



جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

اصلاح أذى المثانة البولية باستعمال غشاء الثامور البكري الأخلوبي والليفين الغني بالصفيحات الدموية في الكلاب

صهيب محمد عامر حامد عبد الله

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الجراحة البيطرية

إشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

فؤاد مؤيد محمد سعيد

اصلاح أذى المثانة البولية باستعمال غشاء التامور البَقْرِيِّ الْأَخْلَوِيِّ وَالْلَّيفِينِ الْغَنِيِّ بِالصُّفِيَّحَاتِ الدَّمَوِيَّةِ فِي الْكِلَابِ

رسالة تقدّم بها

صهيب محمد عامر حامد عبد الله

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير
في اختصاص الطب البيطري / الجراحة البيطريية

إشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

فؤاد مؤيد محمد سعيد

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*نَرْفَعُ دَرَجَاتٍ مَنْ
نَشَاءُ قَلَّ وَفُوقَ كُلِّ
ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ *

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

إقرار المشرف

أشهدُ بأنَّ إعداد هذه الرسالة قد جرى بإشرافِي في جامعة الموصل، وهي جزءٌ من متطلبات نيلِ شهادة الماجستير في اختصاص الطبِّ البيطري / الجراحة البيطرية.

التوقيع:

المشرف: أ.م.د. فؤاد مؤيد محمد

التاريخ: / / 2024 م

إقرار المقوم اللغوي

أشهدُ بأنَّ هذه الرسالة الموسومة (اصلاح أذى المثانة البولية باستعمال غشاء التامور البقري اللاإلخوي والليفين الغني بالصفائح الدموية في الكلب) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

الاسم: أ.م.د. ريم محمد طيب

التاريخ: / / 2024 م

إقرار المقوم الاحصائي

أشهدُ بأنَّ هذه الرسالة الموسومة (اصلاح أذى المثانة البولية باستعمال غشاء التامور البقري اللاإلخوي والليفين الغني بالصفائح الدموية في الكلب) تمت مراجعتها من الناحية الإحصائية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء إحصائية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم: م.د. عمر قصي جاسم

التاريخ: / / 2024 م

إقرار رئيس فرع الجراحة وعلم تناول الحيوان

بناءً على التوصيات المقدمة من المشرف والمقوم اللغوي والمقوم الاحصائي، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.د. محمد عبد الله رحاوي

التاريخ: / / 2024 م

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من المشرف والمقوم اللغوي والمقوم الاحصائي ورئيس فرع الجراحة وعلم تناول الحيوان، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ. د. رعد عبد الغني السنجري

التاريخ: / / 2024 م

إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة التقويم والمناقشة، قد اطلعنا على هذه الرسالة وناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما لها علاقة بها بتاريخ / 2024، وأنه جدير لنيل شهادة الماجستير في اختصاص الجراحة البيطرية.

عضو لجنة المناقشة

أ.م.د. عمر طارق حمودي

التاريخ: / 2024 م

عضو لجنة المناقشة

أ.م.د. هديل باسم ذنون

التاريخ: / 2024 م

عضو لجنة المناقشة (المشرف)

أ.م.د. فواد مؤيد محمد

التاريخ: / 2024 م

رئيس لجنة المناقشة

أ.د. أسماء حسين علاوي

التاريخ: / 2024 م

قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل بجلسته (.....) والمنعقدة بتاريخ: / 2024 م، وقرر منحه شهادة الماجستير في اختصاص الجراحة البيطرية بتقدير

عميد الكلية

الاسم: أ. د. ظافر محمد عزيز

التاريخ: / 2024 م

مقرر مجلس الكلية

الاسم: أ. د. رعد عبد الغني السنجري

التاريخ: / 2024 م

شكر وتقدير

الشكر والحمدُ والفضل والمنة لله سبحانه وتعالى جلَّ جلاله في الأول والآخر، لِمَا أنعم على من الصبر والقوة والتوفيق لإتمام العمل وإنجازه، فالحمد لله على نعمه وفضله. فلا يسعني بعد توفيق الله وفضله إلا أن أتقدم بالشكر والتقدير والامتنان لكل من مَدَ لي يَدَ العون والمساعدة وأبتدئ بأستاذي الكريم المساعد الدكتور فؤاد مؤيد محمد وفقه الله وأمده بالعافية وطول العمر، وذلك لما قدمه لي من توجيهات قيمة ومهمة ساهمت في إثراء موضوع البحث في جميع جوانبه، كما أتقدم بالشكر والتقدير والاحترام إلى عمادة كلية الطب البيطري وأتقدم بالشكر والتقدير والامتنان لرئيس فرع الجراحة وعلم تناول الحيوان لما قدمه لي من دعم ومساندة طيلة فترة العمل والشكر والتقدير والاحترام لجميع الأساتذة والتدريسين في فرع الجراحة وعلم تناول الحيوان إذ كانوا لي خير عون وسند، والشكر والتقدير لكل الأساتذة والتدريسين في جميع الفروع في كلية الطب البيطري لما قدموه لي من دعمٍ معنوي وعلمي.

وكل الحب والوفاء والشكر والتقدير والامتنان إلى عائلتي الكريمة مُتمثلاً بوالدتي العزيزة وزوجتي وأبنائي وأخواني وأخواتي الأعزاء لما قدموه لي من الدعم المعنوي النفسي والمساندة والمساعدة لإكمال هذا العمل وشكري وتقديرني لزملائي طلبة الدراسات العليا في فرع الجراحة لمساندتهم ومساعدتهم وتعاونهم معَي طول فترة الدراسة النظرية والعملية ومن الله التوفيق.

الباحث

الخلاصة

صممت هذه التجربة لدراسة كفاءة اصلاح اذى المثانة البولية بالتمور البكري اللاخلوي سواء لوحده او مع الليفين الغني بالصفائح الدموية. وقد شملت الدراسة الحالية 18 حيواناً من الكلاب المحلية البالغة ومن الذكور فقط، حيث تم فيها احداث جرح استئصالي دائري كامل الطبقات في المثانة البولية (بقطار 3 سم). ثم قسمت الحيوانات إلى مجموعتين متساوية (9 حيوانات لكل منها)، الاولى مجموعة التامور البكري اللاخلوي: تم فيها ترقيع المثانة برقة التامور البكري اللاخلوي بقطار (4 سم) من دون اي علاج اضافي والمجموعة الثانية، مجموعة التامور البكري اللاخلوي والليفين الغني بالصفائح الدموية: تم فيها ترقيع المثانة برقة التامور البكري اللاخلوي مع اضافة الليفين الغني بالصفائح الدموية.

تم متابعة عملية التئام الرق مع نسيج المثانة من خلال اجراء الفحص السريري للحيوانات خلال 45 يوماً بعد العملية واجراء فحص الكيماء الحيوية لتقدير كمية اليوريا والكرياتينين وبروتين متفاعل - سي للمدد صفر، 3، 7 و 15 يوم بعد العملية اضافة الى اجراء الفحص الشعاعي للمدد 7، 15، 30 و 45 يوماً بعد العملية فضلاً عن اجراء الفحص المرضي العياني لمكان الترقيع للمدد 15، 30 و 45 يوماً بعد العملية. وكذلك تم اجراء الفحص النسجي المرضي للعينات المأخوذة من مكان الترقيع، علاوة عن اجراء الفحص النسجي الكيميائي المناعي للكشف عن الفيروسات وعامل نمو بطانة الاوعية الدموية للمدد 15، 30 و 45.

