

일시적 방광 과신장에 의한 토끼 방광의 조직학적 변화

하호성, 정호중, 김기찬, 강경문

고신대학교 의과대학 재활의학교실

The Histologic Changes after Transient Overdistension in the Rabbit Bladder

Ho Sung Ha, M.D., Ho Joong Jeong, M.D., Ghi Chan Kim, M.D. and Kyung Moon Kang, M.D.

Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background : Morphological changes of bladder wall and innervated nerve after prolonged overdistension on bladder wall have been shown by previous studies. Since there are few studies about transient overdistension, these studies were focused to investigate morphologic changes after transient overdistension

Methods : 18 male New Zealand White rabbit bladder were distended for 15 minutes with catheter. After transient overdistension histopathologic studies (H-E stain, S-100 protein stain) were performed in 3 rabbits of the study group at controls, immediate, 1, 3, 7, 14 day.

Results : H-E stain; mucosal necrosis and vacuolization in the mucosa were seen at immediate, mostly increased after 3 day, decreased after 7 day and disappeared after 14 day. Edema was seen at immediate in the submucosa and muscle layer, mostly increased after 1 day, decreased after 3 days and after 7 days, fibrosis was seen in the submucosa and muscle layer. Hemorrhage was in submucosa after 1 day and disappeared after 3 day.

S-100 protein; Expression of S-100 protein was decreased than those of the control group after 1,3 day, recovered after 7 day and almost similar after 14 day.

Conclusion : Transient overdistension causes damage to mucosa, submucosa, muscle layer and innervated nerve. Bladder wall however is, almost completely healed within 7 day and innervated nerve healed within 14 day.

Key words : Transient overdistension, Histologic change, S-100 protein

I. 서론

Helstein¹⁾이 1966년 방광압의 치료에 hydrostatic pressor technique을 처음 이용한 이후, 1984년 Iwatsubo 등²⁾은 척수손상 환자에게 과신장 요법을 시술한 후 양

호한 결과를 보고 하였다. 방광 과신장요법은 배뇨근 섬유화로 인한 배뇨근 활동 감소 등의 부작용이 발생할 수도 있으나 방광암이나 절박뇨, 불안전 방광, 방광염 등의 증상 완화나 치료에 이용되어 왔다.^{3,6)} 또한 일부 척수 손상 환자의 신경인성 방광의 관리에 있어서 경구 약물 투여나 방광 내 약물 주입치료에 잘 반응하지 않는 경우에는 방광 용적 감소 및 순응도가 심하게 감소된 소견이 보이게 되는데, 이럴 경우 방광 과팽창 요법을 시행 하면 단기간에 방광의 순응도 및 용적을 증가 시킨다.⁶⁾

교신저자 : 정 호 중

주소: 602-702, 부산광역시 서구 암남동 34번지
고신대학교 의과대학재활의학교실
TEL. 051-990-6156 FAX. 051-241-2019
E-mail: hjeong@kosinmed.or.kr

풍선 카테타나 방광내 식염수 주입, 요도부 결찰등을 통한 방광 과신장 이후 조직학적 변화 및 연결 신경에 대한 연구들이 적지 않으나 지금까지 발표된 동물실험들은 대부분 수시간에 걸쳐 방광을 과신장 시켜 배뇨근 및 그의 연결신경 손상을 확인 하였다. 지금까지 연구결과를 살펴보면 방광의 점진적인 과신장시 방광의 점막층 및 점막하층의 손상에 대해서는 대부분 일치된 견해를 보이거나 근육층의 손상 여부 및 신경의 손상에 대해서도 손상 유무나 회복기간에 대해서 연구 논문에 따라 다른 결과를 보여주고 있다.⁷⁻¹⁰⁾

본 연구에서는 정상토끼에서 수 시간에 걸친 과신장이 아니라 만성 척수 손상환자에서 흔히 동반되는 contracted bladder의 치료 방법 중에 하나인 일시적 방광 과신장을 유발한 후 방광의 점막층, 점막하층 근육층의 조직변화를 H-E염색으로 관찰하고 칼슘 결합단백의 일종으로 Schwann cell 핵에 반응하는 S-100 단백질 면역조직화 염색을 통해 신경의 조직변화를 관찰하고자 하였다.

