А.Й.Хитрик

Запорізький державний медичний університет,
Запоріжжя, Україна

Надійшла: 06.09.2020
Прийнята: 12.10.2020

DOI: https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.98-103

УДК 611.62.018.13-02:616-097.1]-092.9

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕПІТЕЛІЮ СЛИЗОВОЇ СЕЧОВОГО МІХУРА ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ АНТИГЕНУ

Khitrik A.J. ✉ **Morphological features of the epithelium of the mucous membrane of the bladder of rats after administration of the antigen.**
Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Diseases of the urinary system and the bladder in particular (15-65% of the general pathology of the genitourinary system (SHS) is an urgent problem of medicine. The causes of these diseases are often associated with intrauterine infection. The effect of antigenic (AH) stimulation (immunomorphological influence) is poorly understood today, and aroused interest in this work. The **aim** of the study was to study the morphological features of the epithelium of the urinary bladder mucosa in rats during postnatal ontogenesis after intrauterine exposure to antigens. **Methods.** The study was carried out on 192 Wistar rats. Animals were divided into 3 groups: intact rats, control rats, which were injected with NaCl 0.9%, experimental rats, which were injected with staphylococcal toxoid intrafetally on the 18th day of intrauterine development. In each group, 64 animals were studied in 8 age periods: 1, 7, 14, 21, 30, 45, 60 and 90 days of life were taken into account (8 rats in each age cohort). The study was carried out using histological, morphometric and electron microscopic methods. The maintenance and manipulation of animals was carried out in accordance with the "General ethical principles of animal experiments." **Results.** When studying the urinary bladder mucosa of rats after exposure to the antigen, it was found that in the first 45 days there is a pronounced disorganization of the epithelium, retention of intracellular fluid, followed by partial restoration of structure by the end of the observation period. The thickness of the epithelium in experimental rats prevails over that in intact rats during most of the study period. It is important that by the end of the observation period (90 days) the epithelium in the experimental group is thinner than in the intact one.
Key words: postnatal ontogenesis, bladder, antigenic stimulation, epithelium.

Citation:
Khitrik AJ. [Morphological features of the epithelium of the mucous membrane of the bladder of rats after administration of the antigen]. Morphologia. 2020;14(3):98-103. Ukrainian.
DOI: https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.98-103

Khitrik A.J. 0000-0003-0111-6016
✉ **Orhidea_72@ukr.net**
© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Вступ

Захворювання сечовидільної системи і сечового міхура зокрема (15–65 % від загальної патології сечовидільної системи (СВС) [1] є актуальною проблемою медицини. Значний відсоток патології органів СВС у плодів і новонароджених зумовлений багатьма факторами, які впливають на розвиток плода в пренатальний період [2,3]. Однією з важливих проблем неонатології є лікування плацентарної недостатності та хронічної внутрішньоутробної гіпоксії (ХВГ) [3,4]. Причини цих процесів часто пов'язані з внутрішньоутробними інфекціями. Визивають інтерес реактивні зміни епітелію сечового міхура, в той час як, представляючись бар'єрною, тканина може потенціювати ряд патологічних процесів у стенці органу.

Вплив антигенної (АГ) стимуляції на СВС (імуноморфологічний вплив) є на сьогодні маловивченим, що зумовлює увагу до нього в даній роботі.

Метою дослідження було вивчити морфологічні особливості епітелію слизової сечового міхура щурів в період постнатального онтогенезу після внутрішньоутробного впливу антигенів.

Матеріали та методи

Дослідження проводилося на 192 щурах лінії «Вістар». Тварини були розподілені на 3 групи: перша – інтактна група (ІГ), друга – контрольна група (КГ), яким вводили фізіологічний розчин 0,9 % NaCl (хлориду натрію) внутрішньоплідно на 18 добу внутрішньоутробного розвитку, третя група – експериментальна група (ЕГ), яким вводився стафілококовий анатоксин

внутрішньоплідно на 18 добу внутрішньоутробного розвитку.

