



**HISTOLOGIESE VERANDERINGE WAT VOLG OP**

**DISTENSIE VAN DIE DETRUSOR IN DIE ROT:**

**SPRAGUE - DAWLEY**

**deur**

**Linda Magdalena Greyling**



**HISTOLOGIESE VERANDERINGE WAT VOLG OP**

**DISTENSIE VAN DIE DETRUSOR IN DIE ROT:**

**SPRAGUE - DAWLEY**

deur

Linda Magdalena Greyling

Voorgelê ter gedeeltelike voldoening aan die vereistes vir die graad MSc

(Anatomie) in die Fakulteit Gesondheidswetenskappe

Universiteit van Pretoria.

November 2001

## VOORWOORD

Ek wil graag erkenning gee aan die volgende persone sonder wie se onskatbare hulp en bystand ek sekerlik nie hierdie studie sou kon voltooi het nie:

Prof. JH Meiring, studieleier, en dr. Resia Pretorius, medeleier, albei verbonde aan die Departement Anatomie, in die Skool vir Geneeskunde, vir aanmoediging en geduld.

Prof. Meiring en my medekollegas in die Departement Anatomie vir die tyd en geleentheid om die studie te kan voltooi.

Al die akademiese en tegniese personeel in die Histologie-afdeling van die departement wat nooit te besig was om 'n helpende hand te verleen nie. In die verband wil ek graag vir Dave en Nanette Lizamore uitsonder. Dankie ook aan die departement vir die gebruik van die nodige apparatuur.

Prof. C van Aswegen en die personeel van die Wolmerans Instituut van die Departement Urologie, asook die Andrologie-eenheid, verbonde aan die Skool vir Gesondheidswetenskappe aan die Universiteit van Pretoria.

Marinda Smith vir die grafiese verwerking.

My twee kinders, Amanda en Charl, en my ouers en familie, vir vertroue in my.

## FIGURE

Figuur 1:	38
Tabaksaksteek in posisie voor kateterisasie.	
Figuur 2:	38
Kateter word in posisie gehou met 'n tabaksaksteek.	
Figuur 3:	38
Blaas gevul met ongeveer 1ml. van 'n normale soutoplossing.	
Figuur 4:	38
Naby-aansig van die uitgesette blaas.	
Figuur 5:	39
Blaas word uitgesny.	
Figuur 6:	53
Losgelate segmente van die selmembraan, met sitoplasmiese inhoud wat in die lumen van die blaas vrygestel word.	
Figuur 7 A en B:	54
Distorsie van die zonula adherens (ZA) en desmosome (D) na oordistensie. Die zonula occludens blyk intakt te wees. (T = tonofibrille).	
a. Normale voorkoms teen dag 2.	
b. Versteurde voorkoms teen dag 30.	
Figuur 7 C:	55
Plaakmateriaal wat teen dag 30 in die hegtingskomplekse voorkom. Let op na die amorf materiaal in die intersellulêre spasies.	

- Figure 8 A, B en C: 56
- Elektronmikroskopiese beeld van toenemende versteuring van die sitoplasmiese filamente. Die elektronmikroskopiese beelde is op dag 2 (A), dag 18 (B) en dag 30 (C) geneem. Let op na die skyfvormige vesikels (V) in (A) dag 2, en die afname in die aantal vesikels teen dag 30 (C).
- Figuur 9 A en B: 57
- Groot getalle vakuole onder die selmembraan (Fig. 9 A en B). Verdikte digte bande onder die sarkolemma, sonder vakuole, kom in stroke voor (Fig. 9 A en B). Enkele fokale verlies van die digte bande, met of sonder vakuole, kan ook aangetoon word (Fig. 9 A).
- Figuur 10 A en B: 60
- Bloedvate in die lamina propria in beide (A) pre- en (B) post-oöwarektomie beelde. Dissosiasie van die epiteel vanaf die onderliggende weefsel.
- Figuur 11 A en B: 63
- Min of geen vakuole onder die selmembraan waargeneem nie. Verdikte digte bande onder die sarkolemma, sonder vakuole, kom in stroke voor. Enkele fokale verlies van die digte bande, met of sonder vakuole kan ook waargeneem word.



## TABELLE

Tabel I:

Normale urokinase-waardes. 47

Tabel II:

Urokinase waardes na distensie van die rotblaas. 47



# HISTOLOGIESE VERANDERINGE WAT VOLG OP DISTENSIE VAN DIE DETRUSOR IN DIE ROT: SPRAGUE - DAWLEY

deur

Linda Magdalena Greyling

**Leier:** Prof. J.H. Meiring

**Medeleier:** Dr. E. Pretorius

**Departement:** Anatomie

**Graad waarvoor verhandeling ingedien is:** MSc (Anatomie)

## SAMEVATTING

Die meeste studies wat oor die effek van oordistensie op die spierwand van die blaas - die detrusor - handel, is gedoen wanneer 'n spierwand aan 'n enkele episode van akute oordistensie blootgestel is. Navorsing sluit meestal studies in wat in retrospek op weefsel afkomstig vanaf pasiënte gedoen is. Geen navorsing is beskikbaar oor weefsel wat aan intermitterende oordistensie, of distensie oor verskeie kort tydperke, handel nie.

'n Persoon is aan relatief min insidente van akute oordistensie gedurende sy/haar leeftyd blootgestel - meestal vroue gedurende kraam of mans tydens akute of chroniese obstruksie van die prostaat.

In die studie is gepoog om 'n geheelbeeld van die histologiese veranderinge wat gedurende intermitterende oordistensie in bykans al die komponente van die blaaswand voorkom, daar te stel, naamlik in die kollageen, gladdespier, elastiese vesels, fibrien, vakuole en fibroblaste.

Die detrusor is hoofsaaklik saamgestel uit gladdespier en kollageenvesels, met 'n fraksie elastiese vesels. Gedeeltelike obstruksie van die blaas veroorsaak 'n vinnige en

aansienlike toename in die massa van die blaas, wat deur vermeerdering in bykans al die weefselkomponente, nl. epiteelselle, gladdespier, interstisiële bindweefsel en serosa gekenmerk word. Daar is aangetoon dat die toenames die gevolg van sellulêre hipertrofie is.

Die grootste toename in grootte van die geobstrueerde blase by pasiënte kom voor waar daar ook histologiese bewys van bindweefselinfiltrasie is. Die gevolgtrekking kan gemaak word dat neerlegging van bindweefsel tussen die gladdespierbondels van die detrusor in 'n stadium ná die aanvang van sellulêre hipertrofie voorkom.

Die toename in die kollageenkomponent veroorsaak dat die blaas minder elasties vertoon en dat dit lyk asof die blaas in 'n staat van voortdurende kontraksie is, wat die orgaan se kapasiteit verminder. In dié studie is opgemerk dat sommige van die gladdespierbondels in die gehipertrofeerde spierwand normaal voorkom. In baie gladdespierbondels is daar ook opmerklike infiltrasie van bindweefselemente. In hierdie spierbondels word die spierselle van mekaar geskei deur kompakte massas kollageen- en elastiese vesels.

In verskeie studies oor die strukturele en funksionele veranderinge wat kan lei tot onderfunksionering van die blaas na oordistensie, is vakuole tussen die spiervesels waargeneem.

Die voorkoms van addisionele elastiese vesels tydens oordistensie van die blaas word deur navorsers toegeskryf aan kompensasie op die verhoogde interne druk in die geobstrueerde blaas. Hierdie vesels is in al die lae van die blaaswand opgemerk, sowel as tussen die spierelemente, en was, soos genoem, meer volop in geobstrueerde blase. In studies oor die respons van gladdespierselle tydens akute uitvloei-obstruksie, is opgemerk dat weefselveranderinge in die voorbeelde van gedeeltelike uretrale obstruksie in beide die mens en in honde omkeerbaar is. Hierdie proses neem tussen agt weke en vier maande.

Die huidige navorsing handel oor die histologiese veranderinge in die blaas. 'n Totaal van sestig *Sprague-Dawley*-wyfierotte is gebruik. Gedurende **Fase I** en **II** van die studie is narkose aan elke rot toegedien, die blaas uitgerek en die rot dan óf getermineer en die blaas verwyder, óf gehou vir verdere distensie van die blaas. Tydens **Fase II** van



die studie is die ovaria van dertig wyfierotte verwyder en die rotblase daarna, soos bo genoem, verwyder.

Narkose is toegedien deur middel van Ethrane in 'n oop sisteem. Rotte wat getermineer is, is 'n oordosis Ethrane toegedien. Die eksterne abdominale wand en eksterne uretrale opening is met 'n Chloorheksidien Glukonaat 1:2000 oplossing voorberei. 'n Tabaksaksteek is voor kateterisasie in die eksterne uretrale opening in posisie geplaas. Die rot is dan met 'n Jelco kanule [20G] gekateteriseer, en die steek styfgetrek om die kanule in posisie te hou. Die blaas is daarna met ongeveer een milliliter Normale Soutoplossing [NaCl 0,9%] gevul, waarna die soutoplossing uitgelaat en die kanule en steek verwyder is.

Twee rotte is elke tweede dag na kateterisasie getermineer. Die blaas is versigtig deur 'n abdominale snit verwyder. Die weefsel is onmiddellik na eksisie in Bouins geplaas en volgens roetine geprosesseer. Sewe mikrometer snitte is gesny.

Daar is opgemerk dat van die eerste veranderinge wat onder die ligmikroskoop waargeneem is, 'n toename in vaskularisasie is. Nie alleen is 'n toename in die getal bloedvate waargeneem nie, maar ook in grootte. 'n Groot aantal vakuole is ook in die weefsel opgemerk. Dit is 'n seker teken dat edeem voorkom. Na 'n aantal distensies is opvallende skeure in die gladdespierbondels waargeneem, met die vorming van fyn kollageenvesels in die skeure. Saam met die voorkoms van die skeure, is die begin van 'n "nuwe" gladdespierlaag net onder die epiteel waargeneem.

Nog 'n opvallende waarneming was die breekbaarheid van die weefsel, wat opgemerk is tydens die maak van **Fase II** elektronmikroskopiesnitte, in vergelyking met die **Fase I** snitte. Elektronmikroskopiese veranderinge toon ook versteuring van die selmembraan met ekstrusie van die inhoud in die lumenale spasie en intersellulêre spasies.

Uniek aan die studie is die afname in kollageen in die **Fase II** weefsel, wat net deur een outeur voorheen beskryf is. In die **Fase I** weefsel kom groot getalle vakuole net onder die selmembraan voor, wat ooreenstem met waarnemings van ander outeurs. Tydens elektronmikroskopiese studies van die **Fase II** weefsel is 'n drastiese afname in die aantal vakuole net onder die selmembraan waargeneem. Hierdie waarneming is nog nie



voorheen in die literatuur beskryf nie. 'n Verdere studie om te bepaal of daar 'n moontlikheid bestaan dat die afname in die getal vakuole onder die selmembraan omkeerbaar is na toediening van estrogeen, sal bogenoemde waarneming kan rugsteun.

**HISTOLOGICAL CHANGES FOLLOWING DISTENSION  
OF THE DETRUSOR IN THE RAT:  
SPRAGUE - DAWLEY**

By

Linda Magdalena Greyling

**Leader:** Prof JH Meiring  
**Co-leader:** Dr E Pretorius  
**Department:** Anatomy  
**Submitted for the degree:** MSc (Anatomy)

**SUMMARY**

Most studies on the effect of overdistension of the muscle wall of the bladder, otherwise known as the detrusor, were done on a single, acute overdistension of the muscle. Research mostly includes retrospective studies on specimens obtained from patients. No research is available on intermittent overdistension, or repeated distension over a short period of time.

A person is subjected to relatively few incidences of acute overdistension during his/her lifetime - mostly women during labour or men during acute or chronic obstruction of the prostate.

The aim of this study is to establish a comprehensive picture in the trend of changes occurring after intermittent overdistension in almost all the components of the bladder wall, namely, collagen, smooth muscle, elastic fibres, fibrin, vacuoles and fibroblasts.

The urinary detrusor is mainly composed of smooth muscle and collagen fibres, with a fraction of elastic fibre. Partial outlet obstruction of the bladder induces a rapid and substantial increase in bladder mass, which is characterised by marked augmentation of virtually all tissue compartments, e.g. epithelial cells, smooth muscle, interstitial

connective tissue and serosal tissue. Some of these increases are the result of cellular hypertrophy.

The largest increase in the size of obstructed bladders was observed in patients where bladder samples also showed histological evidence of connective tissue infiltration. This observation was because of the deposition of connective tissue amongst detrusor smooth muscle bundles, after the onset of cellular hypertrophy.

The increase in collagen in the collagen component renders the urinary bladder less elastic and contracted, and the bladder capacity subsequently decreases. In this study it was noted that some smooth muscle bundles in the hypertrophic muscle appear to be normal. However, many smooth muscle bundles display a marked infiltration of connective tissue elements. In such bundles, muscle cells were widely separated by compact masses of collagen and elastic fibres.

In several studies regarding the structural and functional changes leading to impairment of the bladder after overdistension, vacuoles were observed between the muscle fibres.

Researchers attributed the development of additional elastic fibres during overdistension of the urinary bladder to compensatory mechanisms to the raised internal pressure in the obstructed bladder. These fibres were noted between all of the layers of the bladder wall, as well as between the muscle elements; being more abundant in obstructed bladders. Research conducted on the response of smooth muscle cells to acute outflow obstruction, indicated that the tissue changes arising in the bladder wall in the samples of partial urethral obstruction was reversible in both humans and dogs. This process lasted between eight weeks and four months.

The present research studied the histological changes in the bladder. Sixty female *Sprague-Dawley* rats were used as research specimens. During **Phase I** and **II** of the study, each rat was anaesthetised, the bladder distended, and the rat either terminated and the bladder removed, or kept for further distension of the bladder. During **Phase II** of the study, the bladders of thirty female rats were excised only after the ovaries were removed.

Anaesthesia was induced with Ethrane in an open system. The rats were terminated with an overdose of Ethrane. The external abdominal wall and external urethral opening were prepped with Chlorhexidine Gluconate 1:2000 solution. Before catheterization, a purse-string suture was placed in position in the external urethral opening. Catheterization with a Jelco cannula [20G] followed, and the suture closed to keep the cannula in position. The bladder was then filled with approximately one millilitre of Normal Saline [NaCl 0,9%], allowed to drain, where after the cannula and suture were removed.

After catheterization, two rats were sacrificed every second day. The bladder was then carefully removed through an abdominal incision and the tissue immediately fixed in Bouins and routinely processed. Seven micrometer sections were cut.

Under the light microscope, the first visible change is the increased vascularization. It was noted that the blood vessels increased both in number and size. Numerous vacuoles underneath the cell membrane were also a telltale sign of oedema. After a few distensions, noticeable tears appeared in the smooth muscle bundles, with the formation of fine collagen fibres in the muscle tears. The appearance of these tears was accompanied by the formation of a new smooth muscle layer immediately below the epithelium.

Another striking observation was the fragility of the tissue during sectioning of specimens for electronmicroscopy during **Phase II**, as opposed to the condition of the tissue from **Phase I** of the study.

The decrease in collagen in the **Phase II** tissue is unique to this study and was previously described by only one author. Large numbers of vacuoles were found beneath the cell membrane in the **Phase I** tissue and this corresponds with observations from other authors. A drastic decrease in the number of vacuoles beneath the cell membrane was observed during Electronmicroscopic studies of tissue from **Phase II**. This observation has not previously been described in any literature. Further studies to determine if there is a possibility that the decrease in the number of vacuoles beneath the cell membrane is reversible after the administration of oestrogen will support the above observation.



## INHOUDSOPGAWE

1.	Inleiding .....	1
2.	Hipotese .....	5
3.	Literatuurstudie .....	6
A.	Ligmikroskopie .....	6
B.	Elektronmikroskopie .....	8
C.	Histologie en Patologie .....	9
1.	Edeem .....	11
2.	Luminale membraan .....	12
3.	Gladdespier .....	17
4.	Mitotiese aktiwiteit en Spierselhiperplasie .....	20
5.	Kollageen .....	21
6.	Elastiese vesels .....	23
7.	Intersellulêre hegtingskomplekse .....	24
8.	Intersellulêre spasies .....	26
9.	Fibroblaste .....	26
10.	Vaskulariteit .....	26
D.	Estrogeen .....	28
4.	Doel van die studie .....	31
5.	Materiale en Metodes .....	32
A.	Etiese goedkeuring en Befondsing .....	32
B.	Materiale .....	33
C.	Metodes .....	36



D.	Loodsstudie .....	45
6.	Resultate .....	49
7.	Bespreking .....	64
8.	Gevolgtrekkings .....	69
9.	Aanhangsel A: Histologietegnieke: Ligmikroskopie .....	71
10.	Aanhangsel B: Histologietegnieke: Elektronmikroskopie .....	87
11.	Verwysings .....	88

## INLEIDING

Die blaas is 'n merkwaardige voorbeeld van 'n dinamiese biologiese struktuur waarvan die epiteel, bindweefsel en gladdespierkomponente, asook hulle eienskappe, so aangepas is om gekombineerd as 'n orgaan te kan funksioneer. Hierdie weefsels sit uit wanneer die blaas vul en kollabeer wanneer die blaas saamtrek en geledig word<sup>1</sup>. Daar is ook 'n opsigtelike vaskulêre sisteem, bestaande uit 'n bloed- sowel as 'n limfvatstelsel.

Mikturisie word deur gekoördineerde inhibisie van die reflekse, geaktiveer deur die somatiese innervering van die eksterne sfinkter, inhibisie van die simpatiese stelsel, en aktivering van cholinerge innervering van die blaas teweeggebring. Die mees superior aspek van die blaasliggaam (koepel) reageer met die sterkste kontraksies en die blaasbasis en uretra met die swakste kontraksies. Die kontraktiele respons vervorm eers die blaas waartydens die uitgang van die blaas meer tregtervormig word. Dit lei tot gekoördineerde kontraksie van die liggaam van die blaas met totale lediging van die blaas self. Die kontraktiele respons van die blaas word in twee fases verdeel, naamlik, eerstens, 'n aanvanklike vinnige toename in intravesikale druk wat die blaas vorm en geassosieer word met oopgaan van die uretra. Tweedens, 'n verlengde periode van verhoogde druk (platofase) waartydens die blaas ledig.<sup>1</sup> In die normale detrusor word verwag dat die mate van uitrekking wat gladdespierelemente benodig om maksimale kontraksie te genereer, nie die bloedvloei, wat die "energie" verskaf om so 'n kontraksie teweeg te bring, sal onderbreek nie.<sup>2</sup>

Tydens akute gedeeltelike obstruksie van uitvloei, sal 'n hoë mate van uitrekking van die wand lei tot gedeeltelike of selfs totale afsluiting van die bloedvate in die detrusor, met gevolglike isgemie.<sup>2</sup> Benigne blaaspatologie kan na enige chroniese toestand wat die



vloei van uriene uit die blaas beperk volg, en word dikwels gekenmerk deur 'n toename in die massa van die blaas en afname in die vloei van uriene, met residuele uriene na lediging van die blaas.<sup>3</sup>

Verlengde oordistensie van die blaas lei dikwels tot langtermyn probleme ten opsigte van mikturisie. Indien die blaas deur oordistensie buite die normale fisiese perke uitgerek word, word die elastiese eienskappe en die vermoë om tydens blaaslediging saam te trek, aangetas. Uitgesproke distensie van die blaaswand kan onherstelbare skade aan die motoriese senuwees, sowel as die postsinaptiese membrane en die kontraktiele elemente veroorsaak.<sup>4</sup> Die minimum skade benodig om verlies van blaasfunksie teweeg te bring, is nie bekend nie.<sup>5</sup>

Daar kan gepostuleer word dat daar 'n verhouding tussen die persentasie gladdepier teenwoordig in die detrusor en die kwaliteit van vesikale kontraksie bestaan. Relatiewe toename in kollageen kan die kwaliteit van kontraksie verminder. Dit is 'n mite dat hipertrofie van gladdepier tot 'n sterker kontraksievermoë lei. Klinies is bewys dat, alhoewel die blaaswand verdik en gehipertrofeerd voorkom, 'n blaas funksioneel swakker is.<sup>6,7</sup>

Die respons van die blaas is kompleks en varieer heel waarskynlik met ouderdom, kliniese geskiedenis en die spesie wat gebruik word.<sup>8</sup> Dit blyk asof pasiënte met toenemende ouderdom meer vatbaar is vir postoperatiewe mikturiese probleme.<sup>4,9</sup> Dit is heel waarskynlik weens degenerasie van die senuweevoorsiening van die urinêre stelsel, die bloedvloei van die blaaswand, en die spieraksie.<sup>4</sup> 'n Verrassende hoë insidensie van postoperatiewe urinêre retensie kom by vroue tussen een-en-twintigjarige tot veertigjarige ouderdom voor. Gilpin et al.<sup>10</sup> toon aan dat die grootte van die spiervesels van die

detrusor nie met toenemende ouderdom varieer nie. Die toenemende verlies in funksionele beheer van die blaas kan moontlik daaraan toegeskryf word dat met ouderdom die aantal asetielcholinesterase-draende vesels in die detrusor liniêr afneem.

