

УДК 616.62-002-018-092.9

Ю.Н. Дехтярь, Б.А. Насибуллин*, Ф.И. Костев*Одесский национальный медицинский университет***УкрНИИ медреабилитации и курортологии, г. Одесса***РОЛЬ НАРУШЕНИЙ АДАПТАЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НИЖНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ**

В эксперименте на 72 белых беспородных крысах-самцах проведено комплексное изучение состояния стенки мочевого пузыря при длительном (60 суток) эмоционально-иммобилизационном стрессе. Выявлены существенные структурно-функциональные изменения в виде её разрыхления, снижения числа клеток местной иммунной защиты, повышения проницаемости сосудистых стенок, снижения активности NOS. В мышечной оболочке мочевого пузыря выявлены дистрофические изменения и изменения тонуса сосудов. Выявленные изменения стенки мочевого пузыря, возможно, уменьшают эффективность защитных механизмов, в том числе и за счёт возникающей гипоксии. Введение подопытным крысам препарата Армадин способствовало улучшению исследуемых показателей, что рассматривалось как свидетельство сохранения барьерных функций.

Ключевые слова: стресс, мочевой пузырь, препарат Армадин.

Развитие воспаления нижних мочевых путей обусловлено не только попаданием инфекции в мочевой пузырь, но и состоянием его стенки [1]. Установлено, что клетки мукозного слоя мочевого пузыря у млекопитающих обладают механизмами распознавания бактериальных компонентов и имеют сложно организованную систему защиты от уропатогенных бактерий [2, 3]. Важную роль в антибактериальной защите мочевого пузыря играет слой полисахаридов, создающий барьер на пути микробов; иммуноглобулины и протеогликаны этого слоя также обеспечивают антибактериальную защиту мочевого пузыря [4]. Фактором, обуславливающим декомпенсацию защитных механизмов мочевого пузыря, считается нарушение уродинамики [5].

Типовые патологические процессы, в частности стресс, сопровождаются изменениями в основных системах гомеостаза – иммунной, нейроэндокринной, ПОЛ/АОС и др. [6–8]. Изменения в эндокринной системе при стрессе в первую очередь касаются активности надпочечников, гормоны которых участвуют в регуляции пролиферативной и дифференцировочной активности эпителиев. В иммунной системе стресс влияет на функциональную активность фагоцитов и лимфоцитов. Изменения в этих

системах гомеостаза могут влиять на состояние механизмов защиты слизистой мочевых путей и тем самым создавать условия для развития патологического процесса.

Повышенные психоэмоциональные нагрузки являются стрессирующим моментом, поэтому изучение их роли в патогенезе поражения нижних мочевых путей будет способствовать пониманию механизмов развития психосоматических болезней в соответствующих группах населения.

Целью работы было выявление структурно-функциональных изменений в мочевыводящей системе крыс при длительном экспериментальном стрессе и оценка эффективности коррекции стресс-обусловленных изменений мочевых путей препаратом Армадин (этилметилгидроксипиридина сукцинат).

Материал и методы. Исследованы 72 белые беспородные крысы-самцы возрастом 11–12 месяцев и массой 180–200 г. Животные были ранжированы в четыре группы: 1-ю (контрольную) составили 10 крыс, которые не подвергались никаким воздействиям и содержались в стандартных условиях вивария; 2-ю и 3-ю – по 20 в каждой, составили животные, которые подвергались длительному эмоционально-иммобилизационному стрессу. Для этого крыс на протяжении 14 (2-я группа) и 60 (3-я группа) су-

© Ю.Н. Дехтярь, Б.А. Насибуллин, Ф.И. Костев, 2011

ток ежедневно в утреннее время (9.00:13.00) помещали в клетки-пеналы (размер 15,0×5,0×4,0 см). Клетки-пеналы собирали в блоки из 7–9 клеток так, чтобы крысы ощущали присутствие соседей. Животным 4-й группы (22 крысы) на фоне хронического эмоционально-иммобилизационного стресса в период 30–60 суток эксперимента внутримышечно ежедневно вводили препарат Армадин в дозе 100 мг/кг. По окончании опыта крыс декапитировали под лёгким эфирным наркозом. Затем извлекали мочевой пузырь. Материал фиксировали 4% -ным параформальдегидом с последующей заливкой в целлоидин. Из полученных блоков изготавливали гистологические срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином. На части срезов осуществляли гистохимическую реакцию на кислые гликозаминогликаны по Сиддху [9]. Для определения активности NO-синтазы (NOS) использовали гистохимическую реакцию выявления в фиксированной ткани мочевого пузыря солокализованного фермента NADPH-диафоразы [10].