II. 대상 및 방법

1. 실험 동물

6개월 된 New Zealand white계 한국산 토끼 수컷(체중 3kg) 18마리를 대상으로 하였다. 실험 기간 동안에는 특별한 조건 없이 사육 상자 1개당 1마리씩 사육 하였다.

2. 실험 방법

마취는 Ketamine(0.025cc/kg)을 근육 주사 한 뒤 에테르 흡입을 통해서 시행하였다. 이후 5F 소아용 feeding tube를 요도로 삽입 후 50cc주사기를 이용하여 초당 1cc씩 천천히 방광에 생리 식염수를 주입하였다. 생리식염수 주입 중 요도와 카테타를 통해 생리 식염수가 새기 시작하면 주입을 멈추고 방광에 들어간 생리식염수 용량을 토끼방광의 최대용량으로 간주 하였다(평균 용량 27.5cc). 이후 측정된 토끼 방광 최대 용량의 30%에 해당되는 생리식염수를 다시 주입한 뒤 15분간 유지하여 방광을 과신장 시켰다.

3. 조직 검사 및 면역 조직화학염색 검사

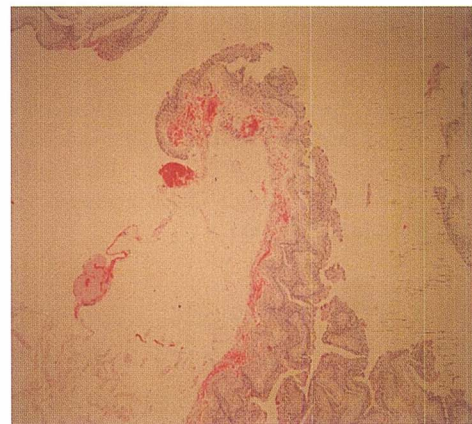
과신장 이후 방광의 점액층, 점액하층 근육층의 조직 변화 및 연결신경의 변화를 알아보기 위해 방광 과신장 이전 대조군 3마리와 방광 과신장 이후 0, 1, 3, 7, 14일째 되는 날에 각각 실험군 3마리를 희생시켜 방광벽을 절제 하였다. 절취된 조직은 포르말린 고정 후 파라핀에 포매 하여 4 μ m두께의 절편을 만들어 hematoxyline eosin과 S-100 단백질에 대한 면역조직화학염색으로 염색 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

III. 결 과

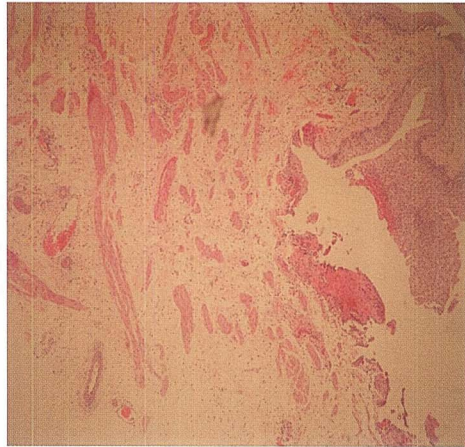
18 마리 중 마취도중 사망한 1마리를 제외하고는 방광 조직 절취 전까지 건강하였고, 방광벽 파열은 1마리에서 보였다. 사망하거나 파열된 방광은 조직 및 연결신경 관찰에서 제외시켰다.