لقد اظهرت النتائج السرسرية عدم حدوث رفض لرقة التامور البكري اللاخلوي في كل المجموعتين وعدم حصول اي تسرب للبول او حدوث فشل في تقبيل الرق في مكان الترقيع. بينما اظهرت فحص الكيماء الحيوية ارتفاع في مستوى اليوريا، الكرياتينين وبروتين متفاعل - سي خلال مدة 3 و 7 ايام بعد العملية وخاصة في المجموعة الاولى. في حين اشار الفحص الشعاعي الى تحسن تريجي في عملية التئام رق التامور مع نسيج المثانة وهذا التحسن كان افضل في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعة الاولى. في حين اظهر الفحص المرضي العياني تكون التصاقات في المجموعة الاولى واندماج افضل وأحسن لرقة التامور مع المثانة في حيوانات المجموعة الثانية بينما الفحص النسجي المرضي فقد اظهر ان عملية الالتئام كانت افضل في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعة الاولى وذلك من خلال قلة ارتشاح الخلايا الالتهابية وزيادة تكوين النسيج الحبيبي وسرعة نضجه وسرعة اندماج الرق مع نسيج المثانة. ولقد اظهر الفحص النسجي المناعي الكيميائي للفيروسات وعامل نمو بطانة الاوعية الدموية ارتفاع مستوى هذا العامل

خلال المدد 15، 30 و 45 في كلا المجموعتين وكان ارتفاع عامل نمو بطانة الاوعية الدموية أكثر في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعة الاولى.

نستنتج من هذه الدراسة ان استعمال رق عالم التامور البكري اللاخلوي ذو كفاءة في ترقيع المثانة وعلاج اذى المثانة سواء لوحدها او مع الليفين الغني بالصفائح الدموية وان اضافة الليفين الى رق عالم التامور البكري اللاخلوي قد ساعد على اندماج هذه الرق مع نسيج المثانة وعمل على تحسين وتسريع عملية الالئام.

ثُبَّت المحتويات

| رقم الصفحة | الموضوع |
|------------|---|
| أ | الخلاصة |
| ج | ثُبَّت المحتويات |
| و | ثُبَّت الأشكال |
| ك | ثُبَّت الجداول |
| ي | ثُبَّت المختصرات |
| 1 | الفصل الأول: المقدمة |
| 4 | الفصل الثاني: استعراض المراجع |
| 4 | 1-2: التركيب التشريحي للمثانة البولية Anatomical structure of urinary bladder |
| 5 | 2-2: التركيب النسيجي للمثانة البولية Histological structure of urinary bladder |
| 6 | 3-2: اربطة المثانة البولية Ligaments of Urinary Bladder |
| 6 | 4-2: التجهيز الدموي واللمفاوي للمثانة البولية The vascular and lymphatic supply of urinary bladder |
| 7 | 5-2: التجهيز العصبي للمثانة البولية Nervous supply of urinary bladder |
| 8 | 6-2: تشوهات المثانة البولية Anomalies of urinary bladder |
| 8 | 7-2: اصابات المثانة البولية Affection of the urinary bladder |
| 9 | 8-2: رأب المثانة Cystoplasty |
| 10 | 9-2: بضع المثانة Cystotomy |
| 11 | 10-2: عملية التئام الرقع مع نسيج المثانة البولية Grafts healing with urinary bladder tissue |
| 12 | 11-2: الليفين الغني بالصفائح الدموية Platelet rich fibrin |
| 13 | 12-2: المواد الحيوية المستعملة في تجديد المثانة البولية Biomaterial in urinary bladder regeneration |
| 17 | 13-2: طرائق إزالة الخلايا من الانسجة methods |
| 20 | 14-2: الفحوصات الكيميائية الحيوية Biochemical examinations |
| 22 | 15-2: الفحص النسجي المناعي الكيميائي examinations Immunohistochemistry |

| | |
|----|--|
| 23 | 16: التصوير الشعاعي للمنطقة البولية Cystography |
| 24 | 17-2: الرفض المناعي للرقة الحيوية Immunorejection of biomaterials |
| 26 | الفصل الثالث: المواد وطرق العمل |
| 26 | 1-3: الحيوانات Animals |
| 26 | 2-3: المواد المستعملة Materials |
| 26 | 2-3-1: الأدوية والمواد الكيميائية |
| 27 | 2-3-2: الأجهزة والأدوات المستعملة في الدراسة |
| 27 | 3-3: تصميم التجربة Experimental design |
| 29 | 4-3: تحضير الحيوانات |
| 30 | 5-3: تخدير الحيوانات |
| 30 | 6-3: تحضير غشاء التامور البقري اللاإلخوي Preparation of acellular bovine pericardium |
| 31 | 7-3: تحضير الليفين الغني بالصفائح الدموية Fibrin rich platelet processing (PRF) |
| 32 | 8-3: العملية الجراحية Surgical operation |
| 35 | 9-3: العناية بالحيوانات بعد العملية الجراحية Post-operative care |
| 35 | 10-3: الفحوصات المتبعة بعد اجراء عملية الترقيع |
| 35 | 1-10-3: الفحص السريري Clinical examination |
| 35 | 2-10-3: الفحوصات الكيميائية الحيوية Biochemical analysis |
| 36 | 3-10-3: الفحص الشعاعي Radiographic examination |
| 37 | 4-10-3: الفحص المرضي العياني Macropathological examination |
| 38 | 5-10-3: الفحص النسجي المرضي Histopathological examination |
| 38 | 6-10-3: الفحص النسجي المناعي الكيميائي Immunohistochemistry |
| 39 | 11-3: التحليل الاحصائي للنتائج Statistical analysis |
| 40 | الفصل الرابع: النتائج |
| 40 | 4-1: التقييم النسجي للإزالة الخلوية لغشاء التامور البقري The histological assessment of bovine pericardium decellularization |

| | |
|-----|--|
| 41 | 2-4: العلامات السريرية |
| 42 | 3-4: الفحوصات الكيميائية الحيوية |
| 42 | 1-3-4: قياس تركيز البيريا |
| 43 | 2-3-4: قياس تركيز الكرياتينين |
| 44 | 3-3-4: قياس تركيز بروتين متفاعل -سي |
| 44 | 4-4: الفحص الشعاعي |
| 50 | 5-4: الفحص المرضي العياني |
| 53 | 6-4: الفحص النسجي المرضي |
| 57 | 7-4: الفحص النسجي المناعي الكيميائي |
| 60 | الفصل الخامس: المناقشة |
| 60 | 1-5: تحضير غشاء التامور البكري الالخلوي |
| 61 | 2-5: العملية الجراحية |
| 62 | 3-5: الفحص السريري |
| 63 | 4-5: الفحوصات الكيميائية الحيوية |
| 65 | 5-5: الفحص الشعاعي |
| 66 | 6-5: الفحص المرضي العياني |
| 68 | 7-5: الفحص النسجي المرضي |
| 69 | 8-5: الفحص النسجي الكيميائي المناعي |
| 72 | الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات |
| 72 | 1-6: الاستنتاجات |
| 73 | 2-6: التوصيات |
| 74 | المصادر |
| 98 | الملاحق |
| 98 | الملحق 1 |
| 99 | الملحق 2 |
| 100 | الملحق 3 |
| A | Abstract |