Полученные препараты исследовали макроскопически и при помощи светового микроскопа марки «Primo star» (Цейс). О развитии стресс-обусловленных изменений судили по наличию показателей этого состояния: изменению массы гипофиза, надпочечников, тимуса, щитовидной железы, селезёнки; динамике в периферической крови общего числа лейкоцитов, палочко- и сегментарно-ядерных нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов. При изучении мазков-отпечатков слизистой мочевого пузыря определяли показатель зрелости его эпителия, для чего подсчитывали долю клеток разной зрелости среди 150 клеток отпечатка. Каждая из трёх категорий клеток получала свой коэффициент: околобазальные клетки – коэффициент 0, промежуточные – 0,5, поверхностные – 1,0. Значение зрелости 50 баллов и ниже свидетельствует об атрофии эпителия и изменении скорости его пролиферации. При бактериологическом исследовании мочи устанавливали вид микробного возбудителя и микробное число. Данные о степени бактериурии получали при посеве мочи и подсчёте количества бактерий в 1 мл. Состояние гликозаминогликанов оценивали по изменению цвета химической реакции на срезе. В мазках крови, полученных в процессе забора материала, определяли содержание суммарных катехоламинов по методике М. Ю. Коломойцевой.

Результаты и их обсуждение. Наблюдение за крысами, подвергшимися длительному эмоционально-иммобилизационному стрессу, показало, что поведение, внешний вид и физиологические функции животных резко изменились. К моменту окончания опыта крысы были вялыми, малоподвижными, шерсть неухоженная, загрязнена фекалиями, глаза мутноватые. Крысы не осуществляли груминг, мочеиспускание частое и в небольших объёмах. Экспериментальные животные не набирали массу. К моменту окончания эксперимента масса интактных крыс составляла ($202,0 \pm 47,0$) г, подопытных – ($183,0 \pm 15,0$) г ($p < 0,01$).

Эмоционально-иммобилизационный стресс вызывал клинические проявления перенапряжения у животных: экзофтальм и носовое кровотечение различной интенсивности и длительности. Применение армадина уменьшало частоту клинических проявлений перенапряжения на 60-е сутки опыта (20 % подопытных животных против 60 % среди животных 3-й группы).

При макроскопическом исследовании мочевого пузыря интактных крыс отличий от описаний, приведённых в руководствах, не выявлено [11]. Средний объём мочевого пузыря составил ($0,6 \pm 0,1$) мл. Мышечная оболочка мочевого пузыря имела трёхслойную организацию и была образована двумя продольными слоями поперечно-полосатой мышцы и находящимся между ними круговым слоем гладких мышечных волокон. При микроскопическом исследовании установлено, что пучки миоцитов плотно упакованы, поперечная исчерченность миоцитов чёткая, ядра их небольшие, плотные. Прослойки между пучками тонкие, представлены нежными волокнами фиброзной ткани.

При макроскопии мочевых пузырей подопытных крыс отличий от интактных животных не выявлено. Средний объём мочевого пузыря на 14-е сутки опыта достоверно не изменился. На 60-е сутки микроскопически определяются дистрофические изменения миоцитов, локальные очаги с явлениями набухания, очаговое побледнение окраски волокон. Наряду с этим, отмечается гипертрофия отдельных волокон. Изменение мышечных волокон приводило к развитию слабовыраженного фиброза. Средний объём мочевого пузыря у крыс на 60-е сутки эмоционально-иммобилизационного стресса составил ($0,2 \pm 0,1$) мл. Кроме того, выявлены очаги деструкции, отёчное разрыхление или грубая деформа-

ция части мышечных волокон. Плотность распределения мышечных пучков несколько снижена, миоциты набухшие, поперечная исчерченность местами смазана. Ядра миоцитов несколько увеличены, овальной формы. Кровонаполнение сосудов неравномерное, наряду со спазмированными сосудами определяются и полнокровные. Выявленные нарушения строения мышечной оболочки мочевого пузыря могут являться морфологической основой для развития парафунции детрузора (гиперактивности).

