоводу нерівномірне.

У СМ епітеліальна пластинка слизової оболонки нерівномірної товщини, на деяких ділянках стоншена, міоцити без виражених змін. Серозна оболонка без особливостей.

Через 30 діб в нирках відзначали повнокров'я судин, стаз в кірковій речовині (в капілярах клубочків та вторинної сітки), менш виражений стаз – у мозковій речовині, повнокров'я там мозаїчне. У деяких тварин відзначали збільшення діаметра збірних трубочок, вони заповнені пінистими масами; у деяких – атрофічні зміни клубочків та ознаки тубулопатії.

В сечоводі шар епітелію слизової оболонки нерівномірної товщини, власна пластика ущільнена. Тонус м'язової оболонки помірно знижений, слизова оболонка утворювала більш глибокі складки, ніж у контролі, діаметр просвіту збільшений.

У СМ епітеліальна пластинка слизової оболонки нерівномірної товщини, спостерігали підвищену десквамацію епітеліоцитів та ущільнення власної пластинки слизової оболонки.

Через 90 діб в паренхімі нирок, переважно в кірковій речовині, дистрофічні зміни у деяких тварин прогресували аж до паранекрозу. У деяких тварин спостерігали ущільнення та розростання строми з кірко-

вої речовини в мозкову, в цій ущільненій стромі містилися макрофаги з фрагментами фагоцитованих еритроцитів, що свідчило не тільки про тривалий стаз та локальний фагоцитоз загинувших еритроцитів, а й атрофію та заміщення паренхіматозних елементів сполучною тканиною.

У сечоводі на деяких ділянках епітеліальної пластинки ознаки гіпертрофії, на деяких – підвищена десквамація, з майже повним оголенням власної пластинки слизової оболонки; порівняно з попередніми строками, збільшений діаметр просвіту.

У СМ відзначали атрофічні зміни слизової оболонки, атонію м'язової оболонки. Серозна оболонка збережена.

## ВИСНОВКИ

1. В ранні строки (14 діб) після введення резерпін у спостерігали переважно функціональні зміни без виражених структурних порушень. Через 30 діб, крім функціональних змін, відзначали морфологічні, що зумовлювало помірно виражені прояви УГН. Ці ознаки з часом прогресували, що зумовлювало виражені структурні зміни нирок і СШ.

2. За результатами проведених функціональних і морфологічних досліджень не тільки підтверджене створення стійкої адекватної моделі ГСМ, а й вивчено динаміку патологічних змін, характерних для УГН.

## ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kurenkov AV, Komyakov BK, Sharvadze KO, Shpilnyaya ES. Rezultaty issledovaniya kachestva zhizni u patsientov pozhilogo vozrasta s nederzhaniem mochi. Meditsinskiy vestnik Bashkortostana. 2015;10(3):53–6. [In Russian].
2. Trapeznikova MF, Dutov VV, Byichkova NV, Golovchenko KV. Epidemiologiya i lechenie giperaktivnogo mochevogo puzyrya. Almanah klinicheskoy meditsini. 2005; Vip. 8–1:307–10. [In Russian].
3. Kuzmin IV. Epidemiologicheskie aspekty giperaktivnogo mochevogo puzyrya i urgentnogo nederzhaniya mochi. Urologicheskie vedomosti. 2015;5(3): 30–4. [In Russian].
4. Mazo EB, Krivoborodov GG. Giperaktivniy sechoviy mihur. Consilium medicum. 2003;5(7):405–11. [In Russian].
5. Wagg AS, Cardozo L, Chapple C, Deidder D, Kelleher C, Kirby M, et al. Overactive bladder syndrome in older people. BJU Int. 2007;99(3):502–9.
6. Gadzhieva ZK, Gazimiev MA, Kasyan GR. Nederzhanie mochi u zhenshin. Urologiya. 2016;2:20–36. [In Russian].
7. Osipov IB, Lebedev DA, Zadyikyan RS. Sluchay uspehnoy botulinoterapii giperaktivnogo mochevogo puzyrya. Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova. 2016;175(1):136. [In Russian].
8. Grigorev NA, Zaytsev AV, Harchilava RR. Ostryiy pielonefrit. Urologiya. 2016;3:4–10. [In Russian].
9. Sposib diagnostiki anatomo-funktsionalnogo stanu nirok ta sechovidnih shlyahiv: pat Ukraini N90003. 2014; Traven 12. [In Ukrainian].
10. Gavrilyuk OM, Golovko TS, Vitruk YuV, Voylenko OA, Yatsina OI. Otsinka efektyvnosti magnitno-rezonansnoyi urografiyi z diuretychnim navantazhennyam v diagnostitsi ureterogidronefrozu. Klinicheskaya onkologiya. 2013; Spets. vip. 1:41–2. [In Ukrainian].