У кожній групі було досліджено по 64 тварини у 8 вікових періодах: до уваги бралися 1, 7, 14, 21, 30, 45, 60 і 90 доба життя (по 8 щурів у кожній віковій когорті). Утримання та маніпуляції над тваринами проводилися згідно з «Спільними етичними принципами експериментів над тваринами», прийнятими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), також керувалися рекомендаціями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [5,6]. Забій тварин проводили після попереднього спорожнення сечового міхура, переважно, з 13:00 до 14:00 з урахуванням циркадних ритмів. Зміни, які відбувалися з покривним епітелієм протягом періоду дослідження, були вивчені за допомогою гістологічних, морфометричних [7,8] і електронномікроскопічних методів. Дослідження та мікрофотографування проводили за допомогою мікроскопу ZEIZZ з цифровою мікрофотонасадкою Axiocam 105 color. Кількісний аналіз результатів морфометричного дослідження проводили методами варіаційної статистики з використанням програм Excel і STATISTICA [9]. Була визначена середня товщина уротелію слизової оболонки.

Результати та їх обговорення

На першу добу життя епітелій сечових міхурів щурів експеріметальной групи представлений 3–4 шарами клітин у всіх відділах сечового міхура щура. Епітеліоцити з вираженим просвітленням цитоплазми, нечітко окресленими ядрами, містили в цитоплазмі великі незабарвлені пухирчасті утворення – вакуолі, в кількості 1–3. Вакуолізованих клітин більше в базальних шарах епітелію. Шари епітеліоцитів не впорядковані, клітини різнорозмірні, пошарова анізоморфія простежується важко. Товщина епітелію становить 3,61 мкм (табл. 1) і не відрізняється статистично достовірно від товщини епітелію новонароджених щурів інтактної та контрольної груп.

Таблиця 1

Товщина епітелію слизової сечових міхурів

Вік, доба	Товщина эпителію, мкм ЕГ	Товщина эпителію, мкм ІГ	Товщина епітелію, мкм КГ
1	3,61±0,28	3,91±0,33	3,58 ±0,97
7	7,40±0,96*	6,34±0,30	7,24±0,18*
14	8,9520,66*	7,193 ±0,23	6,90±0,55
21	13,81±0,57*	10,88±0,76	10,95±0,25
30	14,45±0,57*	12,68±0,70	10,53±0,70*
45	12,93±0,40	13,09±3,60	12,98±0,15
60	17,45±1,42	14,30±3,19	16,81±0,96
90	12,87±0,52*	13,60±0,81	13,87±0,32

Примітка* – умовне позначення статистичної достовірності відмінностей за цим показником експериментальної групи відносно інтактної. При показнику $p<0,05$ різниця вважається статистично значущою.

Електронномікроскопічні дані свідчать про дезорганізацію епітелію. Структура епітеліоцитів гомогенізована. В ядрі насилу можливо диференціювати еухроматин і гетерохроматин. Органели важкопомітні. У цитоплазмі багато вакуолій і дегенерованих мітохондрій (значна кількість мітохондрій із частковою редукцією крист, помірною набряклостю, поширення цистерн ендоплазматичної сітки, апарату Гольджі). Таким чином було виявлено, що в епітеліоцитах відбувалася внутрішньоклітинна затримка рідини

На протязі перших 45 діб в ультраструктурі епітелію (рис. 1) також спостерігалася виражена вакуолізація цитоплазми клітин, дегенерація мітохондрій, загальна гомогенізація внутрішньоклітинного вмісту, які посилювалися протягом першого місяця досліджуваного періоду життя експериментальних щурів. з подальшим відновленням внутрішньоклітинної структури.

Зміни внутрішньоклітинної структури супроводжувалися порушенням упорядкованості пошарової анізоморфії тканини. Клітини епітелію були частково вакуолізовані й фрагментовані (рис. 2). Присутня розмитість контурів клітинних мембран, ядерних мембран. Шаровість розташування епітеліоцитів змінена порівняно з ІГ. Межа переходу між шаром перехідного епітелію і ПВСТ нечітка. Ознаки дезорганізації епітеліальної тканини було помітно, причому з посиленням, протягом першого місяця досліджуваного періоду життя експериментальних щурів.

Після 30 діб життя на тлі ознак дезорганізації тканини починали з'являтися ознаки репаративних процесів у вигляді клітин, які діляться, поліпшення структурності (рис. 3).