Vier toestande is veral verantwoordelik vir toenemende neerlegging van kollageen in die blaaswand, naamlik ouderdom, blaasobstruksie, desentralisasie van die detrusor en isgemie. Na die ouderdom van vyftig jaar toon vrouens 'n betekenisvolle toename in blaaskollageen in vergelyking met mans van dieselfde ouderdom. Die toename in kollageen veroorsaak 'n proporsionele afname in detrusorkontraktiliteit omdat normale depolarisering van die spierselle verhoed word en lei tot progressiewe inaktivering van 'n toenemende aantal spierselle. Veral isgemie is bekend daarvoor dat die toestand spieratrofie en kollageenneerlegging bevorder.<sup>11</sup>

Die gemiddelde konsentrasies van estrogeen in die sirkulasie van 'n postmenopousale vrou met intakte ovaria is dieselfde as dié van 'n vrou wat premenopousaal gekastreer is.<sup>12</sup> Die urinêre blaas is 'n estrogeensensitiewe orgaan met estrogeen- en progesteronreseptore wat in die trigonum van die blaas en uretra voorkom. Die uretrale mukosa, wat estrogeensensitief is, verminder in dikte en atrofeer na menopouse. Dié veranderinge dra tot verminderde kontraktiele funksie by. Toediening van estrogeen aan postmenopousale vroue verhoog die uretrale druk en mukosale dikte, en veroorsaak ook oorvulling van die bloedvate.<sup>13</sup>

In postmenopousale vroue kom urinêre blaasdisfunksie, en spesifiek inkontinensie, algemeen voor.<sup>13</sup> Wanneer die etiologie van disfunksie beskou word, is dit moeilik om die invloed van ouderdom van dié van die menopouse te skei. Die mees betekenisvolle effek van menopouse is estrogeendeprivasie.<sup>14</sup> Behandeling van inkontinente vroue met



estrogeenhormone kan in baie gevalle die effek van ouderdom op die blaasfunksie verlig, wat suggereer dat die hoë insidensie van inkontinensie in die ouer vrou verband hou met die afname in estrogeenvlakke na die menopouse.<sup>13</sup>

## HIPOTESE

In die vroulike blaas berus die hipotese van verouderingsveranderinge op die volgende veronderstellings:

1. Die saamval en uitsetting van die blaas tydens vulling met en lediging van uriene oor 'n periode van jare, en gepaardgaande daarmee, infrekwente blaaslediging met vergroting van die blaas.
2. Hormonale veranderinge weens verlaging van estrogeenvlakke (menopousaal en postmenopousaal) met toename in die breekbaarheid van die bloedvate in die vroulike blaas.
3. Dat 'n kombinasie van bogenoemde aanleiding gee tot fibrose van die blaas met isgemie, wat verhoogde prikkelbaarheid, en gevolglike onstabiliteit van die detrusor tot gevolg het. Gepaardgaande daarmee, ook sensoriese aantasting van die blaas met atonie.
4. Biochemiese veranderinge met 'n afname in ATP (adenosien-tri-fosfaat) weens weefselperfusiegebrek, bevorder ook atonie van die blaas.

## LITERATUURSTUDIE

### A. Ligmikroskopie<sup>15,16,17</sup>

#### 1. Spierlaag (detrusorspier)

Onder lae vergroting vertoon die destrusor histologies 'n redelik prominente spierlaag, waarin 'n binneste longitudinale spierlaag, middelste sirkulêre spierlaag en buitenste longitudinale spierlaag onderskei kan word. Die adventitia word teenoor die buitenste longitudinale spierlaag onderskei, met die oorgangsepiteel en lamina propria teenoor die binneste longitudinale spierlaag. Die bondels spiervesels word deur bindweefsel omring. Die groter getal selkerne in die spiervesels maak dit maklik om tussen die spiervesels en bindweefsel te onderskei. Elastiese vesels word tussen die spierlae onderskei.

#### 2. Epiteel

Die mukosa van die urinêre blaas bestaan uit 'n lamina propria van losmasige bindweefsel en oorgangsepiteel. Epiteel in die urinêre blaaswand, of uroteel word geklassifiseer as gestratifiseerde epiteel. Weens veranderinge in die voorkoms tydens distensie, en afhangende van die mate van distensie van die blaaswand, staan die epiteel oor die algemeen bekend as oorgangsepiteel. Daar is nie 'n prominente submukosa teenwoordig nie, maar daar word soms na die bindweefsel naaste aan die spierlaag as die submukosa verwys.

In die ontspanne toestand, kom die oorgangsepiteel teenoor die lumen van die blaas in voue voor. Onder hoër vergroting kan gesien word dat die oorgangsepiteel uit drie tot ses lae selle bestaan. Die grootste aantal sellae kan in 'n onuitgerekte blaas waargeneem word (tydens fiksasie).

Selle in die basaallaag is die kleinste, kompak en kubies of silindries van vorm. Selle in die laag rus op 'n basaalmembraan wat dikwels dun is en moeilik waarneembaar met die ligmikroskoop. Die basaallaag is onreëlmatig en kan diep ingedui word deur stroke van die lamina propria, wat kapillêre vate kan bevat.

Selle in die intermediêre lae is kleiner en meer poligonaal. Die selle kan ook somtyds peervormig voorkom.

Selle op die oppervlak vertoon groot en silindries met groot ronde kerne en prominente nukleoli. Sommige oppervlakselle is bi-nukleêr. Die buitelyn van die oppervlak teenoor die lumen van die blaas vertoon 'n tipiese geskulpte voorkoms en die sitoplasma is dof en onduidelik, en kleur meer intens (H en E) as die res van die sitoplasma.

Wanneer die blaaswand uitgerek is word die oppervlakselle ook uitgerek en neem die vorm van plaveiselepiteel aan. In die toestand kom dit dan ook voor asof die deursnit van die oppervlakkige laag na ongeveer drie sellae verminder word.

### 3. Adventitia

Die adventitia is saamgestel uit fibro-elastiese bindweefsel. Dit bevat die arteries, venes en limfvate, asook outonome ganglionselle.

Die algemene struktuur van die blaaswand toon 'n ooreenkoms met die onderste derde van die ureter.

**B. Elektronmikroskopie<sup>15,16,17</sup>**

**1. Epiteel**

Ultrastruktureel word aangetoon dat die selmembrane teenoor die lumen van die blaas grotendeels uit verdikte, onbuigbare plake bestaan, met vernoude gebiede bestaande uit 'n normale membraan tussen die plake, wat as skarniere dien. Wanneer die blaas leeg is laat dit dele van die membraan toe om inwaarts te vou om diep gleuwe te vorm, asook stapels afgeplatte fusiforme vesikels. Filamente teenoor die onderoppervlak van die plake voorkom oormatige uitrekking van die plake.

Die plake is ongeveer 12 nanometer (nm) groot en vertoon dikker as die normale membraan. Die plake kom relatief rigied voor en vertoon heksagonaal.

Sitoplasma in die apikale gebied van oorgangsepiteitel vertoon klein vesikels, filamente en mitochondria. Die mees kenmerkende eienskap is egter die teenwoordigheid van fusiforme vesikels. Membrane wat die vesikels vorm toon dieselfde eienskappe as die plasmamembraan van die selle. Die fusiforme vesikels word tydens invouing van die plake in die ontspanne blaaswand gevorm.

Die wandstruktuur vorm 'n skans en voorkom dat uriene, wat potensieel toksies is, die

wand penetreer, of dat water deur hipertoniëse uriene vanuit die wand opgeneem kan word.

### C. Histologie en Patologie

Die effekte van korttermyn obstruksie van blaasuitvloei sluit belangrike strukturele veranderinge in die detrusor in. Hierdie veranderinge sluit 'n kombinasie van spierseldegenerasie en -regenerasie, spierselhipertrofie, verwyding van die intersellulêre spasies en intersellulêre neerslae van 'n basaallamina-agtige materiaal in.<sup>18</sup>

Die normale (onuitgerekte) blaas toon bondels gladdespierselle omring deur kollageenvesels, met min kollageen binne die spierbondels en naasliggende selle baie naby mekaar. Kollageen binne die spierbondels is beperk tot areas waar verskeie spierselle bymekaarkom. Dit is in hierdie areas waar klein senuweevesels opgemerk kan word.

Binne die normale blaas is die selkerne omring deur sitoplasma waarin verskeie mitochondria, enkele gladde endoplasmiese retikulum, en abnormale hoeveelhede glikogeenkorrels voorkom. Net onder die selmembraan, bevat die sitoplasma soortgelyke organelle en groot hoeveelhede pinositotiese vesikels. Die oorblywende sitoplasma is gevul met miofibrille. Die plasmamembrane toon fokale areas van verdikking, en binne dié areas kan pinositotiese vesikels nie waargeneem word nie. Hierdie fokale areas in die plasmamembrane is meestal teenoor areas van verdikking in naasliggende selle geleë en vorm so intersellulêre verdikkings.<sup>19</sup>



Histologiese studies toon dat 'n akute inflammatoriese reaksie in die weefsel na die eerste paar dae van obstruksie voorkom. Hierdie reaksie mag die teenwoordigheid van die veranderinge in DNA (deoksiribonukleïensuur), RNA (ribonukleïensuur) en lipiede in die tydperk verklaar. Die toename in die intrasellulêre DNA korreleer met die toename in blaasmasse en veronderstelde proteïensintese. Die toename in lipiede mag gedeeltelik wees weens die akute inflammatoriese reaksie en vetdegenerasie van die spierelemente en neuronale elemente.<sup>20</sup>

Uroteel is nie bestand teen isemiese toestande nie en blyk baie sensitief te wees teenoor suurstofspanning. Wat belangrik is, is nie soseer dat die uroteel afsterf nie, maar dat dit dissosieer.<sup>21</sup> In die akute fase van distensie, is die kontinuïteit van die epiteel gedeeltelik vernietig en submukosale bloedings<sup>22</sup> en edeem is sigbaar.<sup>22,23,24,25</sup> Ekstravasasie van bloed, die ontwikkeling van klein nekrotiese areas,<sup>23</sup> en inflammatoriese eksudaat na akute retensie is al aangetoon.<sup>20,23</sup> Gladdespier degenerer wel tydens isemie, maar oorblyfsels van die gladdespier bly in die bindweefselkompartemente agter. Daar word gesuggereer dat nuwe gladdespier vanuit die gedegenererde strukture ontwikkel, maar daar is geen direkte getuïenis daarvoor nie. Dit blyk verder dat die bindweefsel tydens ekstreme isemie volledig hidroliseer, en die enigste bindweefselstruktuur wat skynbaar in dié geval sal oorleef, is die lamina propria.<sup>21</sup> Die koepel van die blaas is die een area in die blaas wat skynbaar die meeste deur isemie aangetas word.<sup>24</sup>

Een van die mees opvallende response van die blaas tydens eksperimentele obstruksie is die tempo waarteen die blaas instaat is om massa te vermeerder (weefselhipertrofie).<sup>1</sup> Die blaas toon 'n nege-voudige toename in massa na slegs een week van akute obstruksie. Degeneratiewe veranderinge wat tesame met die toename in massa

waargeneem is, is omkeerbaar binne agt weke tot vier maande na opheffing van die akute obstruksie.<sup>26</sup> Dié veranderinge sluit onder andere die neerlegging van kollageenbindweefsel, óf deur hipertrofie én/óf deur hiperplasie, in. Studies oor disfunksie van die blaas, neem oor die algemeen intramuskulêre veranderinge, wat toenemende skeiding van gladdespierselle deur akkumilasie van kollageenmateriaal, materiaal geassosieer met die basaalmembrane, en neuromuskulêre en neurosensoriese veranderinge insluit, in ag. Die vraag bly steeds of die toename in massa primêr in die detrusor of buite die muskulêre kompartement in die bindweefsel, plaasvind.<sup>1</sup>

#### 1. Edeem

Eksperimenteel is aangetoon dat, gedurende die eerste drie dae van akute oordistensie van die blaas, die bindweefsel tussen die spierveselbondels deur weefselvloeistof geïnfiltreer word, en gevolglik die kollageenvesels van mekaar skei.<sup>21</sup> Volgens Kitada *et al.*<sup>27</sup> kan die edemateuse veranderinge reeds binne 24 uur na totale obstruksie van die blaas waargeneem word. Dit het 'n betekenisvolle toename in die massa van die blaas tot gevolg. Edemateuse veranderinge sluit ook bloeding in sommige gebiede, met infiltrasie van limfosiete en plasmasele, in.<sup>22</sup>

Gabella<sup>B</sup> noem, daarenteen, dat geen teken van edeem of enige inflammatoriese toestande in sy studie oor spierselhipertrofie in die blaas tydens obstruksie waargeneem kon word nie.

## 2. Luminale membraan (Uroteel)

Die luminale plasmamembraan van die oorgangsepitel in soogdiere is uniek. Die oppervlak van die luminale membraan is, wanneer die blaas saamtrek en ontspan, blootgestel aan baie veranderinge oor 'n kort tydperk.<sup>28</sup>

Drie duidelik onderskeibare tipes selle kan onder die ligmikroskoop in die luminale membraan waargeneem word, naamlik oppervlakkige, intermediêre en basaalselle.<sup>29,30</sup> Buiten die oppervlakkige en die basaalselle, is die ander lae nie duidelik onderskeibaar nie.<sup>29</sup> Die oppervlakkige selle kom voor in 'n enkel ry teenoor die lumen en is kenmerkend groot en dikwels bi- of multinukleêr.<sup>30</sup> Dié selle is verleng en strek oor verskeie selle in die onderliggende laag in.<sup>29</sup> Die oppervlakkige selle van die saamgetrekte blaas is ongeveer 9-11 mikrometer ( $\mu\text{m}$ ) dik en bult dikwels, sferies, in die lumen van die blaas in. Tussen die uitbultings kan diep induikings ("intrusions") gesien word, waarvan aan die basis die kontakpunte tussen naasliggende selle gesien kan word. Blomkoolagtige seloppervlakke, dit wil sê, diggepakte groewe, geute en voue, word op hoër vergrotings as plake vertoon. Die kantige plake, geskei deur rifagtige uitsteeksels (mikrokristae), verleen 'n heuningkoekvoorkoms aan die seloppervlak. Die selprotrusies/uitbultings verdwyn in die uitgesette blaas, dit wil sê, die selle plat af, maar die heuningkoek voorkoms van die oppervlak bly behoue.<sup>31</sup> Intermediêre- en basaalselle tussen die oppervlakkige laag en die lamina propria is kleiner as die oppervlakkige selle.<sup>30</sup> Die selle van die basaallaag is sferies of effens ovaalvormig en in 'n ordelike ry bokant die basaal-membraan gerangskik. Die intermediêre selle is effens groter as die basaalselle.<sup>29</sup>

Die mosaïek van konkawe plake,<sup>28,31,32</sup> bestaan uit 'n buitengewoon dik asimmetriese<sup>28</sup> plasmamembraan van  $120\text{\AA}$ ,<sup>28,29,31</sup> wat afwissel met 'n interplaakmembraan van  $80\text{\AA}$ <sup>28,31</sup> tot  $90\text{\AA}$ .<sup>29</sup> Die asimmetriese membrane bestaan uit 'n baie dun, afgeplatte elektron-opaak binneste lamella naasliggend tot die sitoplasma, en 'n dik, afgeplatte elektron-opaak lamella blootgestel aan die lumen van die blaas.<sup>28,29</sup> Die lae word van mekaar geskei deur 'n elektrondigte laag. Dié asimmetriese eenheidsmembraan is slegs beperk tot die luminale oppervlak van die sel en strek vanaf een digte aansluiting na 'n ander. Die res van die oppervlakkige selle is gebind deur die dunner simmetriese eenheidsmembraan (interplaakmembraan).<sup>29</sup>

Die plake varieer in grootte van  $0,1$  tot  $0,6\ \mu\text{m}$  in deursnit, geskei deur die intervalle wat varieer in grootte van  $0,02$  tot  $0,3\ \mu\text{m}$ , met geen spesifieke geometriese patroon nie.<sup>28</sup> Die plake vertoon rigied in sowel die saamgetrekte as die ontspanne blaas.<sup>32</sup> In normale snitte vertoon die luminale membraan afgeplatte lamellae en ook dat dit uit uniforme gespaseerde partikels saamgestel is. Onduidelike heksagonale patrone (heuningkoek voorkoms) kan in tangensiale snitte waargeneem word.<sup>28</sup>

Ongeveer  $73\%$  van die oppervlaksarea word opgeneem deur die plake en ongeveer  $27\%$  deur die interplaakgebiede.<sup>28</sup> Hierdie membraan verleen 'n geskulpte voorkoms aan snitte van die gebied.<sup>28,33</sup> Die betekenis van dié struktuur is nie heeltemal duidelik nie. Dit word in verband gebring met die skynbaar totale ondeurlaatbaarheid van die membraan. Hierdie membraan voorkom uitruiling tussen die hipertoniëse uriene en naasliggende weefsel.<sup>28</sup> Indien die epiteel beskadig word, verhoog die deurlaatbaarheid van die membraan.<sup>33</sup>

Oorgangsepiteel beskik oor partikels in 'n "deurlaatbaarheidskans" wat die uitruiling van water en soute tussen bloed en uriene reguleer.<sup>28</sup> Hicks<sup>33</sup> suggereer dat die partikels uit keratien bestaan, en dus die belangrikste skans is wat deurlaatbaarheid van die epiteel in kombinasie met die ekstrasellulêre hegtingskomplekse reguleer.<sup>28,31</sup> Om effektief te kan wees moet die partikels oor die totale luminale membraan versprei wees.<sup>28</sup> Navorsing toon dat die karakteristieke verspreidingspatroon net in die plaakgebiede, waar die luminale epiteel verdik vertoon, voorkom.<sup>28,32</sup> Die interplaakgebiede is blykbaar vry van partikels wat die teorie dat die deurlaatbaarheid van die membrane deur die partikels gereguleer word, bevraagteken.<sup>28,31,32</sup> Daar kan dus veronderstel word dat ander komponente, teenwoordig in beide die plake sowel as die interplaakgebiede, daarvoor verantwoordelik moet wees.