ثبات الأشكال

| رقم الصفحة | اسم الشكل | رقم الشكل |
|------------|--|-----------|
| 5 | يوضح منظر ظهري للمثانة البولية في الكلب | 1-2 |
| 29 | مخطط تصميم التجربة | 1-3 |
| 31 | غشاء التامور البكري الالخلوي بعد التحضير | 2-3 |
| 32 | يبين الليفين الغني بالصفائح الدموية المحضر من الدم | 3-3 |
| 33 | يوضح عمل جرح استئصالي كامل السماكة دائري بقطر 3 سم في جدار المثانة البولية | 4-3 |
| 34 | يوضح عملية ترقيع المثانة البولية بغضاء التامور البكري الالخلوي بقطر 4 سم في المجموعة الأولى | 5-3 |
| 34 | يوضح ترقيع المثانة البولية بغضاء التامور البكري الالخلوي مع اضافة الليفين الغني بالصفائح الدموية في المجموعة الثانية | 6-3 |
| 36 | يوضح المواد والمستلزمات الخاصة بإجراء فحص بروتين متفاعل -سي في الكلاب | 7-3 |
| 37 | يوضح الوسط التباین الموجب (اليود العضوي). | 8-3 |
| 40 | مقطع نسجي لغلاف التامور البكري الالخلوي الطبيعي يبين وجود النواة (السهم الاسود)، الصبغة هيماتوكسيلين ايروسين. قوة التكبير 40X | 1-4 |
| 41 | مقطع نسجي لغضاء التامور البكري الالخلوي يوضح عدم وجود الخلايا مع ترسب الياف الكولاجين (السهم الاسود) الصبغة هيماتوكسيلين ايروسين. قوة التكبير 20X. | 2-4 |
| 46 | صور شعاعية للمثانة البولية في اليوم السابع بعد عملية الترقيع (أ) "منظر بطني ظهري و(ب): منظر جانبي للمجموعة الاولى يبين بأن الجزء البطني منتفخ وذو شكل متغير غير منتظم ولا يوجد فشل في اندماج الرقعة مع نسيج المثانة ولا يوجد انتفاخ جانبي في جدار المثانة ولا يوجد عيوب في الرقعة او انتفاخ بالجدار (رتنج) او تسرب للبول. (ج): منظر بطني ظهري و(د): منظر جانبي في حيوانات المجموعة الثانية يبين ان الجزء العلوي من المثانة شبه منتفخ مع انتظام في القمة (السهم الاصفر). وفي المنطقة الامامية العلوية لجدار المثانة (موقع الرقعة) لا يوجد اي عيوب تدل الى فشل التحام الرقعة مع نسيج المثانة. اضافة الى عدم وجود اي انتفاخ جانبي في جدار المثانة (رتنج) او تسرب للبول تشير النجمة الى جزء من انتفاخ القسطرة | 3-4 |

| | | |
|----|---|-----|
| 47 | <p>صور اشعاعية للمثانة البولية في اليوم السابع بعد عملية الترقيع (أ) منظر بطني ظهري و(ب): منظر جانبي للمجموعة الاولى يوضح انتفاخ المثانة بشكل كمثري ثابت، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام في القبة (السهم الاصفر) والمنطقة العلوية لجدار المثانة (موقع الترقيع) ولا توجد عيوب في الحشو ولا يوجد انتفاخ في الجدار (رتج) ولا يوجد تسرب بول مؤكد. (ج): منظر بطني ظهري و(د): منظر جانبي في حيوانات المجموعة الثانية يبين ان الجزء العلوي من المثانة شبه منتفخ مع شكل الكمثري المتغير، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام في القبة (السهم الاصفر) والمنطقة العلوية الامامية من المثانة لجدار المثانة (موقع الرقعة) وجزء من انتفاخ القسطرة (نجمة صفراء) ولا يوجد انتفاخ في الجدار (رتج) ولا يوجد تسرب بول مؤكد</p> | 4-4 |
| 48 | <p>صور شعاعية للمثانة البولية في اليوم الثلاثون بعد عملية الترقيع (أ) منظر بطني ظهري و(ب): منظر جانبي للمجموعة الاولى. بينما (ج): منظر بطني ظهري و(د): منظر جانبي في حيوانات المجموعة الثانية يوضح تشابه العلامات الشعاعية في كلا المجموعتين اذ تبين الصور انتفاخ المثانة بشكل كمثري ثابت، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام في القبة (السهم الاصفر) والمنطقة العلوية لجدار المثانة (موقع الرقعة) ولا توجد عيوب في الرقعة ولا يوجد تسرب بول مؤكد والنجمة الصفراء تبين جزء منطقة انتفاخ القسطرة</p> | 5-4 |
| 49 | <p>صور شعاعية للمثانة البولية في اليوم الثلاثون بعد عملية الترقيع (أ) منظر بطني ظهري و(ب): منظر جانبي للمجموعة الاولى يوضح توسيع المثانة بشكل كمثري ثابت، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام في القبة (السهم الاصفر) والمنطقة العلوية لجدار المثانة (موقع الرقعة) لا توجد عيوب في الرقعة ولا يوجد انتفاخ في الجدار الخارجي (رتج) ولا يوجد تسرب بول مؤكد. (ج): منظر بطني ظهري و(د): منظر جانبي في حيوانات المجموعة الثانية يبين ان الجزء البطني منتفخاً بشكل جيد مع شكل الكمثري ثابت وله جدار منتظم وأملس ولا توجد عيوب في الترقيع ولا يوجد انتفاخ في الجدار ولا يوجد تسرب بول مؤكد</p> | 6-4 |
| 51 | <p>يبين المظاهر العياني المرضي لرقة التامور المغروسة في نسيج المثانة بعد 15 يوماً من عملية الترقيع في حيوانات المجموعة الاولى (السهم الاصفر): يشير الى الالتصاقات والاحتقان في مكان الترقيع (ب): المجموعة الثانية يبين عدم وجود التصاقات مع التحام جيد بين الرقعة ونسيج المثانة</p> | 7-4 |
| 51 | <p>يبين المظاهر العياني المرضي لرقة التامور المغروسة في نسيج المثانة بعد 15 يوماً من عملية الترقيع في حيوانات</p> | 8-4 |