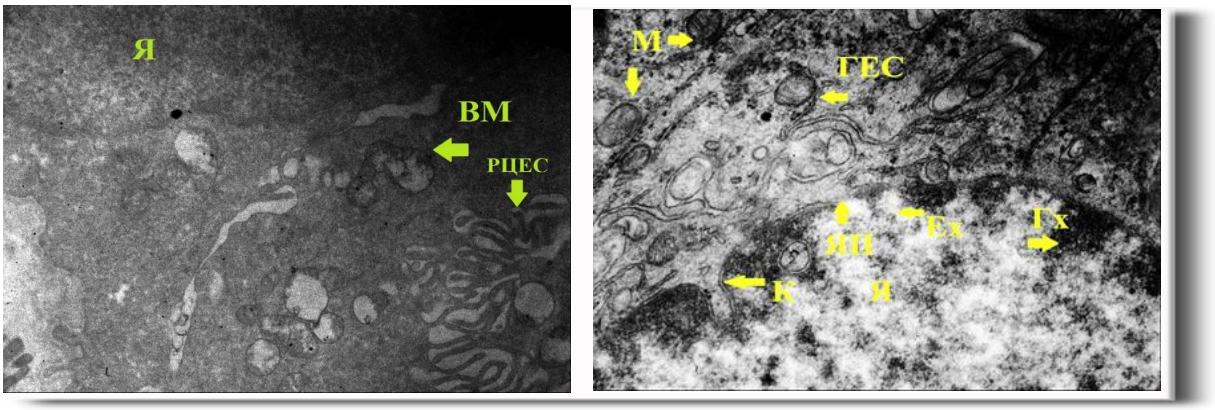

Рис. 1. Електронна мікрофотографія. Епітелій. Зліва – експеримент, зправа - інтакт. 14 доба. Я – ядро; ВМ – вакуолізовані мітохондрії; ЯП – ядерна пора; ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка; М – мітохондрія; Ех – еухроматин; Гх – гетерохроматин; К – каріолема; РЦЕС – розширени цистерни ендоплазматичної сітки. ×7500.

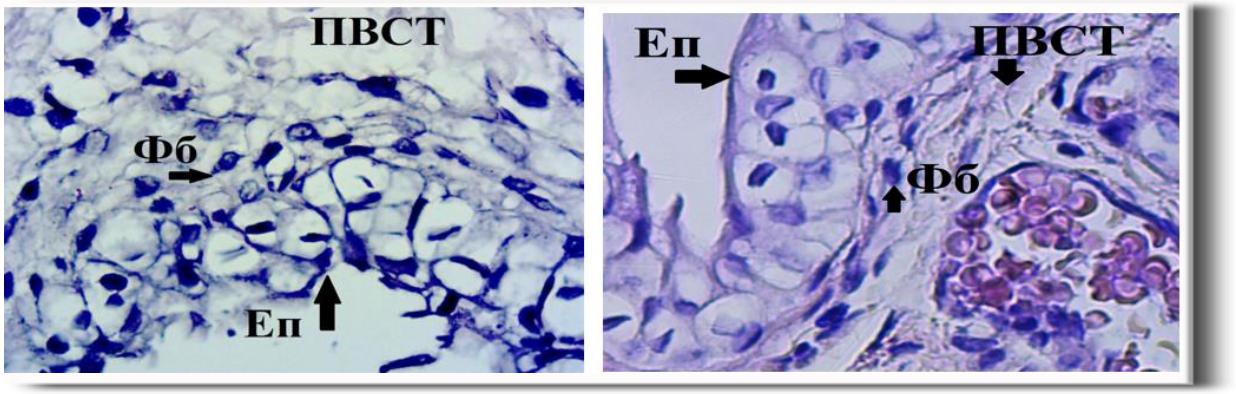

Рис. 2. Слизова сечового міхура. Забарвлення гемотоксилином і еозином. Зліва - експеримент, зправа - інтакт. 7 доба. Еп – епітелій; ПВСТ – пухка волокниста сполучна тканина; Фб – фібробласт. ×400.

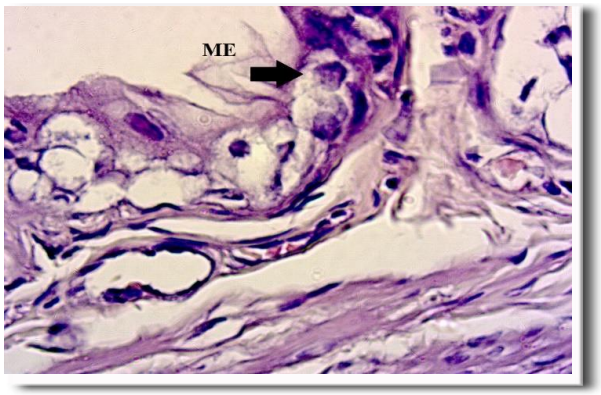

Рис. 3. Мітоз епітелію. МЕ – мітоз епітелію. Забарвлення гемотоксилином і еозином. 30 доба. Експеримент. ×400.