Nog 'n kenmerk van die membraan is die vermoë om te vou wanneer die blaas tydens lediging saamtrek.<sup>28</sup> Vouing van die membraan geskied in die interplaakgebiede.<sup>28,32</sup> Hoeke wat in die interplaakgebiede waargeneem word, toon dat hierdie gebiede die vermoë het om in bykans enige hoek en rigting te kan buig - byna asof daar skarniere teenwoordig is.<sup>28,31</sup> Die plake vertoon egter nooit buigings met skerp hoeke nie; maar eerder meer rigied en gewoonlik slegs met 'n geringe kurwatuur wat 'n konkawe voorkoms aan die membraan na die lumen verleen.<sup>28</sup>

Alhoewel geen partikels deur die sitoplasmiese oppervlak van die membraan stulp nie, is filamenteuse elemente daaraan geheg. Soms kan waargeneem word dat sommige van die filamente aan partikels binne die membraan geheg is.<sup>28</sup> Lang sitoplasmiese filamente is deurgaans aan die korter filamenteuse elemente geheg.<sup>28,31,32</sup> Hierdie sitoplasmiese filamente kom veral in die apikale of kortikale sitoplasma van die luminale selle voor.<sup>28,32</sup> In die web van kortikale filamente kom skyfvormige -, <sup>29,32</sup> fusivorme - <sup>28,29</sup> of sferiese

vesikels<sup>29</sup> met kenmerkende verdikte membrane, kleiner vesikels sonder verdikte membrane, mitochondria en ribosoomagtige partikels voor.<sup>32</sup>

Hierdie vesikels is kenmerkend vir die oppervlakkige selle van die blaasepiteel en bevat dieselfde asimmetriese eenheidsmembraan as die luminale oppervlak van die oppervlakkige selle. Oop kommunikasie kom tussen enkele vesikels en die luminale oppervlak voor. Die aantal vesikels per sel varieer baie. In die groter, meer sferiese vesikels, kan klein vesikulêre fragmente van membrane soms waargeneem word. Kleiner vesikels in die vorm van 'n figuur 8, asook kort kanale gevorm deur opeenvolgende vesikels in verbinding met mekaar, is ook sigbaar.<sup>29</sup>

Naasliggende plake is deur die sitoplasmiese filamente met mekaar geheg en aanduidings is dat die rigiede plake as ankers vir die filamente via die interkonneksies dien.<sup>28,31</sup> So 'n membraan-filamentinteraksie kan die luminale membraan stabiliseer en versterk en voorkom dat die membraan ruptuur wanneer die blaas in distensie is.<sup>28,32</sup> Verder kom dit voor asof die onderlinge interaksie die ordelike vouing van die membraanoppervlak tydens kontraksie van die blaas bevorder.<sup>28</sup>

Vanaf die oppervlak van die sel strek diep splete of kanale in die diepte van die sitoplasma in, en word dikwels in die saamgetrekte blaas waargeneem. Die kanale het dieselfde geskulpte voorkoms as die luminale oppervlak van die sel en lyk asof dit uit 'n reeks oop kommunikerende vesikels saamgestel is. Die kanale is met die asimmetriese eenheidsmembraan soos die vesikels en die luminale plasmamembraan, uitgevoer.<sup>29</sup>

Aan die luminale kant van die selle is die selle selde deur hegingskomplekse geheg; maar eerder deur desmosome wat enkel of in groepe voorkom. Wanneer die blaas saamgetrek

is en die oppervlaksepiteel gevou is, word hierdie kontakpunte weg van die oppervlak verplaas. Individuele desmosome kan ook in die basale area as kontakte tussen oppervlakkige en intermediêre selle gesien word. Die intersellulêre spasie is selde reguit maar toon 'n uniforme wydte. Verskeie interdigitasies, wat soms gebuig of selfs spiraal voorkom, kom tussen naasliggende oppervlakkige epiteelselle, asook tussen die oppervlakkige en intermediêre selle, voor.<sup>31</sup>

Wanneer die blaas uitgerek is, verminder die deursnit van die oppervlakkige epiteelselle tot ongeveer een-derde van die deursnit.<sup>31</sup> Die luminale oppervlak van die oppervlakkige selle is dan bykans reguit met slegs 'n effense golwing. Die intersitoplasmiese kanale kom selde voor en, indien dit waargeneem word, is dit baie vlakker en het 'n wyer lumen as in die saamgetrekte blaas. Die vesikels in die middel van die sel neig om die lang as van die verlengde en afgeplatte selle te volg, en lê, alhoewel nie almal nie, parallel tot die oppervlak.<sup>29</sup> Die luminale selkontakte verskuif na die oppervlak van die blaas en die interdigitasies tussen oppervlakkige selle en tussen oppervlakkige en intermediêre selle verminder in getal sowel as in grootte. Die intersellulêre spasies bly 200 tot 300 Å wyd, en selkontakte verdwyn nêrens nie.<sup>31</sup>

In vroeë stadiums van regenerasie is die geskulpte voorkoms, wat tipies van die volwasse luminale oppervlak is, nie so duidelik sigbaar nie en word die oppervlak deur kort, villi-agtige uitstulpings gevorm. Sommige van die oppervlakkige selle is ook feitlik vry van fusiforme vesikels en is die luminale membraan gedeeltelik uit 'n dun en feitlik simmetriese eenheidsmembraan saamgestel. In ander selle kan 'n paar klein vesikels onder die oppervlak waargeneem word, en is die eenheidsmembraan gedeeltelik uit 'n asimmetriese eenheidsmembraan saamgestel.<sup>29</sup>

### 3. Gladdespier

Die standaard reaksie van die detrusor op 'n verhoogde werkslading (uitrekking) is hipertrofie,<sup>8,34,35,36,37,38,39,40</sup> hiperplasia,<sup>35,39,40</sup> infiltrasie van spierbondels deur bindweefsel en 'n afname in die digtheid van senuweevesels geassosieer met die detrusor.<sup>38</sup>

'n Ondersoek na die chronologiese volgorde waarin hierdie strukturele veranderinge voorkom, toon dat die eerste respons op akute uitvloei-obstruksie in die vark, 'n vinnige afname in die digtheid van outonome senuwees, geassosieer met die detrusor, is.<sup>38</sup> Alhoewel die digtheid ten opsigte van innervering normaalweg van dier tot dier verskil, word daar, binne drie maande na obstruksie, 'n gemiddelde afname van ongeveer 50% in innervering aangetoon. Die afname in innervering kom nie uniform deur die detrusor voor nie, maar varieer van spierbondel tot spierbondel. Die chronies geobstrueerde blaas behou voldoende senuweevesels om spierkontraksie tydens mikturisie te inisieer.<sup>38</sup> In gladdespierveselbondels met normale fisiologie kon senuweevesels duidelik waargeneem word, maar in bondels gekenmerk deur bindweefselinfiltrasie, word senuweevesels selde gesien.<sup>41</sup>

Gedurende die eerste drie maande na die aanvang van obstruksie, blyk die morfologie van die gladdespier en bindweefsel onveranderd te bly. Na drie maande is daar geleidelike infiltrasie van die detrusorspierbondels deur bindweefsel. Baie spierbondels toon veranderinge in die fyn struktuur. Die perinukleêre gebied word beset deur uitgebreide granulêre retikulum wat dikwels deur diggepakte miofilamente omring word. Die veranderinge in die gladdespierselmorfologie, tesame met toename in die intersellulêre bindweefsel, is baie meer sigbaar na langer periodes van uitvloei-obstruksie. Die bevindinge van Dixon *et al.*<sup>38</sup> dui op 'n periode van twaalf tot veertien maande na



aanvang van die studie. Die toename in die spiermassa is direk eweredig aan die duur van die obstruksie en is moontlik ook proporsioneel tot die mate van obstruksie, alhoewel data nie huidig beskikbaar is nie.<sup>40</sup>

Miofilamente in normale spierselle is min of meer langs die lang as van die selprofiel gerangskik. In gedegenerereerde selprofiel is die miofilamente dikwels baie skuins oor die lang as en gekruis oor mekaar, of met 'n uitgebreide gekurfd patroon, in die sarkoplasma gerangskik. 'n Groot aantal dik miofilamente kom in sommige gevalle voor.<sup>42</sup>

In die rot neem die massa van die blaas tydens obstruksie vinnig toe.<sup>35,39</sup> Die massatoename word hoofsaaklik toegeskryf aan 'n drievoudige<sup>8</sup> toename in die dikte van die spierlaag<sup>36,40</sup> en nie weens edeem nie. Die toename in die deursnit van die blaaswand in die konyn, varieer in kontrole diere tussen  $1,57 \pm 0,34$  mm., in matig geobstrueerde blase  $2,04 \pm 0,25$  mm. en in hoogs geobstrueerde blase  $2,77 \pm 0,40$  mm.<sup>40,43</sup> In sommige van die hoogs geobstrueerde blase is daar ook 'n toename aangetoon in dikte van die serosa. In so 'n mate dat fibreuse septa vanaf die verdikte serosa, oor kort afstande, na die eksterne laag van die hipertrofiese spierlaag strek.<sup>40</sup> Toename in massa is reeds betekenisvol na drie dae van uitvloeiobstruksie, en meer as tienvoudig na ses weke en vier maande. Daar is geen verskil gevind tussen die massa van die detrusor en die kollageeninhoud na ses weke of vier maande van blaasobstruksie, wat 'n aanduiding is dat die finale vlak van hipertrofie relatief stabiel vir 'n aansienlike tydperk bly.<sup>39</sup>

Mikroskopiese ondersoek van die gehipertrofeerde blaas toon 'n toename in die gemiddelde deursnit van gladdespierselle.<sup>35,37</sup> Die selprofiel in die gehipertrofeerde blaas was onreëlmatig in vergelyking met die deursnitprofiel in kontrole (ongerekte) blase wat meer uniform voorgekom het.<sup>35,39,42</sup> Betekenisvolle toename ( $p < 0.01$ ) in die gemiddelde

sellengte kon in die gladdespier, soos uit geobstrueerde blase verkry, aangetoon word. Die grootste toename in die graad van sellulêre hipertrofie, is gevind in geobstrueerde blase waar daar ook histologiese tekens van bindweefselinfiltrasie aangetoon is. Daar word gepostuleer dat die neerlegging van bindweefsel tussen die gladdespier van die detrusor voorkom na sellulêre hipertrofie reeds 'n aanvang geneem het.<sup>44</sup>

Kryostat snitte, gekleur met Massontrichroom, vertoon verskeie ongewoon groot detrusorspierselle wat tussen normale spierbondels versprei is. Onder die elektronmikroskoop toon ongeveer 10% van die gladdespierselle perinukleêre elektrondigte liggame of vakuole. Groepe klein, digte kollageenkorrels is ook opgemerk.<sup>45</sup> In sommige blaasmonsters kon groot hoeveelhede granulêre endoplasmiese retikulum, heelwat lipieddruppels, en 'n opmerksame afname in die getal miofilamente, waargeneem word.<sup>41</sup>

Weefselveranderinge wat in die blaaswand weens gedeeltelike uretrale obstruksie voorkom, byvoorbeeld, vergroting van die spierwand en toename in intersellulêre bindweefsel, is omkeerbaar in die mens, met dien verstande dat die tydperk van obstruksie nie 'n periode van agt weke oorskry nie. Dit is bekend dat in baie erge of verlengde obstruksie onomkeerbare morfologiese veranderinge voorkom wat permanente funksionele skade tot gevolg het.<sup>34</sup>

Gabella *et al.*<sup>8</sup> beskryf die geïsoleerde voorkoms van intersellulêre debris, wat as die oorblyfsel van gedegenerende spierselle beskryf word. Spierseldegenerasie manifesteer deur uitgebreide disrupsie van meer as 50% van die selprofiel. In normale blaasmonsters kom gedisintegreerde selprofiel baie selde voor.<sup>42</sup>

In die normale detrusorspiersel is die sitoplasma aaneenlopend met die selwand.<sup>46</sup> Na uitrekking vind die navorsers dat die sitoplasma van die selwand geskei word deur 'n helder band waarin heelwat mitochondria voorkom.<sup>46,47</sup>

#### 4. Mitotiese aktiwiteit en Spierselhiperplasie

Die mees betroubare teken van spierselhiperplasie is die teenwoordigheid van mitose, alhoewel mitose selde in gladdespierselle waargeneem word.<sup>7</sup> In spierselle van gehipertrofeerde geobstrueerde blase kon geen mitotiese aktiwiteit nog waargeneem word nie.<sup>7,8,34,40,42,44</sup> Die gebrek aan mitotiese aktiwiteit in die geobstrueerde blaas, in vergelyking met mitotiese aktiwiteit wat wel in die geobstrueerde ureters voorkom, word gesien in die lig van die verskil in embriologiese oorsprong en funksionele aktiwiteit tussen die blaas en die ureters.<sup>34,40</sup> Die ureters ontstaan vanuit die mesonefriesse buise naby die terminasie in die vesikouretrale kanaal en urine word konstant deur middel van peristaltiese bewegings deur die ureters gelei. Die blaas, daarenteen, is 'n uitbreiding van die allantoïs en die anterior divisie van die interne kloak, en dien slegs as reservoir van urine met isometriesse kontrakasie tydens mikturisie.<sup>34</sup>

Die oorsprong van 'nuwe' spierselle in die gehipertrofeerde geobstrueerde blaas bly onverklaarbaar.<sup>34</sup> Omdat geen mitotiese aktiwiteit waargeneem kon word nie, sal die mees verklaarbare verduideliking wees dat differensiasie van sekere multipotensieë mesenkiemale selle 'n rol in blaasregenerasie speel.<sup>34,40</sup> Daar word ook gesuggereer dat die nodige meganiese stimulus, juis in dié gevalle, intermitterende distensie van die blaas is.<sup>34</sup> Gosling en Dixon<sup>41,48</sup> noem daarenteen dat, in die afwesigheid van fibroblastproliferasie, dit waarskynlik die gladdespierselle self is wat vir die toename in sintese van bindweefselkomponente verantwoordelik is.

In die gehipertrofeerde blaas kon 'n toename in die totale hoeveelheid DNA (genetiese materiaal) aangetoon word. Volgens navorsing wat op gladdespier wat aan verhoogde werkslading blootgestel is gedoen is, kan die verhoogde DNA waardes geïnterpreteer word as 'n teken van hiperplasie.<sup>3,35</sup>

Die gladdespiersel is 'n multipotensiële struktuur wat oor die vermoë beskik om kollageen (tipe I), elastien en mikrofibrillêre proteïene te sintetiseer.<sup>49</sup> Mitotiese seldelings is in 'n studie deur Leblond *et al.*<sup>50</sup> in die diep, maar nie die oppervlakkige lae van die blaasepiteel in die rot en ander spesies waargeneem.

## 5. Kollageen

Histologiese veranderinge wat volg op distensie van die detrusor sluit onder andere infiltrasie van spierbondels deur bindweefselemente in.<sup>38,41,48,51,52</sup> Die bindweefselemente, in die vorm van kollageen<sup>38,39,40,41,51,52,53,54,55</sup> en elastiese vesels,<sup>41,52,53,55</sup> kom binne en rondom die detrusor spierbondels in die verwyde intersellulêre spasies<sup>53</sup> voor. Tot so 'n mate, dat in sommige spierbondels elke gladdespiersel van 'n ander geskei word deur bindweefsel,<sup>38,52</sup> of totaal, of gedeeltelik deur die digte matriks van bindweefselemente vervang word.<sup>51</sup> Weens 'n toename in die proteïensintetiserende elemente binne die detrusorspierselle, kom dit voor asof bindweefselemente (byvoorbeeld kollageen) wat geleidelik die blaaswand infiltreer in respons op verlengde periodes van obstruksie, deur gladdespierselle vervaardig word.<sup>38,39,40,56</sup> Dit kom veral in die afwesigheid van fibrosiete voor.<sup>40</sup> Die hipotese word ondersteun deur die sintese van kollageen deur gladdespier in die ingewande<sup>40,56</sup> en die erg getrabekuleerde blaas, veral na vergroting van die prostaat.<sup>40</sup> Cullen *et al.*<sup>57</sup> noem dat inflammatoriese letsels in ander

dele van die liggaam kan lei tot die vorming van kollageen in die omringende weefsel.

Mayo en medewerkers<sup>54</sup> bevind in die studie van die blaas in die konyn dat slegs 'n enkele episode van oordistensie van die blaas voldoende is om vorming van intersellulêre kollageen te stimuleer. Na uitrekking is die hoeveelheid kollageen in die blaaswand proporsioneel tot die aanvanklike skade aan die blaaswand.<sup>54</sup> In meeste van die geobstrueerde blase, kom 'n toename in vorming van kollageen in die subserosa voor, wat dan uitbrei na die spierlaag.<sup>40</sup>

Die totale hoeveelheid kollageen in die detrusor neem vinnig toe en is reeds betekenisvol na tien dae van uitvloei-obstruksie. Na vier maande is die totale toename vyfvoudig. Die totale hoeveelheid kollageen vermeerder, maar die konsentrasie kollageen neem af tot ongeveer een-derde van die aanvanklike konsentrasie. Twee faktore wat bydra tot die afname in die kollageenkonsentrasie word onderskei, naamlik eerstens, die samesmelting van die spierbondels, soos gesien in die studie, wat die relatiewe hoeveelheid kollageenryke interstisiële bindweefsel verminder. Tweedens, die toename in sellulêre grootte, wat die hoeveelheid selmembraan per eenheid spiermassa verminder en dus ook die hoeveelheid basaallamina per eenheid spiervolume. Daar word dus verwag dat die hoeveelheid basaallaminakollageen sal verminder.<sup>39</sup> Daar is bevind dat senuweegeleiding tydens vesikale kontraksie nie deur 'n toename in sellulêre kollageen beïnvloed word nie.<sup>6</sup> Die toename in kollageen veroorsaak dat die blaas minder elasties is, wat weer tot gevolg het dat die kapasiteit van die blaas afneem.<sup>43</sup>

Blaasproteïene en kollageenkonsentrasie is betekenisvol minder in jonger wyfierotte (ses maande) in vergelyking met ouer wyfierotte (vier-en-twintig maande). Die blaaswand van ouer wyfierotte toon betekenisvol hoër konsentrasies kollageen as die in ouer

mannetjiesrotte.<sup>58</sup> Dit is dan ook die beeld in ouer vrouens in vergelyking met ouer mans (ouer as vyftig). Dit kan moontlik 'n verduideliking wees vir idiopatiese blaasinkompetensie wat algemeen in ouer vroue voorkom. Alhoewel prostaatobstruksie, wat lei tot hipertrofie van die detrusor, algemeen onder mans ouer as vyftig voorkom, is die konsentrasie kollageen proporsioneel laer in dié gevalle.<sup>6</sup>

Buiten die kollageenvesels het Gosling en Dixon<sup>48</sup> 'n uitgebreide netwerk van elektrondigte mikrofibrille, waarskynlik aaneenlopend met die basaallamina van die gladdespiersele waargeneem. Uitgebreide hoeveelhede granulêre retikulum kon in enkele gladdespiersele aangetoon word met 'n komplimentêre afname in die hoeveelheid miofilamente.<sup>52</sup>

## 6. Elastiese vesels

Die urinêre detrusor is hoofsaaklik saamgestel uit gladdespier- en kollageenvesels, met 'n fraksie elastiese vesels.<sup>43</sup> Tydens oordistensie kan die toename in elastien<sup>40,42,55</sup> moontlik aan kompensasie vir verhoogde interne druk in die blaas toegeskryf word. Die histologiese struktuur in die geobstrueerde blaas van kinders van ongeveer drie maande ouderdom toon dat buiten die spierhipertrofie wat voorkom, daar 'n toename in elastiese vesels is en dat die vesels nou met die spierelemente geassosieer is.<sup>40,42,55</sup> Dit is duidelik dat die wand van die geobstrueerde blaas, in dié geval, baie ryk in elastiese vesels in vergelyking met die normale is. Die vesels kom verspreid in al die lae, asook tussen die spierelemente voor. Analise van die aminosure het ook getoon dat die elastien in die patologiese orgaan ryk in aminosure, naamlik, aspartiensuur, treonien, serien, glutamiensuur, lisien, histidien en arginien is.

In die volwassene (agt-en-veertig tot sewentig jaar) is die verskil tussen die normale en die chronies geobstrueerde blaas duidelik sigbaar. Elastienvesels kom meer algemeen in die patologiese orgaan voor, terwyl dit in die normale blaas skaars en meer gefragmenteerd is. Kwantitatiewe bepaling wat die toename in elastien aantoon, toon 'n toename van 30% tot 35%.<sup>55</sup>

#### 7. Intersellulêre hegtingskomplekse

Hoogs ontwikkelde aansluitings tussen die selle is 'n prominente eienskap van normale spierselle. Daar kan verwag word dat akute oordistensie van die blaas hierdie strukture sal versteur.<sup>19</sup>

In die kontrole (ongerekte) blaas kom fokale areas van verdikking<sup>19,23</sup> voor. Twee tipes hegtingskomplekse<sup>19,22</sup> tussen naasliggende selle in die blaas kan daar waargeneem word.