| | | |
|----|---|------|
| | المجموعة الثانية (السهم الاصفر): بين عدم وجود التصاقات مع التحام جيد بين الرقعة ونسيج المثانة | |
| 52 | يبين المظاهر العياني المرضي لرقة التامور المغروسة في نسيج المثانة بعد 45 يوماً من عملية الترقيع في حيوانات المجموعة الاولى (السهم الاصفر): يشير الى وجود احتقان بسيط برقعة التامور البكري الالاخولي في منطقة اتصالها مع نسيج المثانة مع وجود تميز واضح بين الرقعة ونسيج المثانة (ب): المجموعة الثانية يبين وجود تجانس نسيجي بين الرقعة ونسيج المثانة وعدم وضوح خط الالقاء بين الرقعة ونسيج المثانة حيث لوحظ صعوبة تمييز الرقعة عن النسيج للمثانة اضافة الى عدم وجود اي احتقان في مكان الترقيع | 9-4 |
| 52 | يبين المظاهر العياني المرضي لرقة التامور المغروسة في نسيج المثانة بعد 45 يوماً من عملية الترقيع في حيوانات المجموعة الثانية (السهم الاصفر) يبين وجود تجانس نسيجي بين الرقعة ونسيج المثانة وعدم وضوح خط الالقاء بين الرقعة ونسيج المثانة حيث لوحظ صعوبة تمييز الرقعة عن النسيج للمثانة اضافة الى عدم وجود اي احتقان في مكان الترقيع | 10-4 |
| 54 | قطع نسجي لحيوانات المجموعة الاولى في اليوم 15 بعد ترقيع المثانة البولية في الكلاب يبين ارتشاح الخلايا وحيدة النواة حول وداخل الرقعة (الاسهم الحمراء) ووجود نسيج ليفي بين المثانة البولية ورقعة التامور (الاسهم السوداء)، وكذلك تكوين الشعيرات الدموية غير الناضجة (الاسهم الزرقاء)، الصبغة هيماتوكسلين ايروسين. قوة التكبير 50 ميكرومتر | 11-4 |
| 54 | قطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الثانية في اليوم 15 بعد ترقيع المثانة البولية في الكلاب يبين وجود نسيج ضام ليفي كثيف يتكون بشكل رئيسي من ألياف الكولاجين (الاسهم السوداء) وتحيط به الخلايا الليفية المتعددة ذات الشكل المغزلي مع الخلايا الالتهابية (الاسهم الزرقاء)، الصبغة هيماتوكسلين ايروسين. قوة التكبير 20 ميكرومتر | 12-4 |
| 55 | قطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الاولى في اليوم 30 بعد الترقيع يظهر الاتصال بين الطبقة العضلية للمثانة البولية (الاسهم الزرقاء) مع التامور البكري الالاخولي (الاسهم السوداء) وبؤر الخلايا الالتهابية (الخلايا البلعمية والخلايا العملاقة) بين نسيجي التلامس وحول الخيط الجراحي (الاسهم الحمراء) مع وجود أنسجة ليفية وعدد من الخلايا الليفية (الاسهم الصفراء)، الصبغة هيماتوكسلين ايروسين. قوة التكبير 200 ميكرومتر | 13-4 |
| 55 | قطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الثانية في اليوم 30 بعد عملية الترقيع يظهر الاتصال بين نسيج المثانة (الاسهم السوداء) والتامور البكري الالاخولي (الاسهم الزرقاء) مع تسلل الخلايا الالتهابية في الأنسجة وحول الخيط الجراحي (الاسهم الصفراء) فضلاً عن ترسب شبكة الليفين (الاسهم | 14-4 |

| | | |
|----|--|------|
| | الحراء) وتشكيل جسور الأنسجة الليفية بين الرقعة ونسيج المثانة (الاسهم الخضراء). الصبغة هيماتوكسلين ايوسين. قوة التكبير 50 ميكرومتر. | |
| 56 | مقطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الاولى في اليوم 45 بعد عملية الترقيع للمثانة البولية يوضح الاتصال بين الطبقة العضلية للمثانة (الاسهم الزرقاء) مع رقعة التامور البكري الالخلوي (الاسهم السوداء) ووجود الخلايا الالتهابية (الاسهم الحمراء) والاواعية الدموية الصغيرة (الاسهم الصفراء) مع ملاحظة النسيج الضام غير الناضج بين النسيجين (الاسهم الخضراء). الصبغة هيماتوكسلين ايوسين. قوة التكبير 200 ميكرومتر | 15-4 |
| 56 | مقطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الثانية في اليوم 45 بعد عملية الترقيع يظهر النسيج الضام الليفي وحزم الكولاجين (الاسهم الصفراء) بين نسيج المثانة (الاسهم السوداء)، ورقعة التامور الالخلوي (الاسهم الزرقاء) مع اواعية دموية جديدة (الاسهم الحمراء) والخلايا الليفية المغزلية الشكل والخلايا الالتهابية (الاسهم الخضراء)، الصبغة هيماتوكسلين ايوسين. قوة التكبير 50 ميكرومتر | 16-4 |
| 58 | يوضح نتيجة الفحص عن القيمتين في مكان ترقيع المثانة حيث (أ) و(ب): تبين تعبير موجب من الدرجة الثالثة (++) في مدة الـ 15 يوم بعد العملية في المجموعة الاولى والثانية على التوالي. (ج): تبين تعبير موجب من الدرجة الرابعة (+++) في المجموعة الاولى و(د): تعبير موجب من الدرجة الثالثة (++) في المجموعة الثانية للمدة الـ 30 يوم بعد عملية ترقيع المثانة. اما (ه) و(و): تبين تعبير موجب من الدرجة الرابعة (++++) في مدة الـ 45 يوم بعد العملية في المجموعة الاولى والثانية على التوالي. الصبغة هيماتوكسلين. قوة التكبير 20 ميكرومتر | 17-4 |
| 59 | يوضح نتيجة الفحص النسجي المناعي الكيميائي لعامل نمو بطانة اواعية دموية في مكان ترقيع المثانة حيث (أ) و(ج) و(ه): تبين تعبير موجب من الدرجة الثالثة (++) والدرجة الثانية (+) والدرجة الرابعة (+++) في مدة الـ 15 و30 و45 يوم بعد العملية على التوالي في المجموعة الاولى. بينما (ب) و(د) و(و): تبين تعبير موجب من الدرجة الرابعة (++++) في حيوانات المجموعة الثانية للمدد 15 و30 و45 يوم بعد العملية. الصبغة هيماتوكسلين. قوة التكبير 20 ميكرومتر. | 18-4 |

ثُبَّتِ الجَدَوْلُ

| رقم الصفحة | اسم الجدول | رقم الجدول |
|------------|---|------------|
| 26 | يوضح الأدوية والمواد الكيميائية المستعملة في التجربة | 1-3 |
| 27 | الأجهزة والأدوات المستخدمة في التجربة | 2-3 |
| 39 | يبين النظام المعتمد لتحديد درجة عامل نمو بطانة الاوعية الدموية والفيتينتين | 3-3 |
| 42 | معدل قيمة تركيز اليوريا في المصل (مليغرام اديسيلتر) خلال فترات الدراسة في كلتا المجموعتين | 1-4 |
| 43 | معدل قيمة تركيز الكرياتينين (مليغرام اديسيلتر) في المصل خلال فترات الدراسة في كلتا المجموعتين | 2-4 |
| 44 | معدل قيمة تركيز بروتين منقاعل- سي (ملغم اليلتر) في المصل خلال فترات الدراسة في كلتا المجموعتين | 3-4 |
| 78 | يوضح التسجيل المناعي الكيميائي لتعبير الفايمينتين خلال فترة الدراسة في كلا المجموعتين | 4-4 |

ثبات المختصرات

| الاسم الكامل باللغة العربية | الاسم الكامل باللغة الإنجليزية | الاختصار |
|---------------------------------------|------------------------------------|----------|
| غلاف التامور البقري الالخلوي | A cellular bovine pericardium | ABP |
| مصفوفة المثانة الالخلوية | Bladder a cellular matrix | BAM |
| عامل نمو الخلايا الليفية الأساسي | Essential fibroblast growth factor | bFGF |
| عامل النمو المركز | Concentration growth factor | CGF |
| بروتين سي التفاعلي | C-reactive protein | CRP |
| المصفوفة خارج الخلية | Extracellular matrix | ECM |
| عوامل النمو | Growth factors | GFs |
| عامل النمو المشابه للأنسولين 1 | Insulin-like growth factor-1 | IGF-1 |
| محلول الفوسفور الداري | Phosphor buffer saline | PBS |
| عامل النمو المشتق من الصفيحات الدموية | Platelets derived growth factor-BB | PDGF-BB |
| الليفين الغني بالصفائح الدموية | Platelets rich fibrin | PRF |
| عامل النمو التحويلي-1 | Transforming growth factor-1 | TGF-1 |
| الغلاة المهبلية | Tunica vaginalis | TV |
| المثانة البوالية | Urinary bladder | UB |
| عوامل نمو بطانة الأوعية الدموية | Vascular endothelial growth factor | VEGF |
| عامل نفاذية الأوعية الدموية | Vascular permeability factor | VPE |