(1) 광학 현미경 소견

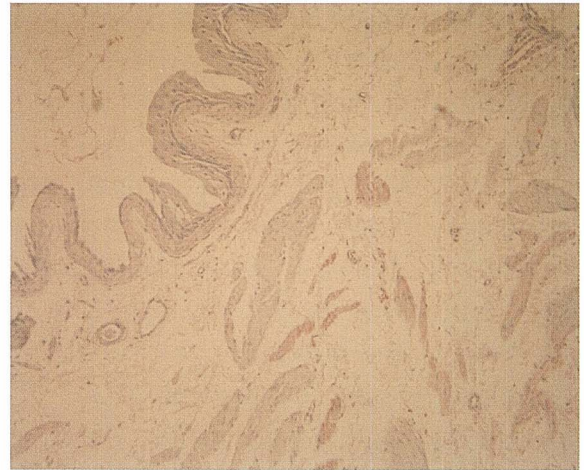
실험 직후 점막층에서는 약간의 괴사와 공포가 보이고, 점막하층에서는 부종 및 출혈 소견이 보이며 염증세포가 관찰 되었고 근육층에서는 약간의 부종 소견이 관찰되었다(Fig. 1.)



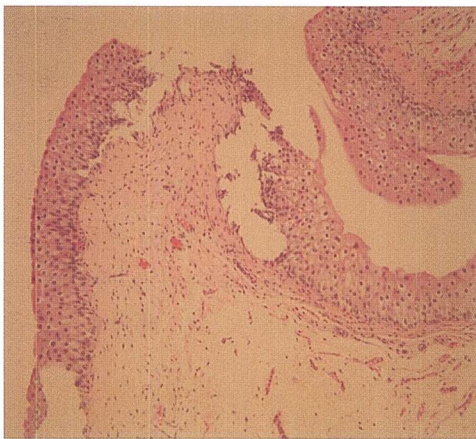
A



B



A

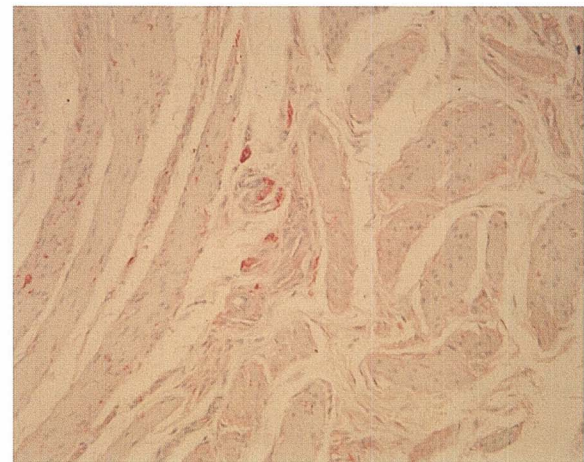


C

Fig. 1. Histological changes at the microscopical level. A (at immediate); Hemorrhage and edema in the submucosa and muscle layer(H-E, $\times 100$). B (after 1day); Epithelial disruption(H-E, $\times 200$). C (after 7day); Unmarkable finding except mild fibrosis(H-E, $\times 40$).

실험 1일후에 점막층에서는 괴사 및 공포가 증가하였다. 점막하층에서도 부종 및 출혈 소견이 보이며 염증세포의 침착이 증가하였고, 근육층에서도 부종 소견이 증가하고 염증세포가 관찰되었다(Fig. 2).

실험 3일후에는 점막층에서는 괴사 및 공포 형성이 더 증가하였다. 점막하층에서는 부종 및 염증 세포의 침윤이 감소되고 출혈소견은 관찰되지 않았다. 근육층에서도 부종 및 염증세포가 감소되었다.



B

Fig. 2. Expression of S-100 Protein. Immunoactivity of S-100 protein was decreased than those of the control group after 1 day(A, S-100 protein, $\times 40$), recovered after 7 day compared with control group(B, S-100 protein, $\times 40$).

실험 7일후에는 점액층에서 괴사 및 공포 형성이 약간만 관찰되며 점막하층 및 근육층에서는 부종이나 출혈 소견은 관찰되지 않고 섬유화가 보이기 시작하였다(Fig. 3). 실험 14일후에는 점막하층과 근육층의 섬유화 외에는 별다른 특이소견이 관찰되지 않았다.

(2) S-100단백염색 결과

대조군 : 점액 하층에서는 혈관주위에서 양성 반응을 보였고 근육층에서는 방광 수축근 사이의 신경 다발에서 양성 반응을 보였다.