Tipe I word gevorm deur aposisie<sup>5,22</sup> van die opponerende selmembrane/lamellae van een sel met dié van die volgende sel oor 'n afstand van 0,1 tot 0,3  $\mu\text{m}$ . Oor hierdie afstand is die basaallamina van elke sel afwesig en is membrane van die gladdespierselle ontdaan van enige gespesialiseerde eienskappe. Hierdie tipe aansluiting staan bekend as 'n "close junction" en kom relatief min in die detrusor voor.<sup>22</sup> Die tipe hegtingskompleks soos beskryf deur Lloyd-Davies *et al.*<sup>19</sup> verskil van die komplekse soos reeds beskryf, in dié sin dat hierdie komplekse gevorm word deur fusie van die buitenste lamellae van die opponerende selmembrane met geen intersellulêre spasie tussen-in nie (Nexus van Dewey). Hierdie aansluitings toon 'n soortgelyke voorkoms as dié van die zonula occludens in epiteelselle.<sup>19</sup> In die akuut oorgedistendeerde blaas bly hierdie kontakpunte intakt.<sup>5</sup>

Die tweede, en ook dié tipe hegtingskompleks wat die meeste voorkom, word gekenmerk deur ophoping van elektrondigte materiaal onder die membrane van opponerende gladdespierselle.<sup>22</sup> 'n Gaping van 50 tot 60 nanometer (nm)<sup>19,22</sup> skei die membrane, waarbinne 'n enkellaag basaallamina altyd waargeneem kan word<sup>22</sup>. Lloyd-Davies *et al.*<sup>19</sup> noem dat fyn fibrille sowel as enkele kollageenvesels binne die gaping waargeneem kan word. Hierdie tipe staan as 'n intermediêre aansluiting bekend.<sup>5,22</sup> Volgens Gosling *et al.*<sup>22</sup> en Lloyd-Davies *et al.*<sup>19</sup> is geen van die komplekse deur 'n akute episode van distensie (oor 'n drie uur tydperk) aangetas nie. Lloyd-Davies *et al.*<sup>19</sup> meld dat in enkele gevalle, die verdikte deel van die plasmamembraan eerder naasliggend as teenoor die verdikking van die volgende sel geleë is, wat aanduidend kan wees dat die komplekse "gegly" het. Hierdie verskuiwing is ook in enkele gevalle in normale selle waargeneem.

Tydens oordistensie van die blaas is akute disrupsie van die neksus-tipe intersellulêre aansluitings, met sekondêre intersellulêre fibrose,<sup>23,46</sup> veroorsaak deur kollageen neerlegging en verplasing van naasliggende selmembrane, deur Lloyd-Davies *et al.*<sup>23</sup> aangetoon. Volgens Gosling *et al.*<sup>22</sup> vergelyk hierdie tipe neksus aansluiting met die intermediêre aansluitings soos deur hom en sy medewerkers beskryf, en noem verder dat die verplaasde naasliggende membrane soos deur Lloyd-Davies *et al.* beskryf, in beide uitgerekte sowel as kontrole blase voorkom.<sup>22</sup>

Meyer *et al.*<sup>7</sup> toon in 'n voorlopige studie oor die geobstrueerde detrusor in die vark dat bewys gevind is dat daar 'n afname<sup>7,8,18,42</sup> in die getal aansluitings, in beide die totale selmembraanoppervlak en die volume gladdespierselle voorkom. Die afname kan moontlik aan twee faktore toegeskryf word, naamlik, of 'n afname in die absolute getal aansluitings, of dat tydens hipertrofie, die relatiewe voorkoms van aansluitings per oppervlak verminder, sonder om noodwendig die aantal per sel te verminder. Afname in



die getal sal noodwendig die effektiwiteit van kontraktiliteit in die detrusor aantas, veral waar gladdespier deur verwyde intersellulêre spasies geskei word.<sup>18</sup>

#### 8. Intersellulêre spasies

Die spasies tussen die individuele selle van die detrusor in mammalia varieer volgens spesie en die status van die aktiwiteit waarby die detrusor betrokke is.<sup>7</sup> In normale spierselle is selmembrane van naasliggende selle dig by mekaar geleë.<sup>19</sup> Dit kan beperkte hoeveelhede elektrondigte materiaal bevat, maar kom normaalweg leeg voor. Verwyde intersellulêre spasies gevul met kollageen,<sup>7,19</sup> en/of elastien is al beskryf.<sup>7</sup> Uvelius *et al.*<sup>35</sup> kom tot die gevolgtrekking dat die intersellulêre spasies nie progressief verwyd in ooreenstemming met die duur van obstruksie nie, maar dat die verwyde gapings wel progressief gevul word met 'n elektrondigte materiaal. Dit kan met 'n basaallamina<sup>7,18</sup> vergelyk word en bevat slegs af en toe kollageen en elastien.<sup>7</sup>

#### 9. Fibroblaste

Toename in die getal fibroblaste en miofibroblaste, sonder morfometriese bewys, is in 'n studie deur Clermont<sup>7</sup> beskryf.

#### 10. Vaskulariteit

*In vivo* studies gedoen deur Mehrotra<sup>59</sup> toon dat daar 'n duidelike afname in bloedvloei in die blaaswand na ligatuur van die uretra gevind is. Binne vier-en-twintig uur is die veranderinge uitgesproke met bloeding in die lumen. Na agt-en-veertig uur is daar bykans algehele vaskulêre inkorting in sekere gebiede in die blaaswand. Finkbeiner<sup>60</sup> het uit

navorsing op honde bevind dat daar na 'n twee-uur distensie van die blaas, 'n afname van 25% tot 30% in bloedvloei in elk van die drie vloeikompartemente, naamlik, mukosa, muskulêre laag en totale blaas, voorgekom het. Die persentasie afname is bykans identies in elke kompartement, wat 'n aanduiding is dat herdistribusie van bloedvloei nie tydens distensie voorkom nie. Nemeth<sup>61</sup> bevind dat daar geen verskil in bloedvloei tussen die verskillende oppervlaktes wat gemeet is, naamlik, trigonum en koepel, in die uitgesette blaas voorkom nie.

Boley en medewerkers<sup>62</sup> meld dat die meganisme waardeur distensie intestinale bloedvloei laat afneem nie duidelik omskryf kan word nie. Een teorie behels eenvoudige kompressie van kapillêre vate, terwyl 'n ander veronderstel dat refleksveranderinge weens intrinsieke neuronale meganismes voorkom.

Hellstrand en medewerkers<sup>63</sup> meld dat fisiologiese veranderinge in  $pO_2$  die miogene aktiwiteit van vaskulêre gladdespier hoofsaaklik deur wysigings op membraanvlak beïnvloed, en dat die meganisme die lokale beheer van bloedvloei kan beïnvloed. Hulle noem ook verder dat die effek van hipoksie op die elektriese en meganiese aktiwiteite moontlik nie direk met 'n afname in adenosien-tri-fosfaat (ATP) verband hou nie. Dit kan moontlik wees dat veranderinge in die membraanaktiwiteit deur 'n afname in intrasellulêre pH veroorsaak kan word, sekondêr tot verhoogde melksuurproduksie.

#### D. Estrogeen

Embriologies het die urinêre blaas 'n dubbele ontwikkeling. Die koepel, fundus en laterale wande neem oorsprong vanaf die urogenitale sinus, terwyl die trigonum en blaassfinkter

dieselfde oorsprong as die inferior derde van die vaginale wand het, en die vermoë om op steroïedhormone te reageer, behou.<sup>64,65,66,67</sup> Die voorkoms van degeneratiewe en ander toestande van die urienweë verhoog met ouderdom, veral min of meer tydens die menopouse.<sup>68</sup> Die insidensie, onder alle ouderdomme, is hoër onder vroue as mans.<sup>14</sup> Dit is tydens die menopouse dat die vagina opmerksame atrofiese veranderinge, onder andere verdunning van die epiteel, toon. Elastisiteit neem mettertyd af en die vagina verminder gevolglik in grootte. Die epiteel van die trigonum van die blaas en uretra word ook deur atrofiese veranderinge in die vagina geaffekteer.<sup>65</sup>

Hoë-affiniteit estrogeenreseptore is in die blaas, trigonum, uretra en vaginale epiteel in die vrou geïdentifiseer.<sup>13,68,69,70</sup> Saunders *et al.*<sup>71</sup> bevestig ook die teenwoordigheid van estrogeenreseptore in 'n verskeidenheid van weefsels in die rot, en spesifiek ook intense verteenwoordiging in die epiteelselle van die blaas en kerne van gladdespierselle.<sup>71,72</sup> Weens differensiële verspreiding van die estrogeenreseptore in die blaas, kan daar verwag word dat die basis van die blaas, die trigonum en die uretra meer sensitief vir estrogeen afname of vervanging sal wees as die res van die blaas. Dit mag aanleiding gee tot 'n toename in inkontinensie in ouer vrouens, omdat postmenopousale afname in estrogeenvlakke kan lei tot afname in die weefselmassa waarin die hoogste konsentrasie estrogeenreseptore voorkom. Omdat die uretra dié belangrikste urinêre sfinkter in die vrou is, sal die afname in die dikte van die wand, 'n afname in sluitingsdruk met gevolglike urinêre inkontinensie tot gevolg hê.<sup>13</sup> Bydraend tot inkontinensie kan ook 'n gebrek aan mukosale funksionering wees.<sup>73</sup>

In postmenopousale vroue word stres-inkontinensie dikwels deur middel van estrogeen behandel.<sup>13,65,67,70,73,74,75,76</sup> Studies het getoon dat die blaas wel 'n teikenorgaan vir veranderinge in estrogeenvlakke kan wees.<sup>77</sup> Estrogeenhormone verhoog die kontraktiele

krag van die basis van die blaas en die uretra selfs na 'n relatiewe korttermyn toediening.<sup>75</sup> Toediening van estrogeenhormone mag ook proliferasie van die mukosa (veral van die uretra),<sup>13,73</sup> en daarmee saam die vermoë om weerstand teen uitvloei te bied, veroorsaak.<sup>73</sup> Toename in die vermoë van gladdespier, die elastiese weefsel en die submukosale vaskulêre komponente, onder andere die submukosale uretrale veneuse pleksus, kom voor.<sup>13,65,87,78</sup> Ander positiewe effekte sluit proliferasie van die urogenitale epiteel ook in.<sup>78</sup>

Eika *et al.*<sup>14</sup> bevind dat blase van rotte, waarop 'n oöwarektomie uitgevoer is, aansienlik minder weeg en dat die kollageenkonsentrasie hoër is as in dié van intakte blase. Die verhoogde kollageen neerlegging tussen die spierselle mag die funksionele vermoë van die laer dele van die urienweë beïnvloed. Die kollageeninhoud is betekenisvol hoër in vrouens ouer as vyftig vergeleke met mans van dieselfde ouderdom.

Urinêre frekwensie, drangurie, disurie en inkontinensie kan in ouer vroue voorkom sonder enige teken van die teenwoordigheid van 'n organiese siektetoestand of anatomiese defekte van die urienweë. Salmon *et al.*<sup>66</sup> meld dat een gemene faktor uitstaan, naamlik 'n morfologiese aanduiding van 'n estrogeengebrek. Atrofiese veranderinge keer dan ook terug sodra estrogeenbehandeling gestaak word.<sup>66,68</sup>

Verlengde deprivasie van estrogeen veroorsaak 'n opmerksame afname in die bloedvoorsiening na die vagina, met atrofie van die spierkomponent en mukosa van die vagina. Daar kan verwag word dat die veranderinge ook die blaassfinkter direk of indirek sal beïnvloed.<sup>66</sup>

Estrogeen het veelvuldige effekte op die funksie van gladdespier. Dit is, onder andere, van belang by die werking van vaskulêre gladdespier en die regulering van bloedvloei na 'n orgaan, en kan 'n direkte of indirekte invloed op die vaskulariteit van die orgaan uitoefen. 'n Verhoogde reaktiwiteit en kontraktiele kapasiteit word deur estrogeen in die gladdespier van die miometrium veroorsaak. Die effek wat estrogeen op ander gladdespierweefsel uitoefen, is nog nie bestudeer nie.<sup>79</sup>

Groei van leiomiome, of miome van ongestreepte (gladde) spierwesels, in die uterus, is estrogeenafhanklik.<sup>80,81,82</sup> Daar is eksperimenteel aangetoon dat die afname in grootte van die miome na behandeling met 'n daling in estrogeenvlakke, direk verband hou met die afname in bloedvloei na die tumor. Die tumorweefsel is nie geabsorbeer nie, maar het wel gekrimp.<sup>80</sup>

'n Tipiese leiomioom is saamgestel uit bondels verlengde gladdespierweefsel met 'n variërende hoeveelheid kollageen en bloedvate. Weefsel toon sameklomping van selkerne en 'n digte sellulêre voorkoms sonder enige atipiese kerne of mitotiese aktiwiteit na behandeling en daling in estrogeenvlakke. Toename in die getal inflammatoriese selle, veral limfosiete, kan ook tot die abnormale getal kerne in die weefsel bydra. Ander strukturele selveranderinge sluit, onder andere minimale residuele miofibrille, wat gedisorganiseer in die sitoplasma kan voorkom, onderbreking van die selmembraan met verlies en beskadiging van selorganelle, enkele vakuole in die sitoplasma, lisosomale strukture en limfosiet infiltrasie, in.<sup>83</sup>

## DOEL VAN DIE STUDIE

Die doel van die studie behels die volgende:

1. 'n Ondersoek na die histologiese veranderinge wat intermitterende korttermyn distensie op die rotblaas het.
2. Die effek wat 'n afname in estrogeen tydens intermitterende korttermyn distensie op die histologiese beeld van die rotblaas mag hê.
3. Om 'n vergelyking te kan tref tussen die voorkoms van histologiese veranderinge in 'n akute uitgerekte blaas en die veranderinge wat tydens korttermyn intermitterende distensie voorkom.
4. 'n Loodsstudie van die effek wat distensie van die blaas op enkele biochemiese waardes mag hê.

## MATERIALE EN METODEDES

### A. Etiese goedkeuring en Befondsing:

Etiese goedkeuring vir die studie is op 19 Junie 1996 vanaf die Etiese komitee van die Fakulteit Geneeskunde van die Universiteit van Pretoria verkry. Die studie is uitgevoer in samewerking met Dr. Chaparo en die personeel van die Pretoria Biomedical Research Centre (HA. Grové Proefdiersentrum). Tydens die uitvoering van die oöwarektomies op die rotte was Mnr. Jaap Visser van Onderstepoort in 'n raadgewende hoedanigheid betrokke. Die oöwarektomies is met medewerking van Prof JH Meiring van die Departement Anatomie aan die Fakulteit Geneeskunde van die Universiteit van Pretoria uitgevoer. Etiese goedkeuring is daarvoor verkry.

Befondsing vir die studie is vanaf NAVKOM afkomstig.

**B. Materiale:**

1. Proefdiere

Sprague-Dawley wyfierotte is gebruik.

- a. Vir die **Loodsstudie**, is vyftien rotte gebruik.
- b. Vir elk van die eksperimentele groepe, dit wil sê **Fase I** en **Fase II** is dertig rotte gebruik. In totaal is vyf-en-sewentig rotte in die studie gebruik.

Tydens **Fase I** van die studie is hoofsaaklik van dertig ouer wyfierotte wat nie langer geskik is vir teeltoeleindes nie, gebruik gemaak. Tydens **Fase II** van die studie is van dertig jonger (ongeveer sewe maande oud) wyfierotte gebruik gemaak, van wie die ovaria verwyder is en 'n "vals" menopouse teweeggebring is.

Volgens Kalu<sup>84</sup> is die lewensverwagting van rotte, afhangend van die tipe rot wat gebruik word, ongeveer drie tot vier jaar. Volgens dié navorser is die gepasde ouderdom om veranderinge weens die verlies van estrogeen na 'n oöwarektomie te bestudeer, tussen die ouderdomme van drie weke en twee jaar. Na twee jaar is die rotte te naby die ouderdom waar hulle totaal anovulatories raak, met 'n verhoogde insidensie van siektes. Daar is reeds vanaf ongeveer tien maande ouderdom veranderinge vanaf reëlmatige na onreëlmatige siklusse in die estrussiklus van rotte. Die periode waartydens die rotte onreëlmatige siklusse ervaar beslaan 'n relatiewe groot deel van die rot se lewensverwagting. Voldoende estrogeen word wel tydens hierdie periode afgeskei en die rot met 'n



oöwarektomie is 'n uitstekende model om die effekte van estrogeen deprivasie op weefsel te bestudeer, wat goed vergelykbaar is met die effekte van hormoongebrek in die postmenopousale vrou.

## 2. Narkose

Ethane (Enflurane) is in 'n oop sisteem as narkosemiddel gebruik.

## 3. Oplossings en Reagense

Vir sterilisasie van die ventrale abdominale wand voor verwydering van die blaas, die dorsale liggaamswand voor verwydering van die ovaria, en die eksterne uretrale opening voor kateterisasie, is Chloorheksidien Glukonaat in 'n 1:2000 oplossing in water (Hibitane in water) gebruik.

Gedurende kateterisasie is die kateters in die Hibitane oplossing gehou. Om kateterisasie te vergemaklik, is 'n gliserienlubrikeermiddel (KY-jellie 11.25 gram (g.)/100g) gebruik. Distensie van die blaas is verkry deur 'n fisiologiese soutoplossing (NaCl 0,9%), teen liggaamstemperatuur, versigtig via die kateter in die blaas in te spuit. Na kateterisasie is Terramycin oftalmiese salf (PFIZER: Oksitetrasiklien hidrokloried en Polimiksien B sulfaat) op die eksterne uretrale opening en die wonde, veroorsaak deur die tabaksaksteek wat in die vel rondom die eksterne uretrale opening geplaas is, aangewend.



4. Kateter

'n Teflon kanule (Jelco 22) is gebruik. Die kateter is gedurende distensie deur 'n twee-rigting klep afgesluit.

5. Hegtingsmateriaal

Steriele Nylon hegtingsmateriaal (Ethilon 6/0) met 'n 16 millimeter (mm.) naald.

**C. Metodes:**

1. Narkose

Narkose is geïnduseer deur elke rot in 'n 1000 milliliter (ml.) geslote houer met Ethrane te plaas. Die dosis Ethrane waarvolgens die narkose geïnduseer is, is bepaal deur die tegniese assistent by die Pretoria Biomedical Research Centre. Instandhouding van die narkose gedurende die prosedure is met behulp van Ethrane in 'n oop sisteem bewerkstellig. Dit het bestaan uit 'n plastiëktregter met 'n wattlepluisie, in die apeks van die tregter, wat met Ethrane besprinkel is. Die buis is in 'n wisselende mate oor die kop van die rot geplaas om sodoende die narkosevlak te reguleer. Direk na narkose is die rot wakker gemaak (indien die rot nie direk na die prosedure getermineer is nie).

2. Kateterisasie

Die wyfierotte in elk van die eksperimentele groepe, dit wil sê **Fase I** en **Fase II** vir distensie van die blaas en verkryging van detrusor monsters, is genommer van een tot dertig en in dié volgorde gekateteriseer en getermineer.

Die rot is deur die hele prosedure in 'n rugliggende posisie gehou met die ventrale abdominale wand blootgestel. Die eksterne uretrale opening en omringende abdominale wand is met Hibitane in water skoongemaak en chirurgies steriel afgedek. 'n Tabaksaksteek (Nylon 6/0) is in die vel rondom die eksterne uretrale opening geplaas (Fig. 1). Die rot is gekateteriseer, en met die kateter in posisie is die tabaksaksteek toegetrek en stewig geknoop (Fig. 2). Dit het voorkom dat die

kateter mag uitglip, asook dat die soutoplossing in die blaas verby die kateter mag lek en die druk sodoende in die blaas verminder. Die steek is verwyder deur dit met 'n skerppunt skêr los te knip voordat die kateter uit die blaas en uretra getrek is.

Nadat die rot gekateteriseer is, is 1 ml. fisiologiese soutoplossing (teen liggaamstemperatuur) versigtig via die kateter in die blaas gespuit (Fig. 3). Volgens Guan *et al.*<sup>85</sup> wat met die Long-Evans tipe rot eksperimenteer, is die normale blaasvolume van 'n rot met 'n massa tussen 275 g. tot 433 g. ongeveer 1 ml. Die gemiddelde massa van die Sprague-Dawley wyfies het tussen 200,4 g. tot 230,4 g. varieer. Nadat ons eksperimenteel bepaal het dat volumes groter as 1 ml., naamlik, 1,25 ml. en 1,5 ml., uitgesproke hematurie teweeggebring het, is daar besluit dat 'n volume van 1 ml. in die geval voldoende sal wees om distensie van die blaas teweeg te bring (fig. 4). Gevul met slegs 1 ml. fisiologiese soutoplossing was die blaas baie maklik op die ventrale abdominale wand palpeerbaar.

Met die uitgesette blaas is die spuit en kateter in posisie gelaat vir vyf minute. Na vyf minute is die spuit ontkoppel, die blaas toegelaat om natuurlik deur die kateter te dreineer en die tabaksaksteek en kateter verwyder, soos bo beskryf. Terramycin oftalmiese salf is op die eksterne uretrale opening en die omringende velwonde geplaas.

Die rotte is onder observasie gehou vir enige nuwe-effekte van die narkose en kateterisasie.