الفصل الأول

المُقْدِمة

Introduction

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المثانة البولية هي عضو عضلي متخصص، وظيفتها الأساسية خزن البول تحت ضغط ثابت ومنخفض اضافةً إلى التبول. يمكن أن تسبب العديد من الحالات السريرية إلى ضعف املاء المثانة، وتتنبّي سعة احتواها للبول اضافةً إلى سلس البول مما يتطلب تكبيرها باستعمال السقالات (Ajalloueian *et al.*, 2018; Scaffolds). إنَّ الأمراض الالتهابية مثل متلازمة المثانة *Bladder pain syndrome* والتهاب المثانة الخلالي الدائم *Persistent interstitial cystitis*، وأذى الأعصاب والأمراض الخلقية تعد من الاصابات الأخرى التي تسبب تلف المثانة والتي تتطلب تكبير المثانة او استئصالها *Cystectomy* والعمل على سرعة أعاده بناءها وارجاعها إلى وظيفتها الأساسية (Westney, 2010; Andersen *et al.*, 2012). أشار (Granger *et al.*, 2020) إلى أن استئصال المثانة يتم اجراؤه في بعض أمراض المثانة مثل استئصال المريطاء السالكة *Patent urachus* والسرطان والتلف العرضي وتمزق المثانة والتهاب المثانة الخلالي الدائم وفي حالة نفك وتحلل انسجة المثانة *Bladder disintegrate* واضطرابات المثانة العصبية.

أصبحت عملية زيادة حجم وسعة المثانة *Bladder augmentation* من خلال تكبيرها خياراً جراحياً لعلاج المثانة ذات الضغط العالي، والسعنة الصغيرة وغير المتنوقة (Salehipour *et al.*, 2016) وقد استعملت تقنيات متعددة لهذا الغرض ومنها استعمال أجزاء من الجهاز الهضمي مثل المعدة والأمعاء، وقد ارتبطت هذه التقنية بالعديد من الآثار الجانبية بما في ذلك الاضطرابات الأيضية والعصبية وتأكل العظام *Bone demineralization* والانتقال الخبيث المحتمل (Pokrywczynska *et al.*, 2022) *Potential malignant transformation*. وقد استعملت ايضاً العديد من المواد الحيوية لزيادة سعة وحجم المثانة في الإنسان والحيوان بما في ذلك البلاستيك المصبوب *Molded plastics* والإسفنج الجيلاتيني *Gelatin sponge* والورق الياباني *Japanese paper* ومثانة الكلب المحفوظة *Preserved dog bladder* والأم *lyophilized human dura matter* وغشاء التامور البقري *الجافية البشرية المجففة بالتجفيف*.

والغشاء تحت المخاطي للأمعاء الدقيقة والمصفوفة الالخلوية المثانية (BAM) ومركبات الكولاجين وحمض البولي كليوكوليك (Pokrywczynska *et al.*, 2014).

أن التامور البقري هو نسيج بيولوجي غني بالياف الكولاجين ويعد من أحد المواد المثالية المستخدمة لعلاج اصابات القلب، يمتاز بالمرونة الكبيرة التي تجعله بدلاً مثالياً في علاج العديد من الحالات الجراحية منها بناء العديد من مواد الأطراف الصناعية وفي ترقيع الأوعية الدموية وصممات القلب (Goissis *et al.*, 2011; Zouhair *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2020; Mendoza-Novelo *et al.*, 2022).

وقد أشار (Zhou *et al.*, 2010) إلى إنّ غشاء التامور البقري الخلوي يمتاز بخصائص متعددة عند استعماله ومنها معدل الإصابة بالخمج واحداثه لتفاعل المناعي والسمية الخلوية، وهذه تعد بمثابة القيود والسلبيات الهامة الرئيسية التي ادت إلى عدم استعماله لفترة طويلة، لهذا تم التوجه إلى الإزالة الخلوية Decellularization لغشاء التامور للتغلب على كل هذه السلبيات والتي من خلالها يتم إنتاج سقالات بيولوجية ذات مناعة أقل وخصائص ميكانيكية حيوية جيدة دون احداث تغيير بالبنية الاساسية في النسيج الاصلي. إنّ الإزالة الخلوية هي تقنية تهدف إزالة جميع المكونات الخلوية من الانسجة الحيوية والتي لها دور اساسي في تحفيز الاستجابة المناعية للموقع المستقبل الذي يعامل بهذه الانسجة (Nguyen and Tran, 2019). وقد استعملت سقالات غشاء التامور البقري الالخلوي Acellular bovine pericardium في الهندسة الحيوية للأنسجة لعلاج العديد من الاصابات مثل اصابات القلب وإصلاح الأوعية الدموية وإعادة بناء الثدي breast reconstruction وفي جراحة إعادة بناء الحوض pelvic reconstructive surgery وفي الأونة الأخيرة تم استعماله لترقيع الأم الجافية في جراحة الدماغ (Alizadeh *et al.*, 2019; Al-Saiegh *et al.*, 2024).

الليفين الغني بالصفائح الدموية مشتق دموي يمثل الجيل الثاني من مركبات الصفائح الدموية ينكون من مصفوفة الليفين الذاتية والتي هي عبارة عن شبكة مكونة من بنية رباعية الجزيئات التي تحتوي على كميات كبيرة من الصفائح الدموية الذاتية اكثراً من المستوى الطبيعي الموجود في الدم ، اضافة الى احتوائها على خلايا الدم البيضاء والحركيات الكيميائية Chemokines والحركيات الخلوية Cytokines ومواد بروتينية اخرى مثل الجليكوزامينوجليكان Glycosaminoglycans والبروتينوجليكان Dohan Proteoglycans (Choukroun *et al.*, 2006; Gupta *et al.*, 2011; Pavlovic *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2013) وتعمل مصفوفة الليفين كسقالة قابلة للتحليل الحيوي (2021) وعند تحللها تعمل على افراز العديد من عوامل النمو ومادة باليولوجية مهمة في عملية الانقسام، اذ تعمل على

سرعة تكوين الاوعية الدموية ونضجها وتحفيز وزيادة هجرة الخلايا المهمة في عملية الالثمام الى موقع الاذى للمشاركة في عملية الالثمام وتجدد الانسجة (Choukroun *et al.*, 2006; Dohan *et al.*, 2006; Chang and Zhao 2011; Wu *et al.*, 2012) وأنبنت معظم الدراسات (Saluja *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2014) إنَّ الليفين الغني بالصفائح الدموية يلعب دوراً مهماً في تحسين شفاء معظم أنسجة الجسم منها العظام والأنسجة الرخوة من دون حدوث استجابة مناعية او حدوث تفاعل التهابي. وقد تم استعماله بمفرده أو مع الرقع المتعددة المصادر كالرقع البايولوجية او الصناعية حيث يعمل على زيادة ارتباط هذه الرقع بالنسج الاصلي وسرعة استبدالها الى نسيج مشابه للنسج الاصلي (Ehrenfest *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2009; 2012).