실험군: 실험 1, 3일 이후는 대조군에 비해 감소되는 양

상을 보였고(Fig.4.), 실험 7일 이후는 다시 회복되는 양상을 보였으며(Fig.5.), 실험 14일 이후는 대조군과 거의 같은 소견이 관찰되었다.

IV. 고 찰

만성 척수 손상 환자의 신경인성 방광의 관리에 있어서 일부 환자들은 경구 약물 투여나 방광 내 약물 주입치료에 잘 반응 하지 않고 방광 용적 감소, 순응도 감소 및 방광 압력 증가등이 심하게 나타나며 요로 역류나 요실금 등이 나타나기도 한다. 이럴 경우 방광 과신장 요법을 시행하면 단기간에 방광의 순응도 및 용적의 증가에 도움이 될 수 있다.^{1,11)}

방광의 일시적인 과신장을 이용한 치료방법은 비록 방광의 과대 팽창으로 인하여 배뇨 반사가 나타나는 시간이 연장이 되거나 배뇨근의 불가역적 손상의 가능성에 대한 보고나 연구도 있지만,¹²⁻¹⁴⁾ 신경인성 방광이외에도 방광암이나 절박뇨, 불안전 방광, 방광염등의 증상완화 요법으로 사용되어 졌고 그에 대한 효과도 보고되어 왔다.^{3-6,15)} 또한 방광 과신장 요법에 대해 사람이나 동물을 대상으로 한 연구도 많이 시행되어졌다. Helmstein¹⁾은 악성 방광 종양환자를 대상으로 도뇨관을 삽입하여 생리 식염수를 넣거나 고무풍선을 방광내로 삽입하여 방광 내 압을 확장기 혈압수준까지 높인 후 6시간정도 유지하는 방법을 이용하였고, Dunn등¹⁶⁾은 방광염에 의한 불안정 방광 환자에게 카테터를 이용하여 방광내 생리 식염수를 삽입한 뒤 수축기 혈압까지 올려 120분간 유지하는 방법을 이용하였다.

방광 과신장 이후 조직학적 변화 및 연결신경에 대한 연구들도 많이 되어 왔는데 지금까지 동물실험들은 대부분 수시간에 걸쳐 방광을 과신장 시켜 배뇨근 및 그의 연결신경 손상을 유무를 확인하는 것으로 방광의 점막층 및 점막하층의 손상에 대해서는 대부분 일치된 견해를 보이나 근육층의 손상 여부 및 신경의 손상에 대해서는 손상 유무나 회복기간에 대해서 다른 결과를 보여주고 있다.^{7-10,17)}

방광 과신장 이후의 점막층(urothelium)은 손상 후 회복이 빠른 조직으로, 과팽창후 점막층의 손상기전은 주로 기계적 손상과 허혈성 손상에 의한 것으로 추정한

다.¹⁸⁾ 이전에 시행되었던 대부분의 동물 실험에서 7일 이내에 회복되는 경향을 보였는데 이는 점액층의 빠른 재생에 중요한 역할을 하는 모세 혈관의 손상이 크지 않았던 것으로 생각 할 수 있다.^{9,10)} 본 연구에서도 일시적인 과신장 이후 7일째 방광 점막층은 거의 회복되는 양상이 관찰되었다.

과신장 이후 방광 근육의 변화에는 연구자에 따라 차이가 있다. Gosling등¹⁰⁾에 의하면 토끼의 방광 과신장 이후 점액층, 점막하층은 손상이 7일 안에 회복되었고 근육층, 세포결합부위 연결신경은 변화소견이 보이지 않았다. 반면에 Mayo등¹⁹⁾과 Lloyd-Davies등²⁰⁾이 사람과 토끼를 대상으로 한 실험에서는 세포사이 콜라겐과 근육에 변화가 있다고 보고 하였다. 본 실험에서는 과신장후 근육층에서 초기에는 부종 및 출혈소견이 보이다가 7일 이후는 섬유화가 나타났다. 위와 같이 대부분 점액층에서는 손상후 회복되는 변화가 일어나는 것과는 달리 근육층에서 변화가 실험에 따라 차이점이 발생하는 것은 방광의 신장강도나 신장 시간의 차이에 의한 것이라 추측된다.