Fig 1 Tabaksaksteek in posisie voor kateterisasie.



Fig 2 Kateter word in posisie gehou met 'n tabaksaksteek.



Fig 3 Blaas gevul met ongeveer 1 ml van 'n normale soutoplossing.



Fig 4 Naby-aansig van die uitgesette blaas.



Fig 5 Blaas word uitgesny.

3. Kateterisasieskedule vir elk van **Fases I** en **II** van die studie

Dag 1:           Kateteriseer dertig rotte  
Geen rotte is getermineer nie

Dag 3:           (twee dae later)  
Kateteriseer dertig rotte  
Twee rotte is getermineer (30 en 29)

Dag 5:           (twee dae later)  
Kateteriseer agt-en-twintig rotte  
Twee rotte is getermineer (28 en 27)

Hierdie skedule is gevolg totdat die laaste twee rotte getermineer is.

4. Eksisie van die blaas vir elk van **Fases I** en **II** van die studie

Wanneer 'n betrokke rot getermineer sou word, is die Ethrane toediening verhoog deur die kop van die rot dieper in die tregter met Ethrane in te plaas om sodoende 'n oordosering te bewerkstellig. Die rot is in die rugliggende posisie gehou en die ventrale abdominale wand is met Hibitane in water skoongemaak. 'n Omgekeerde V-vormige abdominale snit, wat vanaf die xifisternum inferolateraal strek, is deur die vel, abdominale wandspiere en die peritoneum gemaak. Die voldikte abdominale wand is na inferior teruggeflap en die blaas, steeds in distensie, geïdentifiseer (Fig. 4).

Die blaas is losgedissekteer vanuit die vet en omringende fassia en 'n snit is op die vlak van die blaasnek gemaak om die blaas te verwyder en te prosesseer (fig. 5).

5. Oöwarektomie vir **Fase II** van die studie

Narkose is toegedien soos beskryf vir **Fase I** van die studie. Tydens dié fase van die studie is 'n bilaterale oöwarektomie via 'n dorsale benadering<sup>85,86</sup> suksesvol op dertig wyfierotte uitgevoer. 'n Mediane lae onderbuik insisie is gemaak en die ovaria geïdentifiseer. Beide ovaria is daarna uitgedissekteer. Omringende bloedvate is gekouteriseer. Nylon 6/0 hegtingsmateriaal is gebruik om die vel te heg.

6. Prosesering van die blaas

a. **Histologie (Ligmikroskopie)**

i. Fiksering en snitte.

Die blaasweefsel is onmiddellik na eksisie vir elk van **Fase I** en **Fase II** in pikriensuur (Bouin's) en gluteraldehyd gefikseer en volgens roetine metode geprosesseer. Sewe mikrometer (7  $\mu\text{m}$ .) snitte is gesny. Tydens **Fase II** van die studie (m.a.w. na verwydering van die ovaria) moes die snitdikte vir die laaste twee rotblase na tien mikrometer (10 $\mu\text{m}$ ) gewysig word. Die weefsel was besonder breekbaar ("fragile") en dunner snitdiktes was nie geskik nie. Dit is 'n eienskap van weefsel waar daar 'n estrogeengebrek voorkom, byvoorbeeld, in fibromiome in die uterus.

ii. Kleuringstegnieke.

Verskeie kleuringstegnieke is gebruik om die histologie van die blaasweefsel te bestudeer.<sup>87</sup> Kleuringstegnieke vir ligmikroskopie vir beide **Fase I** en **Fase II** was dieselfde. (Gedetailleerde uiteensetting van hierdie tegnieke is beskikbaar in bylaag A.)

a. Om die algemene histologie en die teenwoordigheid van algemene bindweefsel te bestudeer, is Hematoksillien en Eosien (H&E) en Masson-trichroom kleurings onderskeidelik gebruik.



- b. Von Gieson en Weigert se kleuringsmetodes is onderskeidelik gebruik om die teenwoordigheid van kollageen- en elastiese vesels te bepaal.
- c. Die teenwoordigheid van 'n basaalmembraan is bepaal met die Perjoodsuur Schiff-metode (PAS).
- d. Met behulp van 'n gewysigde MSB-tegniek, waardeur fibrien spesifiek gekleur kan word, is die teenwoordigheid en ouderdom van die fibriestolsels gedemonstreer. Hierdie metode, beskryf deur Lendrum *et al.*<sup>88</sup> gebruik Martiusgeel, "Brilliant crystal" rooi en Metielblou om tussen jonger en ouer fibrienneerslae te onderskei. Die rooi en blou kleurstowwe is onderskeidelik met "Ponceau de Xylidine" en "Fast green FCF" vervang. Deur hierdie metode kleur jong fibrien geel, volwasse fibrien rooi en baie ou fibrien, blou.
- e. Die gewysigde Von Gieson-tegniek, soos beskryf deur Clarke<sup>88</sup> is gebruik om tussen jong en volwasse kollageenvesels te onderskei, maar met beperkte sukses. Tydens hierdie tegniek word 'n mengsel van Naphtolgeel-, Suurfuchsien- en Trypanblou-oplossings gebruik en is veronderstel om fyn vesels blou en groter vesels rooi te kleur.

b. **Histologie (Elektronmikroskopie)**

i. Fiksering en snitte.

Weefselblokke (1 x 3 mm<sup>2</sup>) is vir vier-en-twintig uur in 2,5% gebufferde Gluteraldehyd (pH 7,3) gefikseer. Die blokke is daarna in 'n 0,1M Fosfaatbuffer (pH 7,3) vir vyf minute teen 4°C gewas. Na-fiksasie is met gebufferde Osmiumtetroksied (OsO<sub>4</sub>) teen 4°C vir een uur gedoen. Daar is spesifiek daarop gelet dat alle weefsel deur presies dieselfde fikseermetode geprosesseer is.<sup>89</sup> Nadat die weefsel gewas is, is die blokke in 'n reeks gegradeerde alkoholoplossings gedehidreer en volgens Luft se metode in Araldiet ingebed.<sup>90</sup> Dun seksies (70 tot 90 nm.) is met behulp van 'n Reichert-Jung OMU2 ultramikrotoom gesny.

ii. Kleuringstegnieke.

Seksies is met uranielasetaat (UrAc) vir vyf-en-veertig minute en loodsitraat vir 3 minute (teen kamertemperatuur) gekleur, en met 'n Phillips 301S-elektronmikroskoop besigtig.<sup>89</sup>

7. Estrogeenvlakke:

Volgens Kruger en Claassen,<sup>91</sup> daal die estrogeenvlakke na 'n bilaterale oöwarektomie na tien dae tot so 'n mate, dat dié vlakke die verlaagde vlakke tydens die menopouse weerspieël. Vir doeleindes van die studie is die rotwyfies na die oöwarektomie vir twintig dae gelaat voordat **Fase II** van die studie hervat is.

Volgens Wronski *et al.*<sup>92</sup> is die estradiolkonsentrasie in die kontrolerotte (Sprague-Dawley) van agt-en-sewentig dae ouderdom (ongeveer drie maande)  $42.8(9) \pm 20.2$  pg/ml. Die reikwydte in die waardes kan toegeskryf word aan die feit dat al die rotwyfies nie in dieselfde fase van die estrussiklus verkeer nie. Kontrole waardes wat na die oöwarektomies gedoen is toon dat die hormoon bykans nie waarneembaar ( $<10$  pg/ml) is nie, wat volgens die outeurs die sukses van die oöwarektomie bevestig.

8. Dieet:

Die rotte het 'n normale dieet gevolg, volgens die protokol van die Pretoria Biomedical Research Centre. Geen dieetaanpassings is pre- of postoperatief gedoen nie.

10. Estrogeenaanvulling:

Geen estrogeenaanvulling is voor of na die oöwarektomies op die rotwyfies gedoen nie.

**D. Loodsstudie:**

Voor die aanvang van die hoofstudie met eksperimentele groepe (Fases I en II), is 'n kort **Loodsstudie** met vyftien wyfierotte gedoen om die uitvoerbaarheid van die tegnieke wat tydens die studie gebruik is, te bepaal. Tydens die loodsstudie is ook gekyk na enkele biochemiese veranderinge wat deur die studie aangetoon kan word.

Biochemiese veranderinge tydens oordistensie van die blaaswand sluit, onder andere, 'n afname in ATP in, weens verminderde oksigenasie van die weefsel tydens distensie van die blaas. Afname van meer as 90% in die intrasellulêre konsentrasie van ATP na sestig minute van akute anoksie is opgemerk. Hierdie veranderinge is egter volledig omkeerbaar na ongeveer sestig minute nadat die obstruksie opgehef is.<sup>93</sup>

Lapides *et al.*<sup>94</sup> toon in 'n studie oor die effek van distensie op die blaaswand in vroue dat bloedvloei na die blaas verminder kan word deur verhoogde vesikale druk en/of oordistensie van die blaas. Lawson *et al.*<sup>95</sup> het opgemerk dat submukosale en mukosale bleedings en trombose in akuut uitgerekte blase voorkom.

In die loodsstudie is op die urokinase-inhoud van die normale en uitgerekte blaas gefokus. Daar is gepostuleer dat die urokinase-aktiwiteit sal afneem met intermitterende oordistensie van die blaas. Die rede daarvoor is dat intermitterende oordistensie 'n toename in fibrose in die blaaswand tot gevolg het, wat bloedvloei na die wand sal beperk. 'n Afname in plasminogeen en urokinase

aktiwiteit kan weens die afname in bloedvloei verwag word.

'n Reeks waardes vir die urokinase-aktiwiteit in die normale blaas, wat ook as 'n kontrolegroep gefunksioneer het, is bepaal. Die metode wat gebruik is om die urokinase-waardes te bepaal is die gemodifiseerde metode van Wiman *et al.*<sup>96</sup> Die prosedure wat gevolg is vir die kateterisasie en terminasie van die rotte is soos beskryf vir Fases I en II van die eksperimentele groepe van die hoofstudie.

1. Materiale en metodes:

Die **Loodsstudie** het veertien dae geduur. Vir die studie is vyftien Sprague-Dawley wyfierotte in totaal gebruik.

Vir die eerste reeks waartydens die bepaling van normale urokinase-waardes gedoen is, is **vyf** rotwyfies gebruik. Die ouderdom van die wyfies was ongeveer ses maande. Die massas van die wyfies het tussen 271.0 g. tot 347.2 g. varieer, met die gemiddelde massa 300.86 g. Ethrane is as narkosemiddel gebruik. Die rotte is deur middel van 'n oordosis Ethrane-inhalasie getermineer. Na eksisie van die blaas is die weefsel onmiddelik in 'n geslote houer op ys geplaas.

Vir die bepaling van die tweede reeks waardes, waartydens die rotte se blase daaglik uitgerek is, is **tien** wyfierotte gebruik. Snitte vir ligmikroskopie en elektronmikroskopie is ook tydens die reeks gemaak. Die metode wat tydens narkose en hantering van weefsel gevolg is, is soos bo beskryf. Tydens die reeks is een rotblaas vir die betrokke dag ongerek gelaat en een gerek vir elke twee rotte wat getermineer is.

2. Bepaling van waardes:

Geen statistiese waardes bestaan vir die bepaling van urokinase in die rot nie. Dit was essensieël dat 'n reeks normale waardes bepaal moes word, waarteen enige afwykings gemeet kon word.

**Tabel I: Normale urokinase-waardes (Waardes voor distensie van die detrusor).**

ROT	WAARDE (/mg. Proteïen)
1.	0.096
2.	0.262
3.	0.116
4.	0.121
5.	0.606

Die gemiddelde urokinase-waarde is 0.240/mg. proteïen.

**Tabel II: Urokinase-waardes (na distensie van die detrusor).**

ROT	DAE	ROTTE	UROKINASE AKTIWITEIT/mg.prot.	GEMIDDELD
1	2.	A (gerek)	0.260	
2		B (ongerek)	0.396	0.328
3	4.	A (gerek)	0.263	
4		B (ongerek)	0.216	0.240
5	7.	A (gerek)	0.275	
6		B (ongerek)	0.086	0.181
7	9.	A (gerek)	0.137	
8		B (ongerek)	0.221	0.179
9	14.	A (gerek)	0.131	
10		B (ongerek)	0.064	0.097

3. Resultate

Toename in die urokinase-aktiwiteit is na die eerste drie kateterisasies en terminasies waargeneem, gevolg deur 'n opmerksame afname in aktiwiteit vanaf die vierde tot die laaste kateterisasie. Dit bevestig die argument van 'n afname in mukosale en submukosale bloeding in die uitgerekte blaaswand.

## RESULTATE

### A. Fase I:

Eksperimentele groep van dertig wyfierotte met ovaria intakt. Die wyfierotte is elke tweede dag gekateteriseer, en volgens skedule getermineer. Die doel van **Fase I** van die studie is om 'n reeks ligmikroskopiese en elektronmikroskopiese veranderinge te beskryf waarteen moontlike veranderinge gedurende **Fase II** van die studie gemeet kan word.

#### 1. Histologiese veranderinge:

##### a. **Ligmikroskopie:**

Ligmikroskopiese ondersoek toon die volgende:

##### i. **Kontrole blase:**

- a. Afwesigheid van enige patologie.
- b. Verskillende weefsellae is teenwoordig soos beskryf onder die normale histologie van die blaaswand.

##### ii. **Edeem:**

'n Toename in edeem kon tydens opeenvolgende distensies in die weefsel waargeneem word. Vorming van edeem is vroeg in die reeks opgemerk.



iii. Vaskularisasie:

- a. 'n Toename in vaskularisasie is tydens opeenvolgende distensie in die weefsel waargeneem.
- b. Die toename in vaskularisasie is reeds in weefsel na twee distensies waarneembaar.
- c. Daar is nie net 'n toename in die getal bloedvate waarneembaar nie, maar ook in die relatiewe grootte van die bloedvate.

iv. Limfosietinfiltrasie:

Na distensie is daar 'n toename in limfosietinfiltrasie in beide die oorgangsepiteel en bindweefsel waargeneem.

v. Epiteel:

- a. Na distensie raak die epiteelselle toenemend vanaf die onderliggende lamina propria gedissosieerd.
- b. Perforasie van die epiteellaag met vorming van fibrienstolsels in die skeure was in enkele van die ligmikroskopieskyfies teenwoordig.
- c. Geen verdikking van die epiteellaag is waargeneem nie.
- d. 'n Basaalmembraan kon nie met PAS-tegnieke waargeneem word nie.

vi. Gladdespiersele:

- a. Skeure kon in die gladdespierbondels na ongeveer vyf distensies

waargeneem word.

- b. Na ongeveer agt distensies kon die ontwikkeling van fyn kollageenvesels (Von Gieson) in die skeure in die spierbondels waargeneem word.
- c. In enkele van die ligmikroskopieskyfies was daar na ongeveer tien distensies tekens van die ontwikkeling van 'n addisionele gladdespierlaag net onder die epiteellaag.
- d. Na vyftien distensies was die ontwikkeling van 'n addisionele spierlaag duidelik sigbaar.

vii. Kollageenvesels:

- a. Toename in kollageenvesels is deur die reeks aangetoon.
- b. Toenemende dissosiasie van die bindweefsel vanaf die spierlaag kan waargeneem word.

viii. Vakuole:

Heelwat vakuole is in die weefselmonsters waargeneem, wat ooreenstem met die toename in edeem.

ix. Fibrien:

Met kleuring kon lae in die fibrienstolsels aangetoon word, wat daarop dui dat van die stolsels oor 'n lang tydperk ontwikkel het



- x. Elastiese vesels:
  - a. Elastiese vesels was nie in die kontrole of eksperimentele blaasmonsters sigbaar nie.
  - b. Die enigste elastiese vesels wat waargeneem is, is dié wat in die bloedvate teenwoordig is.

**b. Elektronmikroskopie:**

Ultramikroskopiese ondersoek toon die volgende:

**i. Selmembraan:**

- a. Fokale versteuring van die selmembraan met ekstrusie van die intersellulêre inhoud (Fig. 6). Die uitrekingsvermoë van die blaaswand word ingekort deur die amorf materiaal wat die intersellulêre spasies vul.
- b. Teen dag dertig van die studie is digte apposisie van die selmembrane versteur met verwyding van die spasie.

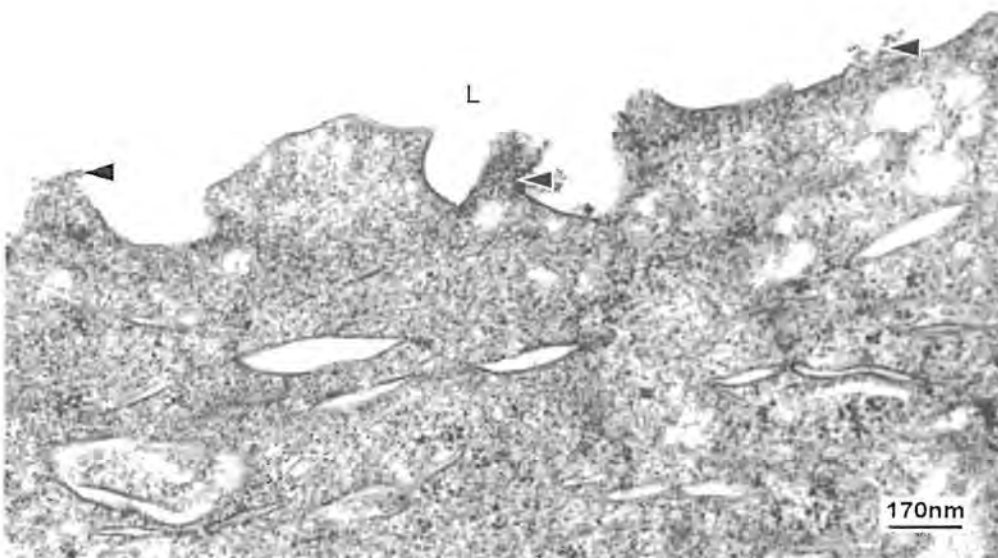


Fig. 6 Losgelate segmente van die selmembraan, met sitoplasmiese inhoud wat in die lumen van die blaas vrygestel word.

ii. Hegtingskomplekse:

- a. Hegtingskomplekse is versteur met sommige van die gapings wyer as normaal (Fig. 7 A en B). Distorsie van die zonula adherens (ZA) en desmosome (D) het na oordistensie voorgekom. Verwyding van die hegingskomplekse verswak die strukturele eienskappe van epitele.
- b. Plaakmateriaal kan in sommige hegingskomplekse waargeneem word (Fig. 7 C).

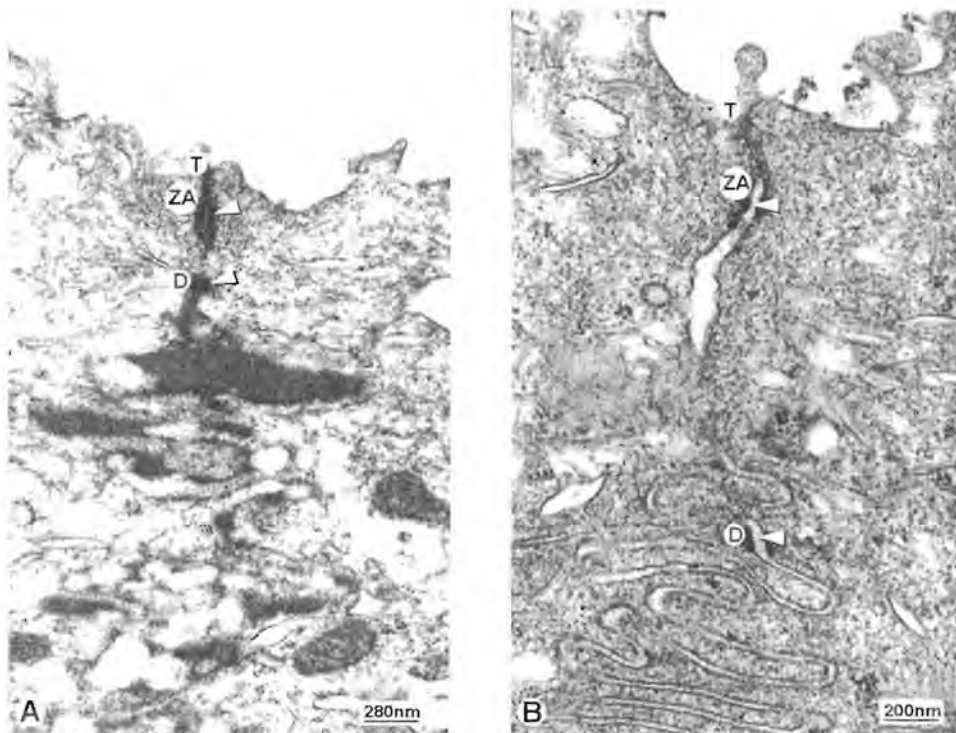


Fig. 7A & B Distorsie van die zonula adherens (ZA) en desmosome (D) na oordistensie. Die zonula occludens blyk intact te wees. (T = tonofibrille). A. Normale voorkoms teen dag 2. B. Versteurde voorkoms teen dag 30.