ونظراً لعدم وجود مصادر تشير الى استعمال غشاء التامور البكري اللاخليوي سواء لوحده او مع الليفين الغني بالصفائح الدموية في اصلاح اذى جدار المثانة البولية في الكلاب فقد صممنا هذه الدراسة للأهداف التالية:

1. دراسة كفاءة استعمال غشاء التامور البكري اللاخليوي في اصلاح اذى جدار المثانة البولية في الكلاب.
2. دراسة كفاءة استعمال غشاء التامور البكري اللاخليوي والليفين الغني بالصفائح الدموية في اصلاح اذى جدار المثانة البولية في الكلاب.
3. المقارنة بين كفاءة استعمال غشاء التامور البكري اللاخليوي لوحده او مع الليفين الغني بالصفائح الدموية في اصلاح اذى جدار المثانة البولية في الكلاب بالاعتماد على المعايير التالي:

 1. الفحص السريري
 2. الفحص الكيموحيوي Biochemicals
 3. الفحص الشعاعي Radiological examination
 4. الفحص المرضي العياني Macropathological examination
 5. الفحص النسجي المرضي pathological examination
 6. الفحص النسجي المناعي الكيميائي Immunohistochemistry



الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literatures Review

الفصل الثاني

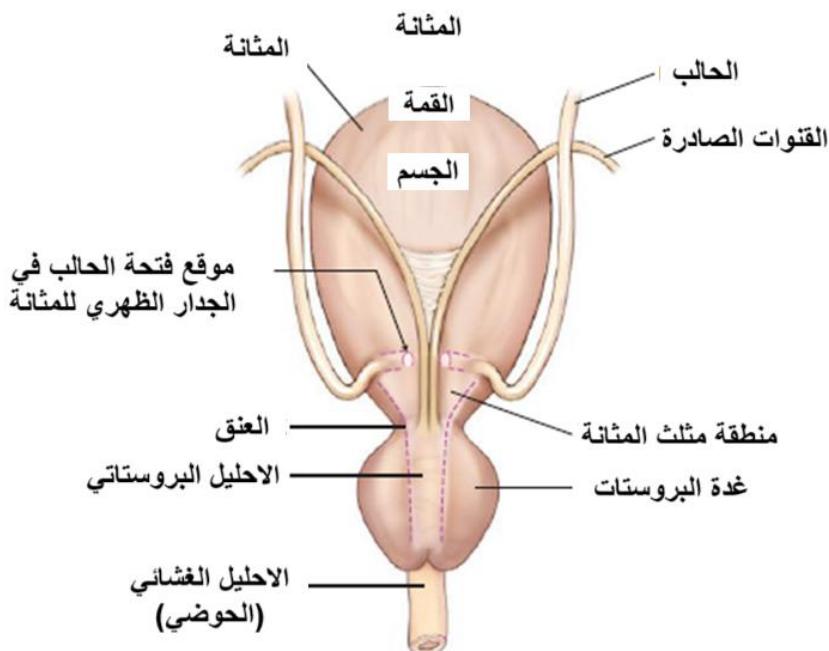
استعراض المراجع

Literatures Review

1-2: التركيب التشريحي للمثانة البولية **Anatomical structure of the urinary bladder**

المثانة البولية عضو عضلي غشائي مطاطي مجوف مغطى بالغشاء البريتوني مسؤولة عن خزن البول بضغط واطي، وهناك اختلاف بشكل والحجم والموقع اعتماداً على كمية احتواها من البول فان شكلها قد يكون كروي Spheroid، بيضاوي Elliptic، أو كمثري Pear shaped، وفي الكلاب عندما تمدد المثانة البولية تقدر القابلية الاستيعابية لها حوالي 100-120 مل وعند ارتخائها يكون قطرها حوالي 17.5 سم وطولها 18 سم وعند تقلصها يكون قطرها حوالي 2 سم وطولها 3.2 سم (Evans and de Lahunta, 2013).

اشار (Dyce, 2010) بأن المثانة البولية تتكون من ثلاثة أقسام هي العنق Neck وهو الجزء السفلي الذي يرتبط بالإحليل من الأسفل وجزء وسطي هو الجسم Body وجزء أمامي أعمى يدعى القمة apex (الشكل 1-2). كما أشار (Evans and de Lahunta, 2013) بأن البريتون الحشوي Visceral peritoneum للسطح البطني للمثانة ينفصل عن الجزء الجداري للبريتون المبطن لجدار البطن Parietal peritoneum abdominal wall أمامياً بعظام العانة Pubic وإن الثرب الكبير Greater omentum يحتل الفراغ بين طبقات البريتون، كذلك فإن الرابط الانسي للمثانة Median ligament الذي يكون بمثابة طية من البريتون Peritoneal fold يربط السطح البطني للمثانة مع الخط الأبيض Linea alba وارتفاق عظم العانة Symphysis pubis. إن الجزء الظاهري من المثانة له علاقة مع جزء من الأمعاء الدقيقة والقولون النازل Descending colon. في الذكور فإن القنوات الصادرة Ductus deferens والطيات التناسلية تقع ظهرياً لعنق المثانة اما في الإناث فان عنق الرحم Cervix وجسم الرحم Pelvic Body of uterus، وأن الفراغ الموجود على كل جانب من المثانة يكون مشغول بواسطة الأمعاء الدقيقة cavity، وعند امتلاءها تتمدد أمامياً إلى الجزء البطني من البطن.



الشكل (1-2): يوضح منظر ظاهري للمثانة البولية في الكلب (Tobias and Johnston, 2013).

2-2: التركيب النسيجي للمثانة البولية Histological structure of the urinary bladder

يتكون جدار المثانة البولية في الكلب من طبقة المخاطية Mucosa وطبقة تحت المخاطية Submucosa والطبقة العضلية Muscularis والطبقة المصلية Serosa. تتكون الطبقة المخاطية من الظهارة الانتقالية Transitional epithelium والتي تكون طياتها غير منتظمة عندما تكون المثانة فارغة ولكن هذه الطيات تختفي خلال التمدد ، بينما تتكون طبقة تحت المخاطية بشكل رئيسي من النسيج الضام Connective tissue اما الطبقة العضلية فهي عبارة عن طبقة عضلية ملساء تدعى بالعضلة النافضة Detrusor muscle وتن تكون العضلة النافضة من ألياف عضلية مائلة ومتداخلة متصلة مع العضلة الملساء للإحليل Urethra، لذلك لا توجد مصراة داخلية متميزة تشير إليها عند اتصال المثانة بالإحليل. اما الطبقة الخارجية Evans and de Lahunta, (2013) ، وقد ذكر (Dyce *et al.*, 2010) بأن الطبقة العضلية للمثانة البولية تعمل على عصر وتفریغ المثانة وإن هذه الألياف العضلية عندما تقلص سوف تكون سلسلة من الأروقة او الأقواس Arcades المتموجة والمتوجهة نحو قمة المثانة، وبذلك فإنها سوف توسيع المجرى الخارجي للمثانة البولية بدلاً من انسداده.

كما ذكر (Nickel and Venker van Haagen, 1999) بأن الطبقة المخاطية للمثانة البولية تتكون من 3-5 طبقات الخلايا الثخينة |، وأن هذه الطبقات تكون على شكل طيات غير منتظمة عندما تكون المثانة البولية فارغة ولكنها تختفي عند امتلاء المثانة وتتمددها، كما أشار الى أن الطبقة تحت المخاطية تتكون من ألياف كولاجينية Collagenous fibers غير منتظمة وألياف المرئين Elastic fibers المرتبة بشكل دائري.