여러 연구에 의하면 신경은 과신장에 민감하게 손상 받는다.^{8,21-23)} 하지만 연구에 따라 손상 유무나 회복시기의 차이가 있는데 Gosling등¹⁰⁾이 토끼를 대상으로 한 과신장요법 후 신경손상은 일어나지 않았고, Lasanen등⁹⁾이 쥐를 대상한 과신장요법 후 신경이 손상되었다가 14일이 지나 가역적으로 회복되는 것을 관찰하였다고 한다. 본 연구에서도 S-100단백 염색반응이 과신장 1일후와 3일후에는 감소되었다가 7일후에는 회복되는 양상을 보였고, 14일후는 정상 대조군과 거의 같은 소견을 보이는 것으로 보아 위 실험과 비슷한 결과를 보였다. 방광 과신장 이후 연결신경의 손상은 통증이 있는 방광질환에 일시적인 통증감소 효과나 방광 과신장 요법이후 지속되는 배뇨의 문제를 설명해줄 수 있는 중요한 원인으로 생각된다.

본 연구에서 일시적인 방광 과신장은 방광의 점막층, 점막하층, 근육층 및 연결 신경까지 손상을 야기하였으나 점막층, 점막하층, 근육층을 포함하는 방광벽은 7일 이후, 연결 신경은 14일 이후 거의 회복되는 양상을 확인할 수 있었다.

지금까지 발표되었던 대부분의 연구들과 본 연구 결과가 신경손상 후 회복기간과 손상 후 회복부위의 차이가

보이는 것은 이전 실험들은 주로 3시간정도 지연된 과신장을 시킨데 반해 본 실험에서는 15분가량 일시적으로 과신장을 시킨점과 과신장시 강도의 차이에 의한 것으로 생각된다. 하지만 본 실험에서 과신장 이후 방광 근육층까지 손상을 입은 것으로 보아 실제로 팽창 시간보다는 팽창 강도가 더 큰 영향을 미친 것으로 생각된다.

본 연구에서 제한점은 압력과 시간 변수를 고려하지 않아 과신장이후 방광 손상이 일어나게 한 주원인을 정확하게 알기 힘들었고, 실험 후 14일 이후에 근육층과 점막하층의 섬유화의 지속여부 같은 변화 소견을 관찰하지 못한 아쉬움이 있었다. 그리고 신경 변화에 있어 전자 현미경 단계에서 세포접합 부위등을 관찰하였다면 좀더 의미있는 결과를 낼 수 있었을 것이다. 앞으로 이에 대한 보완 연구가 이루어져야 될 것으로 생각한다.

V. 결 론

6개월 된 체중 3kg New Zealand white계 한국산 토끼 수컷 18마리를 대상으로 하여 요도를 통해 catheter를 삽입한 이후 15분간 방광 과신장을 시킨 후 각각 3마리 토끼의 방광 조직을 손상 직후, 1일후, 3일후, 7일후, 14일후 절취하여 H-E염색과 면역 조직화 염색인 (S-100 단백)을 통해 관찰한 결과 일시적인 방광 과신장은 방광의 점막층 및 연결 신경뿐 아니라 방광 근육층 까지 손상을 야기하였으나 방광벽은 7일 이후, 연결 신경은 14일 이후 거의 회복되는 양상을 확인할 수 있었다. 이 연구 결과로 볼 때 일시적인 방광 과신장 요법은 방광이나 연결신경에 심각한 손상을 야기하지 않는 비교적 안전한 방법이라 생각되며 향후 보다 장기적인 연구가 필요하리라 생각된다.