Товщина епітелію слизової СМ експериментальних щурів до кінця досліджуваного періоду збільшилася щодо тієї, яка була при народженні.

Перший «крутий» підйом цього показника спостерігався до 21–30 добу, далі, після невеликого зниження, – ще один нерізкий підйом до максимального значення до 60 доби життя із подальшим невеликим зниженням до кінця періоду спостереження (рис. 4). Дані зміни співвідносяться з подібною динамікою таких в ІГ, однак, є відмінності. Крива змін товщини епітелію у інтактній групі більш полога, ніж у експериментальній (на підтвердження цього значення коефіцієнта кореляції R для інтактної групи 0,83 (0,67 у експериментальній), що відображає лінійність залежності показника від віку). До моменту народження епітелій експериментальної й інтактної груп мав однакову товщину. Далі протягом першого місяця життя спостерігалося виражене перевищення цього показника в експериментальній групі відносно інтактної, потім, до 45 доби значення показників зрівнюються і далі майже до кінця періоду спостереження відзначається перевага товщини епітелію в експериментальній групі відносно інтактної. До кінця періоду спостереження (90 діб) значення товщини епітелію було менше, ніж в інтактній групі.

Таким чином, на тлі змін епітелію від вираженої дезорганізації, що спостерігалася в перший місяць життя експериментальних щурів, і до подальшого часткового відновлення структурності

до кінця періоду спостереження, встановлено, що товщина епітелію у експериментальних щурів переважає над такою в інтактних протягом більшої частини досліджуваного періоду. Важливо, що до кінця періоду спостереження (90 діб) епітелій в експериментальній групі тонший (рис. 5), ніж у інтактній.

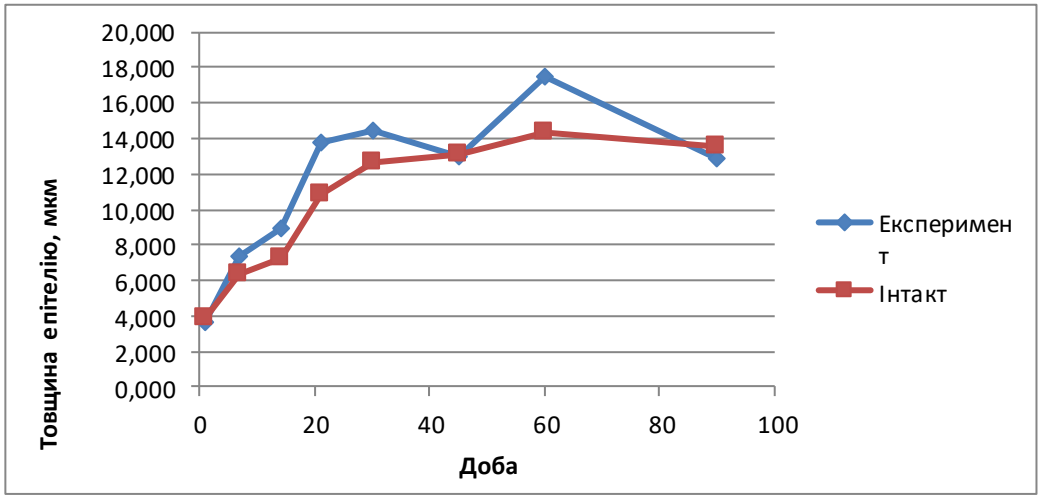

Рис. 4. Динаміка товщини епітелію слизової оболонки сечового міхура у щурів експериментальної й інтактної груп.