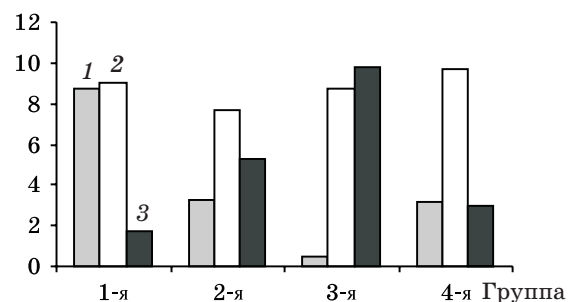
В препаратах мочевого пузыря у животных 4-й группы определяется меньшая выраженность дистрофических изменений мышечной оболочки. Сохранялась очаговая потеря поперечной исчерченности миоцитов. Наблюдалось появление тяжелей нежноволнокистой фиброзной ткани, рядом с которыми имела место гипертрофия отдельных мышечных волокон, что можно рассматривать как компенсаторный процесс.

В слизистой оболочке мочевого пузыря подопытных крыс подслизистая пластинка местами набухшая, ядра фибробластов несколько увеличены, с чётким гранулярно-волокистым рисунком хроматина. Толщина эпителия неравномерная. Наряду с участками, где хорошо различимы базальный слой с равномерным распределением клеток с плотными небольшими ядрами и поверхностный слой, содержащий умеренное количество клеток с более крупными и светлыми ядрами, определялись участки иной структуры эпителия. На этих участках в базальном слое клетки с тёмным ядром разрежены, а поверхностные клетки, содержащие более светлое ядро, не упорядочены и формируют нагромождение. Встречались также участки, на которых базальный слой – обычного вида, поверхностный – утончен и содержит 2–3 слоя клеток со светлым округлым ядром и отёчной цитоплазмой. На поверхности эпителия плотная слизь, однако на участках его истончения она могла отсутствовать. Гистохимические исследования выявили большое содержание гликозаминогликанов в волокнах мышечной оболочки, очевидно, это те из миоцитов, в которых определялась смазанная исчерченность. Содержание гликозаминогликанов в слизи на поверхности визуально такое же, как и у интактных животных, а в эпителиоцитах – неравномерное. В этом же сроке эмоционально-иммобилизационного стресса (60-е сутки) в подслизистой определялись единичные кровоизлияния.

В последние годы в медицинской литературе всё чаще появляются работы по изучению роли оксида азота (NO), который рассматривают как ауто- и (или) паракринный биологический регулятор физиологических процессов широкого спектра.

При нарушенных барьерных свойствах уротелия оксид азота может вызывать сенсорные нарушения мочеиспускания. В последние годы выявлен NO-зависимый антибактериальный эффект эпителия мочевого пузыря. На срезах мочевого пузыря оценивали активность NO-синтазы. Полученные данные относительно NOS в стенке мочевого пузыря свидетельствуют о высокой активности этого фермента в мукозном эпителии мочевого пузыря у 63 % животных в основном 2-й и 4-й групп. Увеличение активности NO-синтазы свидетельствует о более интенсивной выработке оксида азота, что можно рассматривать как приспособительную реакцию, патогенетическое значение которой состоит в улучшении оксигенации тканей за счёт вазодилатации в ишемизированных тканях. Определение активности NO-синтазы в стенке мочевого пузыря у животных 3-й группы (60 суток эмоционально-иммобилизационного стресса) показало, что активность фермента угнеталась почти в два раза по сравнению с таковой у интактных животных.

Сравнительная микроскопия мазков-отпечатков слизистой мочевого пузыря интактных и подопытных крыс выявила сходство клеточного состава мазков, основные различия были в доле участия разных клеток в мазках (рисунок).



Динамика содержания эпителиальных клеток в мазках-отпечатках слизистой мочевого пузыря крыс в контроле (1-я группа) в зависимости от уровня стрессовой нагрузки (2-я и 3-я группы) и в группе животных, получавших армадин (4-я группа): 1 – поверхностный уротелий; 2 – промежуточный; 3 – базальный

У здоровых животных в отпечатках основными клеточными элементами являются лимфоциты, нейтрофилы и уротелио-

циты промежуточного поверхностного слоя. Можно полагать, что наличие лимфоидных элементов нейтрофилов на поверхности слизистой обеспечивает уничтожение бактериальных элементов, адгезирующих к ней. Ещё одна особенность слизистого эпителия состояла в том, что часть клеток в нём имела вид «баллонов»: округлое крупное тело с выраженной гидропией и небольшое пикнотичное ядро, смещённое от центра, то есть в этих клетках выражены признаки дегенерации, что позволяет считать слизивание результатом естественной замены клеток, а не следствием нарушений межклеточных связей, возможно также, что слизивание способствует удалению адгезированных бактерий.