참고문헌

- Helmstein K: Treatment of bladder carcinoma by a hydrostatic pressure technique. *Br J Urol* 44: 434-450, 1972
- Iwatsubo E, Komine S, Yamashita H, Imamura A: Overdistension therapy of the bladder in paraplegia patients using self-catheterization: a preliminary study. *Paraplegia* 22: 210-215, 1984
- Dunn M, Smith JC, Ardran GM: Prolonged bladder distension as a treatment of urgency and urge incontinence of urine. *Br J Urol* 46: 645-652, 1974
- Dunn M, Ramsden PD, Roberts JBM, Smith JC, Smith PJB: Interstitial cystitis, treated by prolonged bladder distension. *Br J Urol* 49: 641-645, 1977
- Helmstein K: Hydrostatic pressure therapy-a new approach to the treatment of carcinoma of the bladder. *Opuscula Medica* 11: 328-333, 1966
- Jørgensen L, Mortensen SO, Colstrup H, Andersen JT: Bladder distension in management of detrusor instability. *Scand J Urol Nephrol* 19: 101-104, 1985
- Elbadawi A, Meyer S, Malkowicz SB, Wein AJ, Levin RM, Atta MA: Effects of short-term partial bladder outlet obstruction on the rabbit detrusor: an ultrastructural study. *Neurourol Urodyn* 8: 89-116, 1989
- Lasanen LT, Tammela TLJ, Kallioinen M, Waris T: Effect of acute distension on cholinergic innervation of the rat urinary bladder. *Urol Res* 20: 59-62, 1992
- Lasanen LT, Tammela TLJ, Liesi P, Waris T, Polak JM: The effect of acute distension of vasoactive intestinal polypeptide (VIP), neuropeptide Y(NPY) and substance P(SP) immunoreactive nerves in the female rat urinary bladder. *Urol Res* 20: 259-265, 1992
- Gosling JA, Dixon JS, Dunn M: The structure of the rabbit urinary bladder after experimental distension. *Invest Urol* 14: 386-389, 1977
- 신지철, 박창일, 김용욱, 박사윤, 나동욱, 김정은: 척수 손상 환자의 신경인성 방광에서 방광 신장 치료법. *대한재활의학회지* 27: 344-348, 2003
- 나은우, 황경상, 박준성: 척수손상환자에서 방광의 과대 팽창으로 인한 문제점에 대한 고찰. *대한재활의학회지* 17: 86-94, 1993
- Karane RJ, Siroky MB: Clinical neuro-urology, 2nded, Little, Brown & Co, Boston, 1991, 309-328
- O'Flynn JD: Neurogenic bladder in spinal cord injury. *Urol Clin North Am* 1: 155, 1974
- Mikael Leppilahti, Jorma Hirvonen, Teuvo L. J. Tammela: Influence of Transient Overdistension on Bladder Wall Morphology and Enzyme Histochemistry. *Scand J Urol Nephrol* 31: 517-522, 1997
- Dunn M, Ramsden PD, Roberts JBM, Smith JC, Smith PJB: Interstitial cystitis, treated by prolonged bladder distension. *Br J Urol* 49: 641-645, 1977
- Levin RM, Longhurst PA, Monson FC, Kato K, Wein AJ: Effect of bladder outlet obstruction on the morphology, physiology and pharmacology of the bladder. *Prostate(Suppl)* 3: 9-26, 1990
- Mehrota RML: An experimental study of the vesical circulation during distension and cystitis. *J Pathol Bacteriol* 66: 79-89, 1953
- Mayo ME, Lloyd-Davies RW, Shuttleworth KED, Tighe JR: The damaged human detrusor: functional and electron microscopic changes in disease. *Br J Urol* 45: 116-125, 1973
- Lloyd-Davies RW, Clark AE, Prout WG, Shuttleworth KED, Tighe JR: The effect of stretching on the rabbit bladder. *Invest Urol* 8: 145-152, 1970

일시적 방광 과신장에 의한 토끼 방광의 조직학적 변화

21. Sehn JT : The ultrastructural effect of distension on the neuromuscular apparatus of the urinary bladder. Invest Urol 16: 369-375, 1979
22. Tammela T, Autio-Harminen H, Lukkarinen O, Sormunen R : Effect of distension on function and nervous ultrastructure in the canine urinary bladder. Urol Int 42: 265-270, 1987
23. Tammela T, Lasanen L, Waris T : Effect of distension on adrenergic innervation of the rat urinary bladder. Urol Res 18: 345-348, 1990