2-3: اربطة المثانة البولية *Ligaments of Urinary Bladder*

تثبت المثانة البولية بثلاث اربطة والتي هي عبارة عن طيات من الغشاء البريتوني وهذه الاربطة هي رباطين يقعان على جانبي المثانة ويطلق عليهما تسمية الطيات او الاربطة الحويصلية الجانبية lateral vesical folds وتحتوي على نسيج دهني والرباط الثالث هو الرباط الأوسط Middle bladder ligament ويسمى ايضا بالرباط المستدير للمثانة البولية Round ligament، وهو عبارة عن بقايا تركيب يدعى بالمريطاء urachus والتي هي عبارة عن قناة جينية تتكون من الشرايين السرية Umbilical arteries الموجودة في المرحلة الجنينية والتي من خلالها يتخلص الجنين من الفضلات وطرحها الى كيس السقاء sac Allantoic من خلال فتحة تدعى بالسرة Umbilicus. حيث يحدث تمزق الشرايين السرية عند الولادة ويبقى المريطاء على شكل ندبة Scar على قمة رأس المثانة البولية، بينما تحول الشرايين السرية الى الاربطة المستديرة (Dyes *et al.*, 2010).

2-4: التجهيز الدموي واللمفاوي للمثانة البولية *The vascular and lymphatic supply of urinary bladder*

يتمثل التجهيز الدموي للمثانة البولية ب الشريان الحويصلي الخلفي Caudal vesical arteries والذي يدخل المثانة من الجزء الظاهري يتفرع هذا الشريان من الشريان المهبلي في الاناث Vagina artery والشريان البروستاتي في الذكور 1 or Prostatic artery وهذه الشرايين تتفرع بدورها من الشريان الفرجي الداخلي Internal pudendal artery والذي بدوره يتفرع من الشريان الحرقفية الداخلية Internal iliac artery ويعود هذا الشريان المجهز الاكبر للمثانة بالدم ما الشريان الحويصلي الامامي الصغير Small cranial vesical artery وهو الفرع النهائي للشريان السري umbilical artery ويزود قمة المثانة البولية بالدم . ان التصريف الدموي للمثانة يكون بشكل رئيسي من خلال الوريد الفرجي الداخلي Internal pudendal vein اما التصريف اللمفي للمثانة البولية من خلال العقد اللمفاوية تحت المعدية والقطنية lumber

كما أشار (Evans and de Lahunta, 2013) and hypogastric lymph nodes. إن التجهيز الشرياني الرئيسي للعضلة النافضة يكون من خلال الشريان (Brading, 1999) الحرقفي الداخلي.

2-5: التجهيز العصبي للمثانة البولية *Nervous supply of urinary bladder*

ذكر (Tobias and Johnston, 2013; Evans and de Lahunta, 2013) إن التجهيز العصبي للمثانة البولية معقد تشريجياً وفسلجياً إذ تتغذى المثانة البولية من الأعصاب الصادرة الحشوية العامة General visceral efferent neurons الودية Sympathetic واللاؤدية Parasympathetic وأن الوظيفة الأولية للعصب الودي هو خزن البول أما التجهيز العصبي اللاؤدي يكون مسؤولاً بشكل رئيسي عن تفريغ البول، وأن المحور العصبي قبل العقدي يدخل إلى التجويف البطني من خلال الجزء الودي القطني lumber Preganglionic axons لتتشابك synapse والأعصاب الحشوية Splanchnic nerves sympathetic trunk في أجسام الخلايا للمحور العصبي قبل العقدي في العقدة المساريقية الذيلية Caudal mesenteric ganglion أو في جدار المثانة البولية وبعدها تنتهي في الأعصاب تحت المعدية Hypogastric nerves لكي تتواءل مع الضفيرة الحوضية Pelvic plexus والذي يرتبط مع الشريان البروستاتي والمهبلاني vaginal and prostatic artery وإن هذه المحاور العصبية تسير axons مع فروع الشريانين المغذيتين للمثانة البولية لكي تغذي العضلة النافضة مع التشابك العصبي المثبت Inhibitory synapses وعضلة مصمة عنق المثانة البولية مع التشابك العصبي المهييج Excitatory synapses وإن المحور العصبي قبل العقدي الودي sympathetic وقبل العقدية preganglionic axons لا يعمل تشابك عصبي في العقدة المساريقية الذيلية على مسار جدار المثانة البولية من خلال الأعصاب تحت المعدية وإن التشابك العصبي يحصل في أجسام الخلايا للمحاور العصبية بعد العقدية القصيرة Short postganglionic axon وخلال جدار المثانة كذلك فإن أجسام الخلايا اللاؤدية Parasympathetic cell bodies للمحاور العصبية قبل العقدية تقع في القرن الوحشي لقطعة الشوكية الظهرية Sacral spinal cord segment وإن المحاور العصبية قبل العقدية تتكون في العصب الحوضي pelvic nerve من خلال الفروع البطنية للأعصاب الشوكية العجزية Sacral spinal nerves وإن العصب الحوضي يتبع مسار Postganglionic cell الضفيرة الحوضية ويعمل تشابك عصبي مع أجسام الخلايا بعد العقدية Postganglionic cell

bodies وإن محاور أجسام الخلايا بعد العقدية تهيج العضلة النافضة Excitatory مسبباً تقلص وتفريغ المثانة البولية.

2-6: تشوّهات المثانة البولية **Anomalies of urinary bladder**

إن التشوّهات الخلقية في المثانة البولية تشمل التضيق الرتجي لعنق المثانة Diverticula's stricture of the neck of the urinary bladder و هذه قد تكون سبباً غير مباشر في توسيع المثانة الحميد Benign prostatic hypertrophy وكذلك العديد من حالات التشوّهات المسجلة في القطط والكلاب ومنها الرتج الحويصلي Bladder hypoplasia وقلة تنسج المثانة البولية esicourachal divertculaeDuplication of urinary Bladder agenesis إضافة إلى المثانة البولية المزدوجة (Tobias and Johnston, 2013) bladder

2-7: اصابات المثانة البولية **Affection of the urinary bladder**

ذكر (Singh *et al.*, 2021) بأن التغيرات المرضية للمثانة البولية يمكن تقسيمها إلى تغيرات مرضية خارج الجدارية Extramural وجدارية Mural وداخل الجدارية Intramural وإنّ الاصابات خارج الجدار غالباً ما يتم اكتشافها من خلال تأثيرها الثانوي على المثانة مثل الضغط بواسطة تضخم البروستات أو الكيس حول البروستات Periprostate sac، بينما تشمل التغيرات المرضية الجدارية للمثانة الأورام الدموية Mural hematoma والفتق Herniation والتهاب المثانة Cystitis والخراجات الجدارية Mural abscesses والتهاب المثانة الانتفاخي Ectopic cystitis والأورام السرطانية Neoplasia والحالب المهاجر Ectopic ureter وهو من أكثر الاصابات شيوعاً في تشوّهات الحالب. وأشار الباحث بأن الورم الدموي الجداري مع الفتق يحدث بسبب الكلم Trauma التي يتعرض لها الحوض أو الانتفاخ الزائد وان استعمال الموجات فوق الصوتية Ultrasonography يساعد في تشخيص الأورام الدموية في جدار المثانة البولية وكذلك تشخيص الفتق حيث نلاحظ غياب المثانة البولية عن موقعها الطبيعي مع وجود تراكيب كجدران ناعمة عديمة الصدى Anechoic smooth walled structure داخل كيس الفتق مما يؤكد حدوث الفتق. وأيضاً اشار بأن التهاب المثانة البولية يتميز بتشخن غير منتظم أو بوري في جدار المثانة البولية وان سرطان المثانة وخاصة سرطان الخلايا الانتفاخية يعد من الأورام الأكثر شيوعاً في المثانة البولية. اما امراض