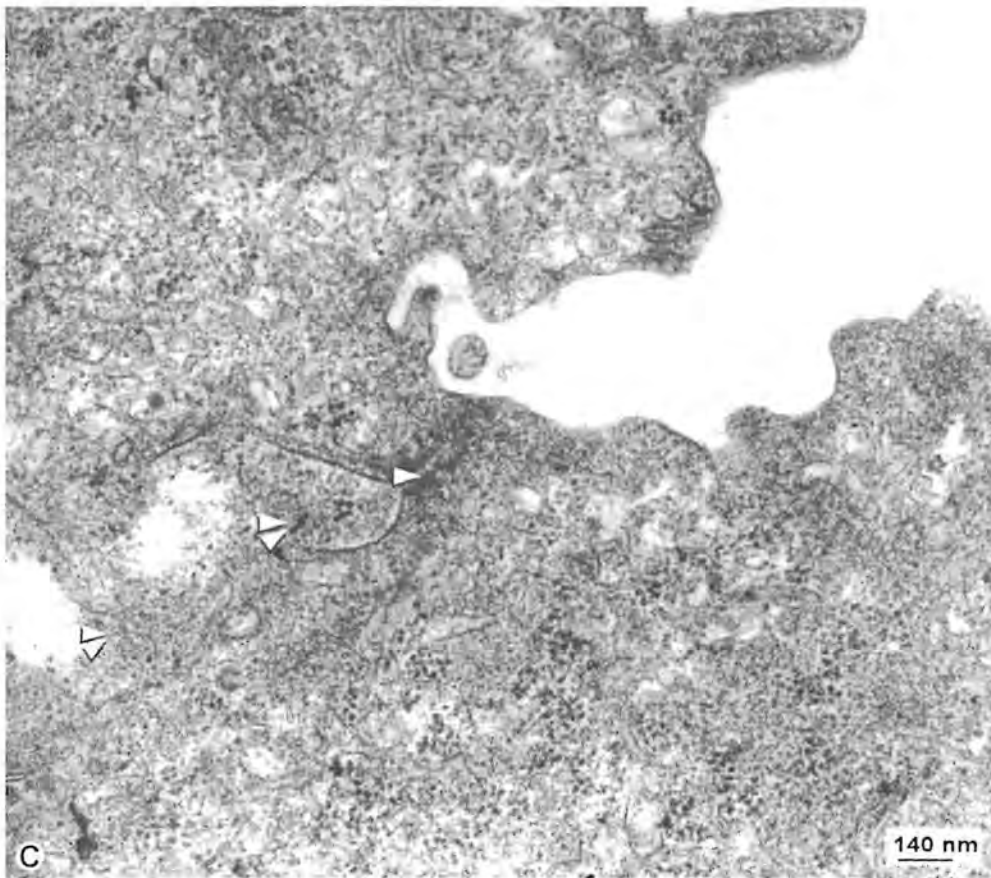


Fig 7C. Plaakmateriaal wat teen dag 30 in die hegtingskomplekse voorkom (pyl).  
Let op na die amorf materiaal in die intersellulêre spasies (dubbele pyle).

iv. Kollageen:

Neerlegging van kollageenvesels in die verwyde intersellulêre spasies blyk bokant die normale te wees.

iii. Sitoplasmiese fibrille:

Teen dag dertig is die netwerk sitoplasmiese fibrille onderliggend aan die selmembraan versteur (Fig. 8 A, B en C). Versteuring van die filamentnetwerk veroorsaak dat die lumenale selmembrane meer geneig is om te skeur.

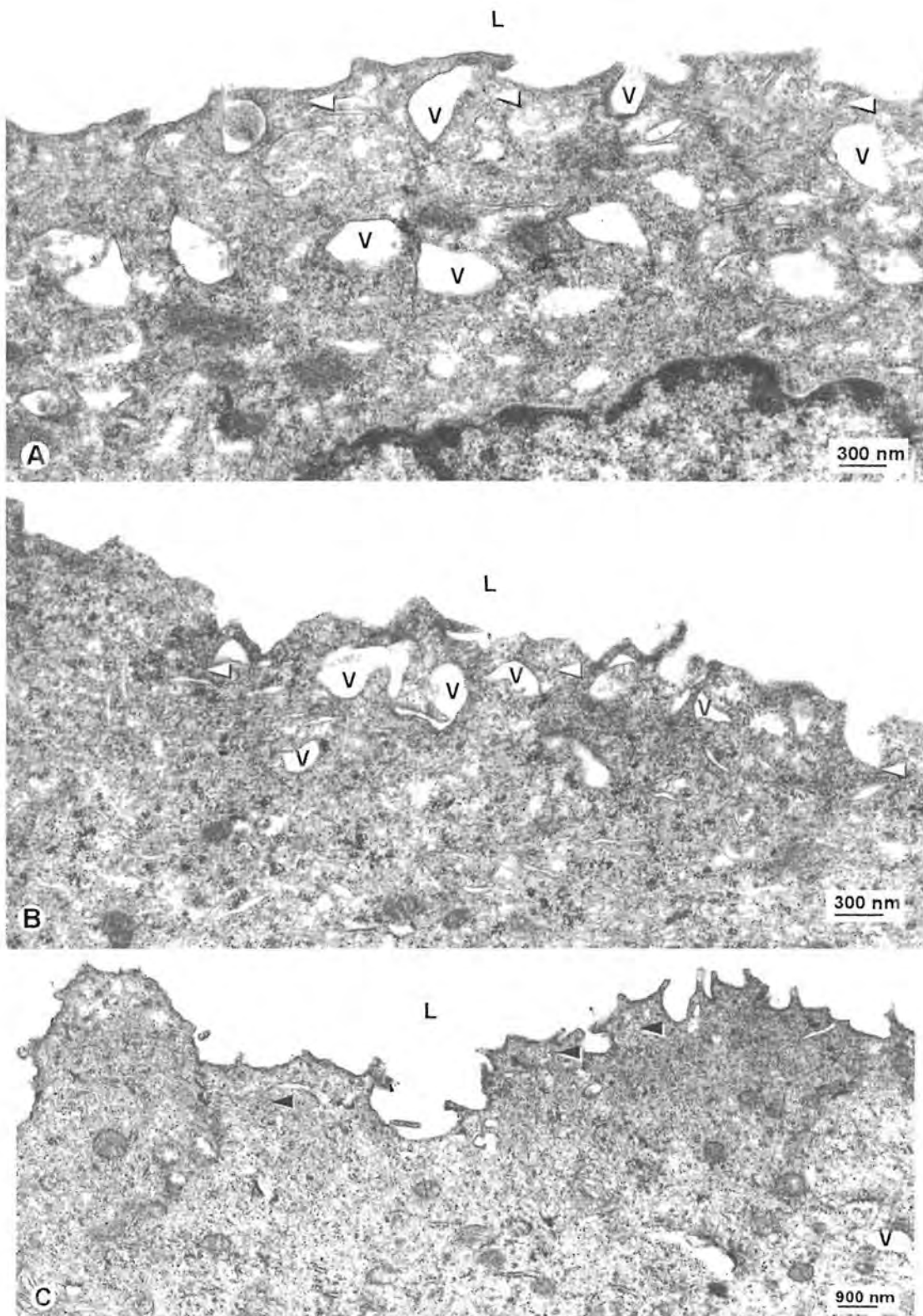


Fig 8A-C Elektronmikroskopiese beeld van toenemende versteuring van die sitoplasmiese filamente. Die elektronmikroskopiese beelde is op dag 2 (A), dag 18 (B) en dag 30 (C) geneem. Let op na die skyfvormige vesikels(V) in (A) dag 2, en die afname in die aantal vesikels teen dag 30 (C).

v. Vakuole:

- a. Verdikte digte bande onder die sarkolemma, sonder vakuole, kom in stroke voor (Fig. 9 A).
- b. Enkele fokale verlies van die digte bande, met of sonder vakuole kan ook aangetoon word (Fig. 9 A).

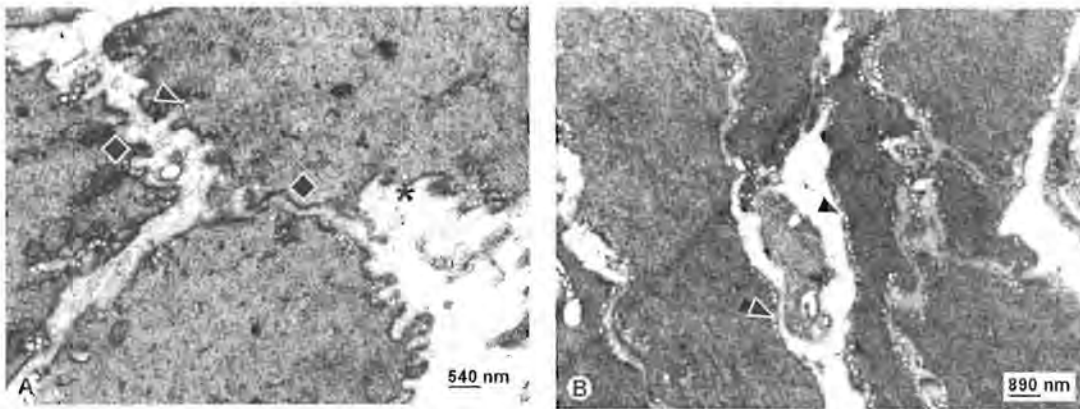


Fig 9A & B Elektronmikroskopiese beelde van Fase I op dag 30 (A) en dag 10 (B). Verdikte digte bande onder die sarkolemma, sonder vakuole, kom in stroke voor (fig. 9A) (diamante). Enkele fokale verlies van die digte bande met of sonder vakuole (fig. 9A) (asterisk). Groot getalle vakuole onder die selmembraan gesien (fig. 9B) (pyle). Opmerksame afname in getalle vakuole gesien (fig. 9A) (pyle).

- c. Teen dag 30 van distensie is daar 'n opmerksame afname in die getalle vakuole wat naby die selmembraan gevind word, soos gesien in Fig. 9 A, indien dit vergelyk word met die groot getalle vakuole soos gesien in Fig. 9 B.



**B. Fase II:**

Eksperimentele groep van dertig wyfierotte waarvan die ovaria gelyktydig op dag een verwyder is. Die wyfierotte is daarna elke tweede dag gekateteriseer en volgens skedule getermineer. Geen estrogeenaanvulling is gedoen nie. Die doel van **Fase II** van die studie is om 'n reeks ligmikroskopiese en elektronmikroskopiese veranderinge te identifiseer wat aan ligmikroskopiese en elektronmikroskopiese veranderinge wat reeds in **Fase I** van die studie gevind is, gemeet kan word.

1. Histologiese veranderinge:

a. **Ligmikroskopie:**

Ligmikroskopiese ondersoek toon die volgende:

i. Epiteel:

- a. 'n Donker sellag is vanaf die derde dag postoperatief net onder die epiteellaag waargeneem, met die basaalmembraan wat baie prominent vertoon.
- b. 'n Mate van dissosiasie van die epiteel vanaf die onderliggende weefsel is waargeneem. Die oorsaak van dissosiasie kan moontlik weens die breekbaarheid (frailty) van die weefsel weens verlaagde estrogeenvlakke wees, of weens skeuring tydens distensie van die blaas.
- c. Geen abnormale dissosiasie is waargeneem nie.
- d. Waarskynlike toename in die aantal epiteellae is waargeneem.

ii. Elastiese vesels:

Geen elastiese vesels is deur die reeks waargeneem nie.

iii. Kollageen:

- a. Kollageen wat tussen die gladdespierselle voorgekom het, het baie deur die reeks varieer.
- b. Oor die algemeen is 'n afname in kollageen tussen die spierselle waargeneem.
- c. Die hoogste konsentrasie kollageen is aan die begin, en die laagste aan die einde van die reeks waargeneem. Hierdie waarneming stem ooreen met waarnemings van die van Eika *et al.*<sup>14</sup>.
- d. Enkele gevalle van dissosiasie van kollageen vanaf die spierweefsel is ongeveer in die middel van die reeks waargeneem.
- e. Aan die einde van die reeks is in een geval opgemerk dat groot hoeveelhede kollageen tussen die spiervesels voorkom en die spiervesels wyd uitmekaar verplaas is.

iv. Bloedvate:

- a. Heelwat bloedvate is teen die derde dag postoperatief in die lamina propria aangetoon.
- b. Met enkele uitsonderings, neem die konsentrasie bloedvate geleidelik deur die reeks af. Die bloedvate is in die lamina propria van al die snitte teenwoordig.

- c. Deur die reeks is vol bloedvate in die lamina propria aangetoon, met enkele leë vate tussen-in.
- d. In hierdie reeks van **Fase II** lyk dit asof die aantal bloedvate hoër is as in die reeks van **Fase I** wat gedoen is voor die oöwarektomies uitgevoer is.

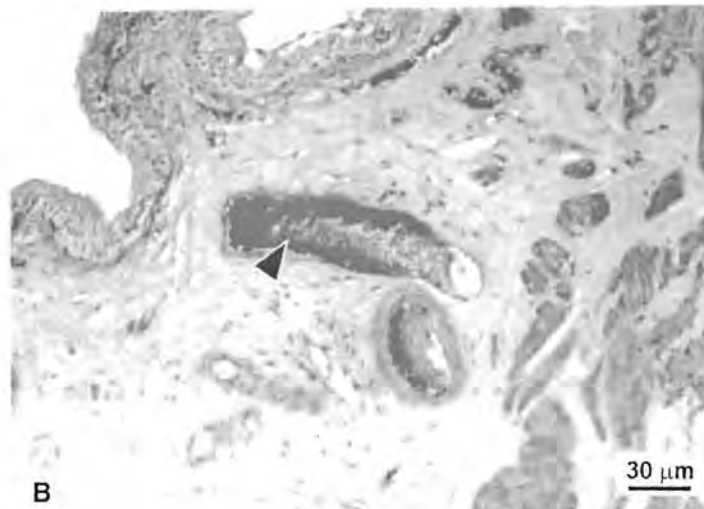
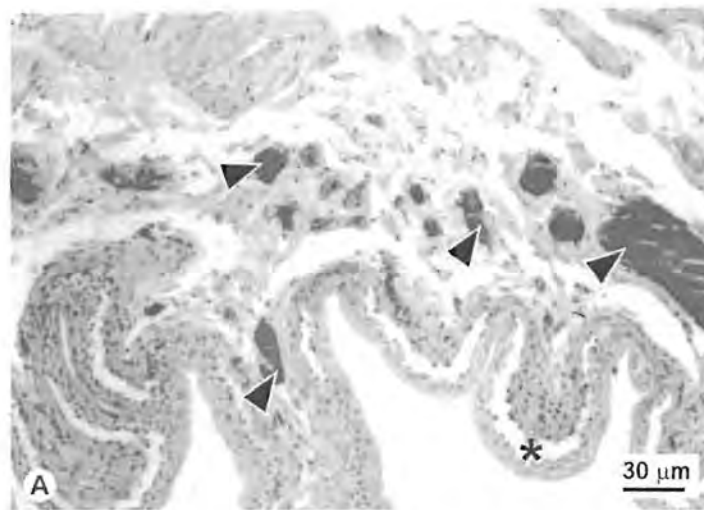


Fig 10 A & B Bloedvate in die lamina propria in beide pre- (B) en post (A) oöwarektomie beelde (pyle). Dissosiasie van die epiteel vanaf die onderliggende weefsel (Asterisk).

v. Edeem:

Toename in edeem is deur die reeks aangetoon.

vi. Limfosietinfiltrasie:

Toename in limfosietinfiltrasie is aangetoon.

vii. Piknotiese selle:

- a. Toename in digte piknotiese selle is aangetoon.
- b. Die selle was geneig om karyorrhekties te wees.

ix. Fibrien:

Baie min is deur die reeks opgemerk.

**b. Elektronmikroskopie:**

Elektronmikroskopiese ondersoek toon die volgende:

**i. Vakuole:**

a. Min of geen vakuole onder die selmembraan waargeneem nie (Fig. 11). Dit is 'n verskynsel wat deurgaans voorgekom het.

**ii. Intersellulêre spasies:**

a. Fokale versteuring van die selmembraan met ekstrusie van die selinhoud in die intersellulêre spasie is in enkele gevalle waargeneem (Fig. 11).

**iii. Donker bande:**

Verdikte digte bande onder die sarkolemma is waargeneem (Fig 11).

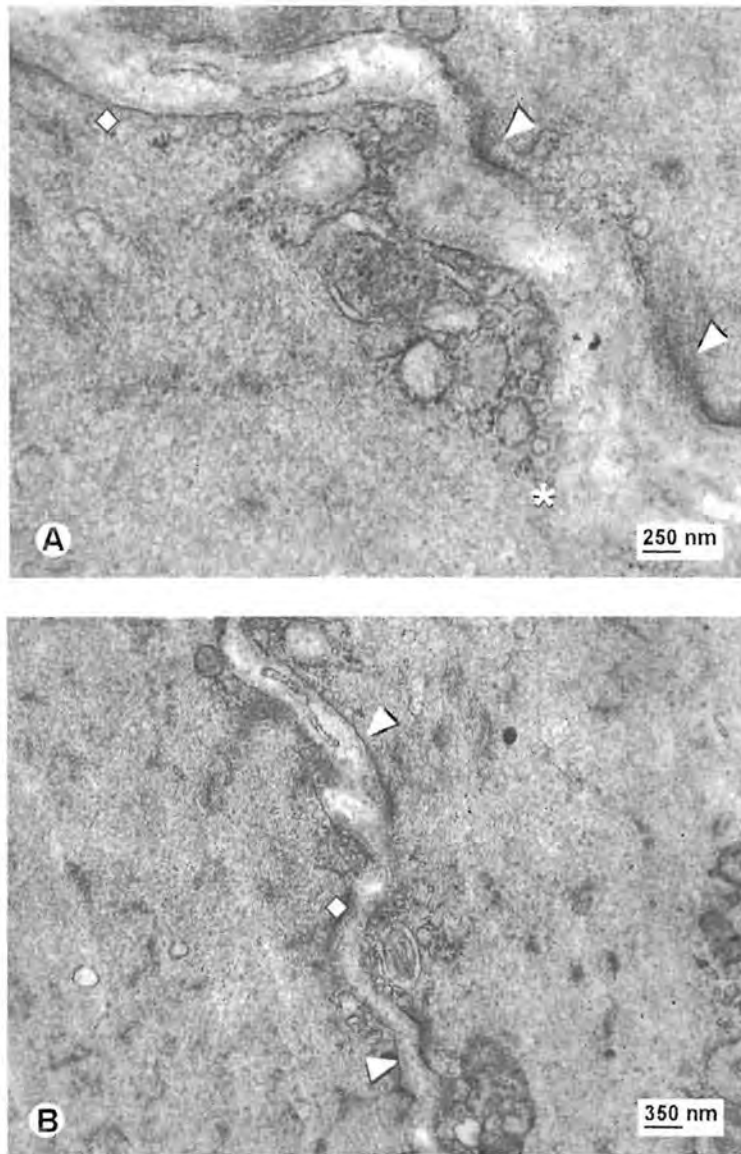


Fig 11 A & B Min of geen vakuole onder die selmembraan waargeneem nie (fig.A & B) (pyle). Verdikte digte bande onder die sarkolemma kom in stroke voor (fig. A & B) (Diamante). Enkele fokale verlies van die digte bande met of sonder vakuole kan ook aangetoon word (Fig. A) (Asterisk).

## BESPREKING

Dit is bekend dat obstruksie van die blaasuitgang beide funksionele en histologiese veranderinge in die blaaswand teweegbring. Meeste studies konsentreer op die veranderinge wat in die blaaswand teweeggebring word deur 'n enkele episode van akute oordistensie van die blaas. Daar kon geen studies in die literatuur opgespoor word wat die effekte van oordistensie van die blaas vir kort periodes oor 'n lang tydperk beskryf nie.