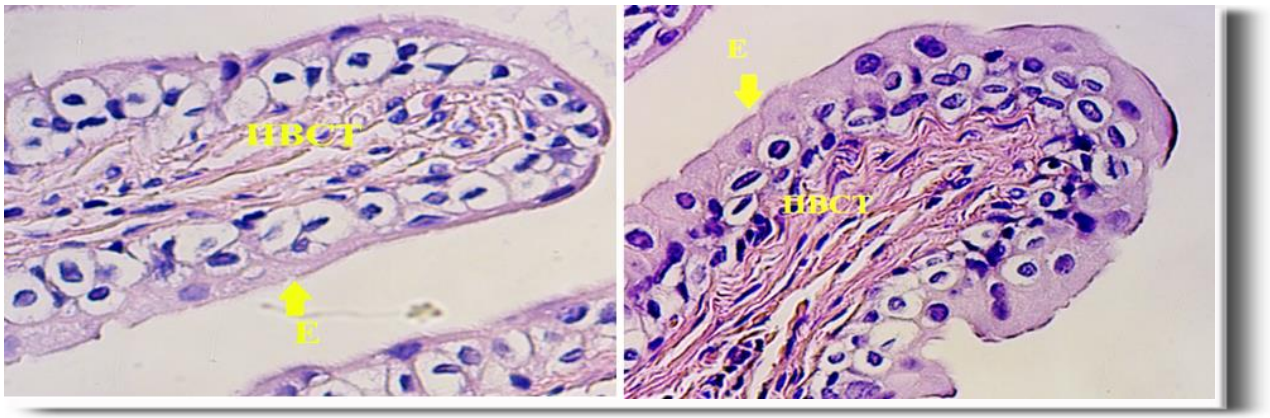

Рис. 5. Складка слизової сечового міхура щура. Е – епітелій; ПВСТ – пухка волокниста сполучна тканина. Забарвлення гемотоксилином і еозином. 90 доба. Зліва - експеримент, зправа - інтакт. ×400.

Таким чином, на тлі змін епітелію від вираженої дезорганізації, що спостерігалася в перший місяць життя експериментальних щурів, і до подальшого часткового відновлення структурності до кінця періоду спостереження, встановлено, що товщина епітелію у експериментальних щурів переважає над такою в інтактних протягом більшої частини досліджуваного періоду. Важливо, що до кінця періоду спостереження (90 діб) епітелій в експериментальній групі тонший (рис. 5), ніж у інтактній. Тож слід припустити, що внутрішньоутробна антигенна стимуляція стафілококовим анатоксином може послужити причиною стоншування епітелію СМ у зрілому віці щурів. Характер же динаміки змін за цим показником подібний і в експериментальній, і в інтактній групах. Однак, значення коефіцієнтів кореляції товщини епітелію від віку, пораховані в експериментальній і інтактній групах свідчать про меншу лінійності цієї залежності в експериментальній групі, що демонструє вплив умов експерименту на даний показник.

Підсумок

Внутрішньоутробний вплив стафілококового анатоксину може бути причиною морфологічних змін в епітелії у вигляді затримки внутрішньоклітинної рідини, порушення його структурності, потовщення з 1 по 45 добу життя щурів, з подальшим частковим відновленням внутрішньоклітинної і тканинної структури і стоншуванням епітелію сечового міхура на 90 добу.

Перспективи подальших розробок

Передбачається продовжити вивчення морфологічних змін в структурах стінки сечового міхура щурів, які зазнали внутрішньоутробної стимуляції.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-

дослідної роботи «Морфофункціональні особливості слизових оболонок внутрішніх органів людини і тварин в нормі та після введення антигену» (номер державної реєстрації 0103U00939).

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела
References

1. Burger M, Catto JW, Dalbagni G, Grossman HB, Herr H, Karakiewicz P, et al. [Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer]. European urology. 2013; 63(2):234-241. English. doi: 10.1016/j.eururo. 2012.07.033.

2. Voloshin NA, Svetlitsky AA, Chugin SV, Vasilchuk NG. [Intrauterine antigen administration is a risk factor for the formation of the organs of newborns] Pathologia. 2008; 5(4): 23-23. Ukrainian.

3. Bondarenko NP, Zhezhera VM, Aksonova AV. [Fetal myocarditis – a precursor of undesirable consequences of intrauterine infection with parvovirus B19]. Pathologia. 2019; 16(1): 21–26. Ukrainian. DOI: 10.14739/2310-1237. 2019.1.166183

4. Babintseva AG. [Pathogenetic aspects of the functional breakdown of the secular system in full-term newborn babies with pathology of the early neonatal period]. Neonatology, surgery and perinatal medicine. 2017; 3(25): 34–43. Ukrainian.

5. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe. 18 Mar 1986; 53 p.

6. Kozhemyakin YuM, Khromov OS, Filonenko MA, Sayfetdinova GA, authors; Naukovo-praktychni rekomendatsiyi z utrymannya laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy [Scientific and practical advice on the maintenance of laboratory animals and work with them]. Kyiv: Avitsenna; 2002. 265 p. Ukrainian.

7. Merkulov GA, authors; Kurs patohistologicheskoy tehniki [Course of pathohistological techniques] Leningrad: Meditsina; 1969. 87 p. Russian.