Длительное пребывание животных в условиях хронического стресса изменяло соотношение клеток разного вида в мазке. Резко увеличивалось, по сравнению с интактными животными, количество эритроцитов. Поскольку значительная часть их была не выщелоченной, можно полагать, что имели место явления диapedеза, а это, в свою очередь, свидетельствует об изменении проницаемости сосудистой стенки у крыс в условиях стресса. Одновременно существенно уменьшается число лимфоцитов в отпечатке, а нейтрофилы вообще не определяются. Выявленное изменение состава и количества клеток иммунного ответа в отпечатке позволяет полагать, что хронический стресс сопровождается ослаблением механизмов местной защиты слизистой мочевого пузыря от проникновения инфекционных агентов.

Что касается состава и долевого соотношения клеток уротелия в отпечатке, то следует отметить, что с увеличением длительности пребывания животных в условиях хронического стресса в мазках-отпечатках имеет место увеличение доли клеток базального слоя уротелия и очень существенное снижение доли клеток его поверхностного слоя. Среди последних не определялись клетки «баллонного» вида. Доля промежуточных клеток в отпечатках практически не меняется. При этом ошибка средних значений содержания поверхностных и промежуточных клеток уротелия в отпечатках от стрессированных животных была значительно меньше, чем у интактных, индекс зрелости эпителия в мазках-отпечатках слизистой оболочки мочевого пузыря снижался с 75 баллов у интактных крыс до 50 баллов в мазках-отпечатках животных 2-й группы, и до 35 баллов снижалось «зна-

чение зрелости» у крыс 3-й группы. Выявленные изменения позволяют предполагать угнетение процессов пролиферации уротелиоцитов у стрессированных животных. Совокупность всех выявленных изменений, очевидно, делает слизистую мочевого пузыря более рыхлой, чем обычно, и уменьшает эффективность защитных механизмов слизистой мочевого пузыря, что нашло подтверждение при бактериологическом исследовании мочи – у пяти животных 3-й группы выявлена средняя или высокая степень бактериурии.

Анализ состава бактериальной флоры выявил массивный прирост *Escherichia coli* и грамотрицательной аэробной палочки *Acinetobacter sp.* Оба вида бактерий являются патогенными для млекопитающих [12, 13].

Описанные изменения стенки мочевого пузыря происходили на фоне изменений содержания суммарных катехоламинов в эритроцитах. Если у интактных животных содержание суммарных катехоламинов в эритроцитах составляло 1,38–1,67 усл. ед. опт. пл., то у крыс, длительное время находившихся в условиях стресса, содержание повышалось до $(1,8 \pm 2,1)$ усл. ед. опт. пл. Результаты исследования позволяют полагать, что в механизме возникновения тканевой гипоксии в стенке мочевого пузыря, возможно, определённую роль играют катехоламины, поскольку уровень катехоламинов может способствовать её возникновению в результате несостоятельности между сниженным кровоснабжением органа и повышенной потребностью в кислороде. В дальнейшем высокое содержание медиаторов может способствовать потере специфической чувствительности рецепторов и ослаблению способности ткани мочевого пузыря реагировать на гормоны.

Выводы

1. При морфологическом исследовании стенки мочевого пузыря крыс, подвергшихся длительному эмоционально-иммобилизационному стрессу, выявлены существенные структурные нарушения.

2. Изменения в тканях мочевого пузыря позволяют полагать, что длительный эмоционально-иммобилизационный стресс влияет на пролиферативную и дифференцировочную активность уротелия, уменьшает сцепленность его клеток, угнетает интенсивность синтеза глюкозаминогликанов; повышает проницаемость сосудистых сте-

нок, змінює інтенсивність місцевих захисних функцій імунних кліток, знижує активність NO-синтази, викликає дистрофічні зміни м'язової оболонки мочевого міхура. Сукупність всіх цих змін, можливо, зменшує ефективність захисних механізмів слизової мочевого міхура, в перших, її антиадгезивну здатність, в других, антибактеріальну активність, в третіх, її проникність. А зміни детрузора можуть бути морфологічною основою для роз-

виття парафункції (гіперактивності) мочевого міхура.

3. Застосування етилметилгідроксипіридину сукцинату препарату Армадин покращує морфологічні характеристики тканин мочевих шляхів, сприяє стимуляції проліферативних процесів уротелі, підвищенню активності NO-синтази в стінці мочевого міхура, гіпертрофії окремих м'язових волокон детрузора і тим самим збереженню ефективності бар'єрної функції мочевого міхура.