Tydens die studie is 'n raamwerk geskep vir veranderinge wat in die blaaswand verwag kan word tydens herhaalde korttermyn oordistensie van die blaas. Die raamwerk sluit in die veranderinge wat reeds in die literatuur beskryf is, sowel as die veranderinge uniek aan dié studie. Daar is ook gekonsentreer om te bepaal of dieselfde tipe skade aan die detrusor aangerig is, as wat gedurende akute kort- en langtermyn oordistensie waargeneem is.

Tydens **Fase I** van die studie was gepoog om die basiese lig- en elektronmikroskopiese veranderinge wat tydens herhaalde korttermyn oordistensie van die detrusor voorkom, te bepaal. As kontrolegroep is deels die groot aantal studies wat reeds oor akute kort- en langtermyn distensie van die detrusor gedoen is, gebruik. Dit was insiggewend om te sien dat van die veranderinge wat tydens akute langtermyn oordistensie mikroskopies waargeneem is, ook voorgekom het tydens **Fase I** van die studie.<sup>18,21,22,35,38,39,40,41,48,51,52,53,54,55</sup> Herhaalde distensie van die blaas, selfs oor baie kort tydperke kan ewe-eens skade teweegbring, vergelykbaar met dié tydens akute lang- of korttermyn oordistensie.

**Fase II** van die studie was meerdoelig, naamlik, om vas te stel of daar lig- en elektronmikroskopiese veranderinge voorkom eie aan die blaaswand na oövairektomie. En of die verandering wat wel voorkom, soortgelyk aan dié is soos gevind tydens **Fase I** van die studie, en of daar 'n intensifisering van die veranderinge was.

Ligmikroskopiese veranderinge wat wel waargeneem is tydens **Fase II** van die studie stem ooreen met dié gevind deur die outeurs wat in die literatuurstudie genoem word.<sup>18,21,22,35,38,39,40,41,48,51,52,53,54,55</sup> Wat wel opgeval het is dat sommige van hierdie veranderinge nie uniek aan die estrogeen-gedepriveerde blaas is nie, maar ooreenstem met die veranderinge wat aanvanklik waargeneem is tydens die **Fase I** distensies van die detrusor.

Elektronmikroskopiese veranderinge in die **Fase I** blase stem ooreen met die veranderinge gevind in die ligmikroskopiese ondersoeke.<sup>28,31,32,33</sup>

Sommige van die ligmikroskopiese ondersoeke in die **Fase II** monsters toon wel veranderinge wat nie tydens die eerste fase waargeneem is nie. Daar is 'n opmerklike toename in die getal bloedvate in al die weefsellae aangetoon. Die afname in die kollageeninhoud van die weefsel is ook een van die meer opvallende verskille wat, in vergeleke met die **Fase I** weefsel, genoteer is.

Tydens die elektronmikroskopiese ondersoek van die **Fase II** weefsel was die mees opvallende verskil van die **Fase I** weefsel, die bykans totale afwesigheid van vakuole wat direk onder die selmembran waargeneem is. Dit is reeds aangetoon dat dié vakuole vorm wanneer die blaas leeg is en dele van die membraan toelaat om inwaarts te vou en diep gleuwe te vorm. Die afwesigheid van die vakuole wat ook in die **Fase II** weefsel



voorgekom het, kan 'n aanduiding wees dat daar 'n verandering, of afname, in die kontraksievermoë van die detrusor gedurende 'n afname of gebrek aan estrogeen voorkom. Dit kan moontlik wees dat die detrusor tydens 'n estrogeenafname in 'n ontspanne toestand stagneer.

Die resultate soos gesien in die ligmikroskopiese en elektronmikroskopiese beelde van weefsel van **Fase I** en **Fase II**, suggereer dat betekenisvolle histologiese veranderinge met toenemende prominensie in die uitgerekte blaas voorkom. Daar is verder opgelet dat daar in beide **Fase I** en **Fase II** van die studie versteurings deur intermitterende oordistensie van die blaas uitgelok is wat ooreenkomste toon met dit wat gevind word na akute kort- of langtermyn obstruksie van die detrusor.

'n Verskeidenheid van studies het aangetoon dat in ongeveer twee-derdes van vroue met urinêre infeksies, die oorsaak geassosieer word met 'n geskiedenis van ongereelde blaaslediging, met gevolglike oorvulling en uitsetting (permanent) van die blaas.<sup>94</sup> Akute urienretensie van nie-neurologiese oorsprong is 'n kliniese probleem wat dikwels as 'n komplikasie van chirurgie, kraam of trauma voorkom, sowel as weens prostatiese en uretrale siektes.<sup>5</sup>

'n Persoon word aan relatief min episodes van akute oordistensie van die blaas in sy/haar leeftyd blootgestel. In die studie gedoen deur Mayo *et al.*<sup>54</sup> het al die vrouens in die studie episodes van oordistensie tydens swangerskap en baring gehad. Daar word gepostuleer dat die detrusor tydens hierdie kliniese situasie meer vatbaar vir skade is. Dit is ook moontlik dat die vroulike blaas meer vatbaar vir skade is weens die relatiewe dun blaaswand.

In 'n studie gedoen deur Lapidés *et al.*<sup>94</sup> is meer as 60% van urinêre infeksies in die reeks vroue wat bestudeer is, geassosieer met 'n geskiedenis van ongereëde blaaslediging, dit wil sê, blaaslediging ongeveer eenmaal in 5-10 ure, en hipertrofie van die blaas. Nie-fisiologiese blaasledigingsgewoontes gee dus aanleiding tot oordistensie van die blaas, gevolglike afname in bloedvloei deur die blaaswand, verminderde weerstand en verhoogde insidensie van bakteriële besmetting. Hierdie blaasledigingspatroon gee ook aanleiding tot, en is heel waarskynlik die hooforsaak van, 'n gedekompenseerde atoniese blaas.

Vier toestande dra tot verhoogde kollageen neerlegging by, naamlik ouderdom, obstruksie van die blaasuitgang, bilaterale sakrale neurotomie met desentralisasie van die detrusor en isgemie. Susset<sup>6</sup> toon in sy studie dat in beide mans en vrouens tot die ouderdom van vyftig jaar, die kollageen/spier verhouding ongeveer 53% beloop. Na vyftig-jarige ouderdom, ontwikkel vrouens 'n opmerkbare toename in blaaskollageen in vergelyking met mans van dieselfde ouderdom. 'n Moontlike rede vir die verskuiwing is die parallelle ontwikkeling van die spiermassa van die blaas by mans weens die hoë frekwensie van blaasobstruksie in dié ouderdomsgroep. Toename in kollageen is proporsioneel tot 'n afname in kontraktiliteit van die detrusor, en kontraksie van die blaas is stadig.

Isgemie van die detrusor verhoog die moontlikheid van spieratrofie en neerlegging van kollageen. Levin *et al.*<sup>11</sup> het aangetoon dat spontane neerlegging van kollageen, met geen verband tot enige van die bogenoemde redes, reeds vroeg in die leeftyd kan voorkom.

"An educational campaign should be undertaken by the medical profession to inform the ..... public that it is detrimental to health to permit the bladder to over-distend through

infrequent urination. Not only should the women be so informed but particular attention should be given to school teachers and employers since they are in the position to control the urinary habits of many individuals and frequently are averse to having their pupils or employees visit the restroom more often than once in four hours."<sup>94</sup>

## GEVOLGTREKKINGS

Die resultate van die studie toon dat skade aan die detrusor op klein skaal kan begin. Verontagsaming van die waarskuwings van Lapidés *et al.*<sup>94</sup> is reeds in 'n vroeë stadium genoeg om die blaaswand te beskadig. Die studie bevestig die resultate wat reeds vroeër deur ander navorsers behaal is, en voeg ook unieke resultate by, wat bydra tot diepgaande kennis van die patologie verbonde aan verontagsaming van die liggaam se waarskuwings.<sup>94</sup>

Resultate wat ooreenstem met dié verkry deur navorsers tydens akute korttermyn en langtermyn oordistensie van die blaas, sluit onder andere, die toenemende voorkoms van edeem en vaskularisasie deur die **Fase I** en **Fase II** reekse. Dissosiasie van die epiteel vanaf die onderliggende weefsel is ook in beide reekse waargeneem, met skeuring van die gladdespierselbondels en die ontwikkeling van 'n addisionele sellaaag net onder die epiteel. Die toename in kollageen, soos gesien in **Fase I** is ook reeds herhaalde kere deur navorsers beskryf, asook die versteuring van die selmembraan met versteuring van die intersellulêre spasies en hegtingskomplekse.<sup>18,21,22,35,38,39,40,41,48,51,52,53,54,55</sup>

Uniek aan die studie is die afname in kollageen in die **Fase II** weefsel, wat net deur een outeur voorheen beskryf is.<sup>14</sup> In die **Fase I** weefsel kom groot getalle vakuole net onder die selmembraan voor, wat ooreenstem met waarnemings van ander outeurs. Die voorkoms van die vakuole neem progressief af namate die einde van die fase bereik word. Tydens elektronmikroskopiese studies van die **Fase II** weefsel is 'n drastiese afname in die aantal vakuole (min of geen vakuole) net onder die selmembraan waargeneem. Hierdie waarneming is nog nie voorheen in die literatuur beskryf nie. 'n

Verdere studie om te bepaal of daar 'n moontlikheid bestaan dat die afname in die getal vakuole onder die selmembraan omkeerbaar is na toediening van estrogeen, sal bogenoemde waarneming kan rugsteun.

Nog 'n unieke waarneming was die breekbaarheid van die weefsel wat opgemerk is tydens die maak van snitte vir **Fase II** elektronmikroskopiesnitte, in vergelyking met weefsel vir die **Fase I** studie.

**AANHANGSEL A:****HISTOLOGIETEGNIEKE: LIGMIKROSKOPIE**

Die protokol vir ligmikroskopietegnieke is hoofsaaklik geneem uit Bancroft en Stevens<sup>87</sup> en Gurr<sup>97</sup> geneem. Enkele voorkeurwysigings is aangebring.

**1. Von Gieson-tegniek vir Kollageen:****a. Oplossing:**

Versadigde pikriensuur oplossing .....	50 ml
1% suurfuchsien oplossing .....	9,0 ml
Gedistilleerde water .....	50 ml

**b. Metode:**

- a. Ontwas snitte en hidreer tot by water (2 minute).
- b. Kleur kerne met celestin blue vir 5 minute.
- c. Spoel met kraan / gedistilleerde water.
- d. Kleur 6 minute met Mayer/Weigert se hematoksilien.
- e. Blou ("blue") in kraanwater vir 5 minute.
- f. Kleur met Von Gieson vir 4 minute.
- g. Dehidreer in 96% alkohol vir 2 minute.
- h. Dehidreer in alkohol en xilol en monteer.



c. **Resultate:**

Kerne: blou/swart

Kollageen: rooi

Ander weefsel: geel



2. Celestin blue-hematoksilien:

a. **Oplossing:**

Celestin blue B .....	2,5 g
Yster-ammoniumsulfaat .....	25 g
Gliserien .....	70 ml
Gedistilleerde water .....	500 ml

Los die yster-ammoniumsulfaat in koue gedistilleerde water op terwyl dit geroer word. Voeg die celestin blue by die oplossing en kook die mengsel vir 'n paar minute. Filtreer die kleurstof na afkoeling en voeg gliserien by.





3. Mayer se Haematoksilien en Eosien

a. **Oplossing:**

Haematoksilien .....	1 g
Gedistilleerde water .....	1000 ml
Kalium-of ammoniumaluin .....	50 g
Sitroensuur .....	1 g
Chloraalhidraat .....	50 g
Natriumjodaat .....	0,2 g

Los die haematoksilien, kaliumaluin, en natriumjodaat op in gedistilleerde water deur dit te verhit en te roer, of deur dit toe te laat om teen kamertemperatuur oornag te staan. Voeg die sitroensuur en chloraalhidraat by, kook die mengsel vir 5 minute, koel af en filtreer. Kan onmiddellik gebruik word.



4. Massontrichroom vir Algemene bindweefsel:

a. **Oplossings:**

- a. Suurfuchsien ..... 0,5 g  
Ys-asynsuur ..... 0,5 ml  
Gedistilleerde water ..... 100 ml
- b. Fosfomolibdeensuur ..... 1,0 g  
Gedistilleerde water ..... 100 ml
- c. Metielblou ..... 2,0 g  
Ys-asynsuur ..... 2,5 ml  
Gedistilleerde water ..... 100 ml

b. **Tegniek:**

- a. Ontwas en hidreer tot by water.
- b. Kleur kerne met celestin blue vir 5 minute. Was met gedistilleerde water.
- c. Kleur vir 7 minute met Mayer se hematokselien. Was met kraanwater vir 5 minute.
- d. Differensieer in 1% suur-alkohol.
- e. Was goed in kraanwater.
- f. Kleur vir 5 minute in die suurfuchsienoplossing (a).
- g. Spoel in gedistilleerde water totdat alle oortollige kleurstof verwyder is.
- h. Behandel met fosfomolibdeensuur (b) vir 5 minute.

- i. Dreineer.
- j. Kleur met metielblou-oplossing (c) vir 2 tot 5 minute.
- k. Spoel in gedistilleerde water.
- l. Behandel met 1% asynsuur vir 2 minute.
- m. Dehidreer deur alkohol.
- n. Dehidreer in xilol en monteer.

**c. Resultate:**

Spier: rooi

Kollageen, retikulêre weefsel, basaalmembraan: blou/groen

Elastiese weefsel: pienk

Fibrien: rooi

5. Weigert vir Kleuring vir elastiese vesels:

a. **Vorbereiding vir Weigert resorsien-fugsien:**

Voeg 1 gram basiese fugsien en 2 g. resorsien by 100 ml. gedistilleerde water en kook. Voeg 12,5 ml. van 'n vars voorbereide ysterchloriedoplossing by. Kook vir 5 minute, koel af en filtreer, en gooi die filtraat weg. Los die hele presipitaat op in 100 ml. 95% etanol. Gebruik 'n warm plaat of waterbad om die hitte te kontroleer, en voeg 2 ml. gekonsentreerde soutsuur by.

Die presipitaat kan ook opgelos word in:

2-metoksie-etanol .....	50 ml
gedistilleerde water .....	50 ml
gekonsentreerde soutsuur .....	2 ml

b. **Metode:**

- a. Hidreer tot by 90% alkohol.
- b. Plaas in oplossing vir 1 tot 3 uur teen kamertemperatuur of vir 30 tot 60 minute teen 56°C.
- c. Spoel met lopende kraanwater vir 5 minute.
- d. Differensieer vir 30 sekondes in 1% suur alkohol (80%).
- e. Spoel in kraanwater.
- f. Teenkleur in eosien/Von Gieson vir 10 sekondes.
- g. Dehidreer in alkohol.
- h. Dehidreer in xilol en monteer.



c. **Resultate:**

Elastiese vesels: bruin tot pers



6. MSB-tegniek vir fibrien:

a. **Vorbereiding van oplossings:**

- a. Martius yellow (Acid yellow 24) ..... 0,5 g  
Fosfowolframsuur ..... 2,0 g  
95% alkohol ..... 100 ml
- b. Brilliant crystal scarlet (Acid red 44) ..... 1,0 g  
Ys-asynsuur ..... 2,0 ml  
Gedistilleerde water ..... 100 ml
- c. Fosfowolframsuur ..... 1,0 g  
Gedistilleerde water ..... 100 ml
- d. Metielblou (Acid blue 93) ..... 0,5 g  
Ys-asynsuur ..... 1,0 ml  
Gedistilleerde water ..... 100 ml
- e. Ys-asynsuur ..... 1,0 ml  
Gedistilleerde water ..... 100 ml

b. **Metode:**

1. Ontwas snitte en hidreer.
2. Verwyder kwikpigment met jodium, tiosulfaat behandeling.

3. Kleur kerne met celestin blue-hematoksilien prosedure.
4. Differensieer in 1% suur alkohol.
5. Was goed in kraanwater.
6. Spoel in 95% alkohol.
7. Kleur in martius yellow oplossing (a) vir 2 minute.
8. Spoel in gedistilleerde water.
9. Kleur in brilliant crystal scarlet oplossing (b) vir 10 minute.
10. Spoel in gedistilleerde water.
11. Behandel met fosfowolframsuur oplossing (c) totdat geen rooi meer in die kollageen waargeneem kan word nie. Kan 5 tot 10 minute neem.
12. Spoel in gedistilleerde water.
13. Kleur in metiel-blou oplossing (d) totdat die kollageen voldoende gekleur is. Toets na 2 minute en weer na opvolgende 2 minuut intervalle om oormatige kleuring te voorkom.
14. Spoel in 1% ys-asyn (e).
15. Dehidreer in alkohol.
16. Dehidreer in xilol en monteer.

**c. Resultate:**

Kerne: blou

Eritrosiete: geel

Spier: rooi

Kollageen: blou

Fibrien: rooi (vroee fibrien kan geel en baie ou fibrien blou kleur)

7. Gordon en Sweet se metode vir retikulêre veseis:

a. **Vorbereiding van silwer oplossing:**

Voeg gekonsentreerde ammoniak druppel vir druppel by 5 ml. waterige silwernitrat oplossing totdat die presipitaat wat aanvanklik vorm, oplos. Wees versigtig om nie te veel ammoniak by te voeg nie. Voeg 5 ml. van 'n 3% natriumhidroksied oplossing by. Voeg gekonsentreerde ammoniak druppel vir druppel by om die presipitaat wat weer vorm, op te los en die oplossing baie effens melkagtig en halfdeurskynend voorkom. Indien 'n oormaat ammoniak bygevoeg is (waarneembaar deur die afwesigheid van die melkagtigheid) kan 'n paar druppels van 'n 10% silwernitratoplossing bygevoeg word, om 'n ligte presipitaat te vorm. Vul die oplossing aan met gedistilleerde water totdat 'n volume van 50 ml. bereik word. Filtreer voor gebruik. Stoor in 'n donker bottel.

b. **Metode:**

1. Ontwas snitte en hidreer.
2. Behandel met 1% kaliumpermanganaatoplossing vir 5 minute.
3. Spoel met kraanwater.
4. Blyk in 1% oksaalsuur oplossing.
5. Spoel in kraanwater.
6. Behandel met 2,5% yster-alluin oplossing vir ten minste 15 minute.
7. Was verskeie kere goed met gedistilleerde water.
8. Plaas in 'n silwer oplossing vir 2 minute.
9. Spoel verskeie kere in gedistilleerde water.



10. Reduseer in 10% waterige formalien oplossing vir 2 minute.
11. Spoel in kraanwater.
12. Behandel met 5% natriumtiosulfaat oplossing vir 3 minute.
13. Spoel in kraanwater.
14. Intensifiseer in 0,2% goudchloried oplossing vir 3 minute.
15. Spoel in kraanwater.
16. Teenkleur soos verkies (von Gieson of eosien kan gebruik word)
17. Dehidreer in alkohol.
18. Dehidreer in xilol en monteer.

**c. Resultate:**

Retikulêre vesels: swart

Kerne: swart of ongekleur

Ander: volgens teenkleur

8. PAS-tegniek:

a. **Vorbereiding van oplossings:**

a. Periodiese suur oplossing:

Perjoodsuur ..... 1 g

Gedistilleerde water ..... 200 ml

b. Schiff se reagens:

Los 1 g. basiese fugsien in 200 ml. kokende gedistilleerde water op.

Verwyder die houer met water van die bunsenbrander net voordat die fugsien bygevoeg word.

Laat die oplossing afkoel tot 50°C, en voeg dan 2 g. kalium-meta-bisulfiet by, en meng. Laat afkoel tot kamertemperatuur, en voeg dan 2 ml. gekonsentreerde soutsuur by, meng en voeg 2 g. geaktiveerde koolstof by.

Laat oornag in die donker teen kamertemperatuur staan. Filtreer deur 'n nommer (nr.) 1 Whatman papier. Stoor in 'n donker houer teen 4°C.

b. **Metode:**

1. Ontwas snitte en hidreer met gedistilleerde water.
2. Behandel met periodiese suur (a) vir 5 minute. Die intensiteit van die reaksie sal afhang van die lengte van die behandeling met die periodiese suur en die Schiff oplossing.
3. Was verskeie kere goed met gedistilleerde water.
4. Bedek met Schiff se oplossing (b) vir 15 minute.