8. Avtandilov GG, author. Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii [Fundamentals of quantitative pathological anatomy]. Moscow: Meditsina; 2002. 308 p. Russian.

9. Lapach SN, Chubenko AV, Babych PN. [Statistical methods in medical-biological studies using Exel]. Kiev: Morion; 2000. 320 p. Russian

Хитрик А.Й. Морфологічні особливості епітелію слизової сечового міхура щурів після введення антигену.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Захворювання сечовидільної системи і сечового міхура зокрема (15–65 % від загальної патології сечовидільної системи (СВС) є актуальною проблемою медицини. Причини цих захворювань часто пов’язані з внутрішньоутробними інфекціями. Вплив антигенної (АГ) стимуляції на СВС (імуноморфологічний вплив) на сьогодні є маловивченим, що зумовлює увагу до нього в даній роботі. **Метою** дослідження було вивчити морфологічні особливості епітелію слизової сечового міхура щурів в період постнатального онтогенезу після внутрішньоутробного впливу антигенів. **Методи.** Дослідження проводилось на 192 щурах лінії «Вістар». Тварини були розподілені на 3 групи: інтактні щури, контрольні щури, яким вводився NaCl 0,9%, експериментальні щури, яким вводився стафілококовий анатоксин внутрішньоплідно на 18 добу внутрішньоутробного розвитку. У кожній групі було досліджено по 64 тварини у 8 вікових періодах: до уваги бралися 1, 7, 14, 21, 30, 45, 60 і 90 доба життя (по 8 щурів у кожній віковій когорті). Дослідження проводилось за допомогою гістологічних, морфометричних і електронномікроскопічних методів. Утримання і маніпуляції над тваринами проводили згідно з «Спільними етичними принципами експериментів на тваринах». **Результати та підсумок.** При вивченні слизової сечового міхура щурів після впливу антигену було встановлено, у перши 45 діб спостерігається виражена дезорганізація епітелію, затримання внутрішньоклітинної рідини з подальшим частковим відновленням структурності до кінця періоду спостереження. Товщина епітелію у експериментальних щурів переважає над такою в інтактних протягом більшої частини досліджуваного періоду. Важливо, що до кінця періоду спостереження (90 діб) епітелій в експериментальній групі тонший, ніж у інтактній.

Ключові слова: постнатальний онтогенез, сечовий міхур, антигенна стимуляція, епітелій.

Хитрик А.И. Морфологические особенности эпителия слизистой мочевого пузыря крыс после введения антигена.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Заболевания мочевыделительной системы и мочевого пузыря в частности (15-65% от общей патологии мочеполовой системы (МВС) являются актуальной проблемой медицины. Причины этих заболеваний часто связаны с внутриутробной инфекцией. Влияние антигенной (АГ)

стимуляции на МВС (иммуноморфологическое влияние) на сегодня малоизученно, и вызвало интерес в данной работе. **Целью** исследования было изучить морфологические особенности эпителия слизистой мочевого пузыря крыс в период постнатального онтогенеза после внутриутробного воздействия антигенов. **Методы.** Исследование проводилось на 192 крысах линии «Вистар». Животные были разделены на 3 группы: интактные крысы, контрольные крысы, которым вводился NaCl 0,9%, экспериментальные крысы, которым вводился стафилококковый анатоксин внутриплодно на 18 сутки внутриутробного развития. В каждой группе было исследовано по 64 животные в 8 возрастных периодах: в расчет брались 1, 7, 14, 21, 30, 45, 60 и 90 сутки жизни (по 8 крыс в каждой возрастной когорте). Исследование проводилось с помощью гистологических, морфометрических и электронномикроскопических методов. Содержание и манипуляции над животными проводили согласно с «Общими этическими принципами экспериментов на животных». **Результаты и заключение.** При изучении слизистой мочевого пузыря крыс после воздействия антигена было установлено, что в первые 45 суток наблюдается выраженная дезорганизация эпителия, задержка внутриклеточной жидкости с последующим частичным восстановлением структурности к концу периода наблюдения. Толщина эпителия у экспериментальных крыс преобладает над таковой у интактных на протяжении большей части исследуемого периода. Важно, что к концу периода наблюдения (90 суток) эпителий в экспериментальной группе тоньше, чем в интактной.

Ключевые слова: постнатальный онтогенез, мочевой пузырь, антигенная стимуляция, эпителий.