Список литературы

1. Возианов А. Ф. Воспалительные заболевания мочевых органов / А. Ф. Возианов, Е. И. Карпенко, В. Д. Бейло. – К., 1987. – С. 15–23.
2. Bladder instillation and intraperitoneal injection of Escherichia coli lipopolysaccharide up-regulate cytokines and i NOS in rat urinary bladder / L. E. Ollzon, M. A. Wheeler, W. S. Sessa, R. M. Weis // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1998. – Vol. 284. – P. 1203–1208.
3. Adherence of gram-negative uropathogenesis to human uroepithelial cells / A. W. Bruce, R. C. Chan, D. Pinkerton [et al.] // J. Urologie. – 1983. – Vol. 21, № 8. – P. 293–298.
4. Лоран О. Б. Современные аспекты диагностики и лечения хронического цистита у женщин / О. Б. Лоран // Урология и нефрология. – 1997. – № 4. – С. 7–14.
5. Стресобмежуючі ефекти фізичних чинників / К. Д. Бабов, О. С. Павлова, А. А. Крокос, И. К. Бабова // Медичні перспективи. – 2001. – Т. VI, № 2. – С. 4–9.
6. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М. Г. Пшенникова // Патологическая физиология и эксперим. терапия. – 2001. – № 4. – С. 28–40.
7. Ноздрачев А. Т. Анатомия крысы / А. Т. Ноздрачев. – СПб.: Лань, 2001. – С. 137–158.
8. Кузьмина В. Е. Функциональные состояния мужских гонад и развитие стресс-реакции / В. Е. Кузьмина // Вестник СамГУ. – Естеств.-научн. серия. – 2007. – Т. 8, № 58. – С. 129–137.
9. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М.: Мир, 1965. – 774 с.
10. Коржевский Д. Э. Определение интенсивности НАДФН-диафоразы в головном мозге крысы после фиксации разной длительности / Д. Э. Коржевский // Морфология. – 1996. – Т. 109, № 3. – С. 76–77.
11. Исследование NO-синтазной активности и обнаружение NO-зависимого антибактериального эффекта в первичной культуре клеток эпителия мочевого пузыря лягушки / Е. М. Фок, В. Т. Бахтева, Е. А. Лаврова [и др.] // Цитология. – 2008. – Т. 50 (10). – С. 893–898.
12. Джавад-заде М. Д. Нейрогенные дисфункции мочевого пузыря / М. Д. Джавад-заде, А. Д. Державин. – М.: Медицина, 1989. – 384 с.
13. Gospodarek E. Presence of various Acinetobacter species in urinary tract infections / E. Gospodarek, E. Sieradzka, R. Bugalski // Med. Dosw. Mikrobiol. – 1991. – Vol. 43. – P. 111–118.

Ю.М. Дехтяр, Б.А. Насибуллин, Ф.І. Костев

РОЛЬ ПОРУШЕНЬ АДАПТАЦІЇ В ПАТОГЕНЕЗІ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ НИЖНІХ СЕЧОВИХ ШЛЯХІВ

В експерименті на 72 білих безпородних щурах-самцях виконано комплексне дослідження стану стінки сечового міхура при тривалому (60 діб) емоційно-імобілізаційному стресі. Визначені суттєві структурно-функціональні зміни слизової у вигляді її розпорошення, зниження кількості клітин місцевого імунного захисту, підвищення проникності судинних стінок, зменшення NOS. У м'язовій оболонці сечового міхура визначені дистрофічні зміни та зміни тонусу судин. Встановлені зміни стінки сечового міхура, можливо, зменшують ефективність його захисних механізмів, у тому числі і за рахунок гіпоксії, яка виникає. Введення піддослідним щурам препарату Армадин сприяло поліпшенню досліджених показників, що розглядалося як свідчення збереження бар'єрних функцій.

Ключові слова: стрес, сечовий міхур, препарат Армадин.

Yu.N. Dekhtyar, B.A. Nasibullin, F.I. Kostev

ROLE OF VIOLATION ADAPTATION IN PATHOGENESIS OF THE INFLAMMATORY DISEASES OF LOWER URINAR BRADDER

Authors in experiment on 72 white-not purebred male rats have lead complex studying a condition of a wall of a bladder at long (60 day) immobilized-emotional stress. Essential structurally functional variations in the form of it opening decrease in number of cells of local immune protection, increase of permeability vascular sides, and decrease in activity NOS are revealed. In a muscular envelope of a bladder dystrophic variations and variations of a tone of vessels are revealed. The revealed variations of a wall of a bladder probably reduce efficiency of protective mechanisms, including due to occurrence hypoxia. Introduction to experimental rats of preparation Armadin assisted improvement of investigated parameters that was considered by authors as the certificate of conservation of barrier functions.

Key words: *stress, bladder, preparation Armadin.*

Поступила 18.05.11