5. Was in lopende kraanwater vir 5 tot 10 minute.
6. Kleur kerne vir 7 minute met Harris se hematoksillien, was 5 minute lank met kraanwater, differensieer soos nodig met suuralkohol, en blou soos nodig vir 5 minute.
7. Was in water.
8. Spoel in absolute alkohol.
9. Dehidreer in xilol en monteer.

**c. Resultate:**

Glikogeen en ander perjootreaktiewe koolhidrate: magenta

Kerne: blou.



9. Protokol vir hidrering:

- a. Xilol I vir 2 minute.
- b. Xilol II vir 2 minute.
- c. 100% alkohol I vir 2 minute.
- d. 100% alkohol II vir 2 minute.
- e. 90% alkohol vir 2 minute.
- f. 70% alkohol vir 2 minute.
- g. Water vir 2 minute.

10. Protokol vir dehidrering:

Roetine aangepas volgens helderheid van die plaatjie na behandeling met xilol.

- a. 70% alkohol vir 5 minute.
- b. 90% alkohol vir 5 minute.
- c. 100% alkohol I vir 5 minute.
- d. 100% alkohol II vir 5 minute.
- e. Xilol I vir 5 minute.
- f. Xilol II vir 5 minute.



## AANHANGSEL B:

### HISTOLOGIE-TEGNIKE: ELEKTRONMIKROSKOPIE<sup>98,99</sup>

1. Plaas grid op was.
2. Gooi 1.5 ml. etanol (absolute alkohol) in proefbuis.
3. Voeg 1.5 ml. uraniel-asetaat (50:50 met alkohol). (Moenie kristalle opsuig of botteltjie skud, en gebruik filter in spuit.)
4. Gooi bogenoemde oplossing oor grid.
5. Laat 45 minute in donker.
6. Was met 40% gedistilleerde en geïoniseerde water. (Gebruik filter in spuit.)
7. Laat water dreineer vanaf grid en draai om.
8. Voeg 'n paar natriumhidroksied (NaOH) kristalle op filtreerpapier.
9. Gooi loodsitraat oor grid.
10. Bedek NaOH-kristalle en loodsitraat-grid. Hou in donker vir 4 minute.
11. Spoel af met 40 ml. geïoniseerde water.
12. Klad grid versigtig aan goue kant.

## VERWYSINGS

1. Levin RM, Longhurst PA, Monson FC, Kato K, Wein AJ. Effect of bladder outlet obstruction on the morphology, physiology, and pharmacology of the bladder. *The Prostate Supplement*, 1990; 3: 9-26.
2. Elbadawi A, Meyer S, Regnier CH. Role of ischemia in structural changes in the rabbit detrusor following partial bladder outlet obstruction: A working hypothesis and a biomechanical/structural model proposal. *Neurourol Urodyn*, 1989; 8: 151-162.
3. Buttyan R, Jacobs BZ, Blaivas JG, Levin RM. Early molecular response to rabbit bladder outlet obstruction. *Neurourol Urody*, 1992; 11: 225-238.
4. Tammela T, Kontturi M, Lukkarinen O. Postoperative urinary retention. II. Micturition problems after the first catheterization. *Scand J Urol Nephrol*, 1986; 20: 257-260.
5. Kim H, Belville WD, Wedemeyer G, McGuire EJ. Rapid injection cystometry and hydroxyproline content in the acutely overdistended rabbit bladder. *Neurourol Urody*, 1992; 11: 33-39.
6. Susset JG, Servot-Viguiere D, Lamy F, Madernas P, Black R. Collagen in 155 human bladders. *Invest Urol*, 1978; 16(3): 204-206.

7. Elbadawi A, Meyer S. Morphometry of the obstructed detrusor: 1. Review of the issues. *Neurourol Urodyn*, 1989; 8: 163-171.
8. Gabella G, Uvelius B. Urinary bladder of rat: fine structure of normal and hypertrophic musculature. *Cell Tissue Res*, 1990; 262: 67-79.
9. Tammela T, Kontturi M, Lukkarinen O. Postoperative urinary retention. I. Incidence and predisposing factors. *Scand J Urol Nephrol*, 1986; 20: 197-201.
10. Gilpin SA, Gilpin CJ, Dixon JS, Gosling JA, Kirby RS. The effect of age on the autonomic innervation of the urinary bladder. *Br J Urol*, 1986; 58: 378-381.
11. Susset JG. Factors affecting detrusor contractility. *Neurourol Urodyn*, 1986; 5: 247-250.
12. Mishell RM, Davajan V. *Reproductive Endocrinology, Infertility and Contraception*. Philadelphia:F.A. Davis Company, 1979: 161-187.
13. Longhurst PA, Kauer J, Leggett RE, Levin RM. The influence of ovariectomy and estradiol replacement on urinary bladder function in rats. *J Urol*, 1992; 148: 915-919.
14. Eika B, Salling LN, Christensen LL, Andersen A, Laurberg S, Danielsen CC. Long-term observation of the detrusor smooth muscle in rats. Its relationship to ovariectomy and estrogen treatment. *Urol Res*, 1990; 18: 439-442.



15. Berman I. Color Atlas of Basic Histology. Connecticut: Appleton and Lange, 1993: 254-255.
16. Burkitt HG, Young B and Heath JW. Wheater's Functional Histology. A text and Colour Atlas. 3rd. Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, New York and Tokyo: Churchill Livingstone, 1973: 303.
17. Ross MH and Reith EJ. Histology. A text and atlas. New York, Cambridge, Philadelphia, San Francisco, London, Mexico City, São Paulo, Singapore, Sydney: Harper and Row, Publishers, Lippincott Company, 1985: 36-37.
18. Meyer S, Hassouna M, Mokhless I, Coolsaet BLRA, Elhilali MM, Elbadawi A. Ultrastructural changes in the obstructed pig detrusor: A preliminary report. *Neurourol Urodyn*, 1989; 8: 141-150.
19. Lloyd-Davies RW, Clark AE, Prout WG, Shuttleworth KED, Tighe JR. The effects of stretching the rabbit bladder. *Invest Urol*, 1970; 8(2): 145-152.
20. Malkowics SB, Wein AJ, Elbadawi A, Van Arsdalen K, Ruggieri MR, Levin RM. Acute biochemical and functional alterations in the partially obstructed rabbit urinary bladder. *J Urol*, 1986; 136: 1324-1329.
21. Lin AT, Monson FC, Kato K, Haugaard N, Wein AJ, Levin RM. Effect of chronic ischemia on glucose metabolism of rabbit urinary bladder. *J Urol*, 1989; 142: 1127-1133.

22. Gosling JA, Dixon JS, Dunn M. The structure of the rabbit urinary bladder after experimental distension. *Invest Urol*, 1977; 14(5): 386-389.
23. Lloyd-Davies RW, Hinman F(Jr). Structural and functional changes leading to impaired bacterial elimination after overdistension of the rabbit bladder. *Invest Urol*, 1971; 9(2): 136-142.
24. Gill HS, Monson FC, Wein AJ, Ruggieri MR, Levin RM. The effects of short-term in-vivo ischemia on the contractile function of the rabbit urinary bladder. *J Urol*, 1988; 139: 1350-1354.
25. Lloyd-Davies RW, Hayes TL, Hinman F (Jr). Urothelial micro-contour. III. Mucosal alteration by infection. *J Urol*, 1971; 106: 81-83.
26. Levin RM, Malkowicz SB, Wein AJ, Atta MA, Elbadawi A. Recovery from short-term obstruction of the rabbit urinary bladder. *J Urol*, 1985; 134: 388-390.
27. Kitada S, Wein AJ, Kato K, Levin RM. Effect of acute complete obstruction on the rabbit urinary bladder. *J Urol*, 1989; 141: 166-169.
28. Staehelin LA, Chlapowski FJ, Bonneville MA. Luminal plasma membrane of the urinary bladder. I. Three-dimensional reconstruction from freeze-etch images. *J Cell Biol*, 1972; 53: 73-91.
29. Koss LG. The asymmetric unit membranes of the epithelium of the urinary bladder of the rat. *Lab Invest* 1969; 21(2): 154-168.

30. Kakizoe T, Hasegawa F, Kawachi T, Sugimura T. Isolation of transitional epithelial cells from the rat urinary bladder. *Invest Urol*, 1977; 15(3): 242-244.
31. Noack W, Jacobson M, Schweichel JU, Jayyousi A. The superficial cells of the transitional epithelium in the expanded and unexpanded rat urinary bladder. *Acta Anat*, 1975; 93: 171-183.
32. Chlapowski FJ, Bonneville MA, Staehelin LA. Lumenal plasma membrane of the urinary bladder. II. Isolation and structure of membrane components. *J Cell Biol*, 1972; 53: 92-104.
33. Hicks RM. The permeability of rat transitional epithelium. *J Cell Biol*, 1966; 28: 21-31.
34. Brent L, Stephens FD. The response of smooth muscle cells in the rabbit urinary bladder to outflow obstruction. *Invest Urol*, 1975; 12(6): 494-502.
35. Uvelius B, Persson LO, Mattiasson A. Smooth muscle cell hypertrophy and hyperplasia in the rat detrusor after short-time infravesical outflow obstruction. *J Urol*, 1984; 131: 173-176.
36. Brent L, Stephens FD. A quantitative study of smooth muscle cells in reflux, obstructed, and triad bladders. *Invest Urol*, 1975; 12(6): 503-508.
37. Gabella G. Hypertrophic smooth muscle. 1. Size and shape of cells, occurrence of mitosis. *Cell Tissue Res*, 1979; 201: 63-78.

38. Dixon JS, Gilpin CJ, Gilpin SA, Gosling JA, Brading AF, Speakman MJ. Sequential morphological changes in the pig detrusor in response to chronic partial urethral obstruction. *Br J Urol*, 1989; 64: 385-390.
39. Uvelius B, Mattiasson A. Collagen content in the rat urinary bladder subjected to infravesical outflow obstruction. *J Urol*, 1984; 132: 587-590.
40. Ghoniem GM, Regnier CH, Biancani P, Johnson L, Susset JG. Effect of vesical outlet obstruction on detrusor contractility and passive properties in rabbits. *J Urol*, 1986; 135: 1284-1289.
41. Gosling JA, Dixon JS. The structure and innervation of trabeculated detrusor smooth muscle. *Proceedings of the International Continence Society*.
42. 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*, 1989; 8: 89-116.
43. Kondo A, Susset JG. Collagen content in detrusor muscle and ratio of bladder weight to body weight. *Acta Urol Jap (Kyoto)*, August 1973; 19(8): 683-687.
44. Gilpin SA, Gosling JA, Barnard RJ. Morphological and morphometric studies of the human obstructed, trabeculated urinary bladder. *Br J Urol*, 1985; 57: 525-529.

45. Barnard RJ, Dixon JS, Gosling JA. Myopathy of detrusor smooth muscle. *Br J Urol*, 1987; 59(6): 595-596.
46. Lloyd-Davies RW, Hinman F. Structural alterations and functional changes after overdistension of the rabbit bladder. *Surg Forum*, 1970; 21: 542-543.
47. Mayo ME. The overstretched detrusor. *Urol Dig*, 1971; 10: 15-20.
48. Gosling JA, Dixon JS. Structure of trabeculated detrusor smooth muscle in cases of prostatic hypertrophy. *Urol Int*, 1980; 35: 351-355.
49. Layman DL, Titus JL. Synthesis of type I collagen by human smooth muscle cells in vitro. *Lab Invest*, 1975; 33(2): 103-107.
50. Leblond CP, Vulpé M, Bertalanffy FD. Mitotic activity of epithelium of urinary bladder in albino rat. *J Urol*, 1955; 73(2): 311-313.
51. Barnard RJ, Dixon JS, Dixon JA. A clinical and morphological evaluation of the trabeculated urinary bladder. In: *Progress in Clinical and Biological Research*, Volume 78, Alan R.Liss Inc. New York. Zinner, Norman R. and Arthur M. Sterling, eds. Proceedings of the First Joint Meeting of the International Continence Society and the Urodynamics Society held in Los Angeles, California, on October 9-12, 1980.
52. Gosling JA, Dixon JS. Structural changes associated with obstruction of the urinary tract: A comparison between upper and lower systems. In: *Progress in*

Clinical and Biological Research, Volume 78, Alan R.Liss Inc. New York. Zinner, Norman R. and Arthur M.Sterling, eds. Proceedings of the First Joint Meeting of the International Continence Society and the Urodynamics Society held in Los Angeles, California, on October 9-12, 1980.

53. Mayo MA, Hinman F. Structure and function of the rabbit bladder altered by chronic obstruction or cystitis. Invest Urol, 1976; 14(1): 6-9.
54. Mayo ME, Lloyd-Davies RW, Shuttleworth KED, Tighe JR. The damaged human detrusor: functional and electron microscopic changes in disease. Br J Urol, 1973; 45: 116-125.
55. Cortivo R, Pagano F, Passerini G, Abatangelo G, Castellani I. Elastin and collagen in the normal and obstructed urinary bladder. Br J Urol, 1981; 53: 134-137.
56. Gabella G, Yamey A. Synthesis of collagen by smooth muscle in the hypertrophic intestine. Q J Exp Physiol, 1977; 62: 257-264.
57. Cullen BM and Harkness RD. Collagen formation and changes in cell population in the rat's uterus after distension with wax. Q J Exp Physiol, 1968; 53: 33-42.
58. Longhurst PA, Eika B, Leggett RE, Levin RM. Comparison of urinary bladder function in 6 and 24 month male and female rats. Neurourol Urody, 1992; 11: 151.

59. Mehrotra ML. An experimental study in the vesical circulation during distension and in cystitis. *J Pathol*, 1953; 66: 79-89.
60. Finkbeiner A and Lapides J. Effect on distension on blood flow in dog's urinary bladder. *Invest Urol*, November 1974; 12(3): 210-212.
61. Nemeth CJ, Khan RM, Kirchner P and Adams R. Changes in canine bladder perfusion with distension. *Invest Urol*, 1977; 15(2): 148-149.
62. Boley SJ, Agrawal GP, Warren AR, Veith FJ, Levowitz BS, Treiber W, et al. Pathophysiologic effects of bowel distension on intestinal blood flow. *Am J Surg*, February 1969; 177: 228-234.
63. Hellstrand P, Johansson B and Norberg K. Mechanical, electrical and biochemical effects of hypoxia and substrate removal on spontaneously active vascular smooth muscle. *Acta Physiol Scand*, 1977; 100: 69-83.
64. Saez S, Martin PM. Evidence of estrogen receptors in the trigone area of human urinary bladder. *J Steroid Biochem*, 1981; 15: 317-320.
65. Iosif CS, Bekassy Z. Prevalence of genito-urinary symptoms in the late menopause. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1984; 63: 257-260.
66. Salmon UJ, Walter RI, Geist SH. The use of estrogens in the treatment of disuria and incontinence in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol*, 1941; 42: 845-851.

67. Fantl JA, Wyman JF, Anderson RL, Matt DW and Bump RC. Postmenopausal urinary incontinence: Comparison between non-estrogen-supplemented and estrogen-supplemented women. *Obstet Gynecol*, June 1988; 71(6) Part 1: 823-828.
68. Miodrag A, Castleden CM, Vallance TR. Sex hormones and the female urinary tract. *Drugs*, 1988; 36: 491-504.
69. Wolf H, Wandt H, Jonat W. Immunohistochemical evidence of estrogen and progesterone receptors in the female lower urinary tract and comparison with the vagina. *Gynecol Obstet Invest*, 1991; 32(4): 227-231.
70. Batra SC and Josif CS. Female urethra: A target for estrogen action. *J Urol*, February 1983; 129: 418-420.
71. Saunders PT, Maguire SM, Gaughan J, Millar MR. Expression of oestrogen receptor beta (ER beta) in multiple rat tissues visualised by immunocytochemistry. *J Endocrinol*, Sep 1997; 154(3): 13-16.
72. Rosenzweig BA, Bolina PS, Birch L, Moran C, Marcovicic I, Prins GS. Location and concentration of estrogen, progesterone, and androgen receptors in the bladder and urethra of the rabbit. *NeuroUrol Urodyn*, 1995; 14(1): 87-96.
73. Andersson, K-E. Current concepts in the treatment of disorders of micturition. *Drugs*, 1988; 35: 477-494.



74. Schreiter F, Fuchs P, Stockamp K. Estrogenic sensitivity of  $\alpha$ -receptors in the urethra musculature. *Urol int*, 1976; 31: 13-19.
75. Anderson GF, Navarro SP. The response of autonomic receptors to castration and testosterone in the urinary bladder of the rabbit. *J Urol*, 1988; 140: 885-889.
76. Ekström J, Iosif CS, Malmberg L. Effects of long-term treatment with estrogen and progesterone on in vitro muscle responses of the female rabbit urinary bladder and urethra to autonomic drugs and nerve stimulation. *J Urol*, 1993; 150: 1284-1288.
77. Levin RM, Shofer FM and Wein AJ. Estrogen-induced alterations in the autonomic responses of the rabbit urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther*, 1980; 215(3): 614-618.
78. Ek A, Andersson K-E, Gullberg B, Ulmsten U. Effects of oestradiol and combined norephedrin and oestradiol treatment on female stress incontinence. *Zentralbl Gynakol*. 1980; 102: 839-844.
79. Batra S. Estrogen and smooth muscle function. *Trends Pharmacol Sci* 1, October 1980; 388-391.
80. West CP, Williamson J, Lumsden MA, Baird DT and Lawson S. Shrinkage of uterine fibroids during therapy with goserelin (Zoladex): a luteinizing hormone-releasing hormone agonist administered as a monthly subcutaneous depot. *Fertil Steril*, July 1987; 48(1): 45-48.

81. Coutinho EM, Boulanger GA and Goncalves MT. Regression of uterine leiomyomas after treatment with gestrinone, an antiestrogen, antiprogestosterone. *Am J Obstet Gynecol*, October 1986; 155(4): 761-767.
82. Matta WHM, Shaw RW and Nye M. Long-term follow-up of patients with uterine fibroids after treatment with LHRH agonist buserelin. *Br J Obstet Gynaecol*, February 1989; 96:200-206.
83. Crow J, Gardner RL, McSweeney G and Shaw RW. Morphological changes in uterine leiomyomas treated by GnRH agonist Goserelin. *Int J Gynecol Pathol*, 1995; 14: 235-242.
84. Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner*, 1991; 15: 175-192.
85. Guan Z, Ricard G, Charest-Boulé L, Neilson K, Kiruluta G. Augmentation cystoplasty in rats: Development of an animal model. *J Urol* 1990; 144: 461-465.
86. Hietala EL. The effect of ovariectomy on periosteal bone formation and bone resorption in adult rats. *Bone Miner*, 1993; 20: 57-65.
87. Bancroft JD, Stevens A, Turner DR. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 3rd ed. Edinburgh London Melbourne and New York: Churchill Livingstone, 1990; 107-142.

88. Kiernan JA. *Histological and Histochemical methods: theory and practice*. Oxford, 1981.
89. Stein BA, Katzeff I, Norton G, de Wet G, Rosendorff C. Differential size distribution of atrial dense granules in spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Wistar rats. *Acta Anat*, 1990; 137: 331-335.
90. Jamieson JD, Palade GE. Specific granules in atrial muscle cells. *J Cell Biol* 1964; 23: 151-172.
91. Kruger MG, Claassen N: Privaat korrespondensie. Dept Fisiologie, UP.
92. Wronski TJ, Schenck PA, Cintròn M, Walsh CC. Effect of body weight on osteopenia in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int*, 1987; 40: 155-159.
93. Van Arsdalen KN, Wein AJ and Levin RM. The contractile and metabolic effects of acute ischemia on the rabbit urinary bladder. *J Urol*, July 1983; 130: 180-182.
94. Lapidès J, Costello RT, Zierdt DK, Stone TE. Primary cause and treatment of recurrent urinary infection in women: preliminary report. *J Urol*, 1968; 100: 552-555.
95. Lawson JD. Observations and dynamics of acute urinary retention in man. *J Urol*, 1952; 67(6): 951-956.

96. Wiman B, et al. Plasminogen activator released during venous stasis and exercise as determined by a new specific assay. *Clin Chim Acta*, 1983; 127: 279.
97. Gurr E. *Biological Staining Methods*. 8th ed. Johannesburg: Searle, 1973: 36-37.
98. Venable JH and Coggeshall R. A simplified lead citrate stain for use in electronmicroscopy. *J Cell Biol*, 1965; 25: 407-408.
99. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*, 1965; 25: 208-212.