المثانة داخل الجدارية فتشمل بلورات الرمل Crystalline sand والحسوات Calculi والغازات Gases والجلطات الدموية Blood clots والأجسام الغريبة Foreign bodies. لقد اشار (Martinez *et al.*, 2003; Westropp *et al.*, 2019) ان تلف المثانة البولية يودي الى حدوث العديد من الاضطرابات الإضافية داخل الجهاز البولي والتناسلي Urogenital disorder وان هنالك حالات عديدة منها التهاب المثانة وخاصية الالتهاب الشديد Sever cystitis وخمج المثانة البولية Urinary bladder infection وتلف الأعصاب Nerve damage والاعتلال العصبي للمثانة Neuropathic bladder وتمزق المثانة البولية Rupture of urinary bladder يمكن ان تحدث بعد تعرض المثانة للصدمة او نتيجة لالتهاب المثانة الشديد او نتيجة لحدوث الأورام السرطانية او بزل المثانة Cystocentesis وفي حالات قسطرة المثانة urinary وفى بعض حالات حصى المثانة البولية وحصى الحالب Urolithiasis وفي حالات التهاب المثانة السليلي polyopoidcystitis وهو مرض التهابي غير ورمي يؤثر على البطانة المخاطية للمثانة البولية في الكلاب وهو عبارة عن كتل متعددة الأطوار التي قد تتشبه سرطان الخلايا الخلاي. وقد اشار (Benigni *et al.*, 2006; Andersen *et al.*, 2012) بان العديد من هذه الاصابات التي قد تتطلب استئصال المثانة البولية cystectomy وأعاده تشكيلها واعادة وظيفتها الاساسية.

2-8: رأب المثانة Cystoplasty

ذكر (Jednak, 2014) بأن عملية رأب مثانة وتسمى ايضاً بتكبير المثانة البولية Urinary bladder augmentation قد تمت لأول مرة عام 1899، هي عملية جراحية الهدف منها تكبير حجم المثانة ذات السعة المنخفضة والضغط العالي وتحويله الى خزان لتخزين البول منخفض الضغط بسعة كافية للحفاظ على وظيفة المساك البولية العلوية والحفاظ على استمرارية طرح البول الى خارج الجسم نتيجة لعدم كفاءة ونجاح العلاج الطبي الغير جراحي، إذ تم إنشاء خزان بسيط وواسع لتخزين البول بشكل أمن وأصبحت هذه التقنية واحدة من أكثر العمليات المستعملة في طب المساك البولية لدى، وقد تم وصفها لأول مرة كنموذج في الكلاب وفي وقت لاحق في الإنسان، وقد استعملت العديد من التراكيب النسجية الحيوية لهذا الغرض، اذ استعمل جزء من الأمعاء الدقيقة والقولون Enterocystoplasty وقد وجد انه على الرغم من نجاح العملية في زيادة حجم المثانة ولكن نتيجة لاختلاف في خصائص الامتصاص والافراز بين هذه الانسجة ونسيج المثانة ادت الى حدوث مضاعفات طويلة الامد ومنها الافراز المخاطي مع البول والخمج البكتيري واحتلالات الكهارل Electrolyte imbalances الحماض الأيضي

وتأخر النمو الجسدي ونقص فيتامين ب 12 وتكوين حصى المثانة Metabolic acidosis اضافة الى إمكانية الإصابة بالأورام الخبيثة (Greenwell *et al.*, 2001; Malignancy Higuchi *et al.*, 2010). تم بعدها استعمال جزء من المعدة لتكبير المثانة Gastrocystoplasty وهذه التقنية امتازت عن تقنية استعمال الأمعاء بعدم احداثها للحماض الأيضي وهي ذات فائدة أيضا عندما تكون عملية استئصال الأمعاء غير مناسبة نتيجة لحالات مرضية منها متلازمة الأمعاء القصيرة. اضافة لذلك ان إنتاج المخاط وحدوث الخمج البكتيري والتهابات المسالك البولية كان اقل، في حين ان المضاعفات البارزة لهذه التقنية تتمثل بالبلية الدموية المقطعة Intermittent hematuria والقلاء الأيضي Metabolic alkalosis، وعسر البول. تم ايضاً استعمال نسيج الحالب Ureterocystoplasty لتكبير المثانة اذ امتاز هذا النسيج بمروره واحتواء جداره على العضلات الملساء اضافة الى احتوائه على بطانة ظهارية مشابهة لبطانة المثانة مما جعله من المواد المفضلة لترقيع المثانة لكن من المحدّدات التي تواجه استعمال هذا النسيج هي صعوبة الحصول عليه وتوفّره مع احداث اذى كبير للمريض ان استئصال هذا النسيج لغرض استعماله لترقيع. أجريت بعد ذلك العديد من الأبحاث والدراسات المختلفة لدراسة كفاءة استعمال أنسجة مختلفة منها طبيعية Natural tissue وأخرى اصطناعية Synthetic material مختلفة والتي لم يكن معظمها واعداً (Elbahnasy *et al.*, 1998).

2-9: بضع المثانة Cystotomy

هي عملية اجراء شق جراحي في المثانة، ويتم اجراء شق المثانة لعلاج العديد من الحالات المرضية بما في ذلك إزالة حصوات المثانة وأورام المثانة وخترات الدم داخل المثانة Blood clots اضافة الى إصلاح تمزق المثانة Urinary rupture وعلاج حالات الحالب المهاجر Ectopic ureter وكذلك علاج الحالات المرضية الخلقية Congenital، كما يمكن اجراء هذه العملية للحصول على خزعة Biopsy من نسيج المثانة لأغراض الفحوصات النسجية (Slatter, 2003) وأشار (Cornell, 2000) بان المثانة البولية قد تستعيد نشاطها الطبيعي بعد أشهر من استئصال جزء منها. إنّ مضاعفات عملية شق المثانة البولية يمكن ان تكون خطيرة وتدوي الى هلاك المصاب أو الحاجة الى اجراء جراحة إضافية ومن هذه المضاعفات الكبرى تجمع البول في البطن او ما تسمى بالبطن البولية Uroabdomen ومن علامات حدوث هذه الحالة الخمول والقيء Vomition مع حدوث علامات سريرية ثانوية ناتجة عن التغير الأيضي التدريجي الذي يؤدي الى الجفاف Dehydration والحماض الأيضي Metabolic acidosis، وكذلك نقص البوتاسيوم Hypokalemia إذ يؤدي الى توسيع العضلات الملساء وارتخائها. ان من اسباب تجمع

البول في البطن حدوث تسرب leakage للبول من خلال خط خياطة العملية او انفصال خط خياطة الجرح بالكامل Dehiscence. ان من المضاعفات الاخرى لعملية شق المثانة حدوث البيلة الدموية المستمرة Persistent hematuria والبول القوي المفرط excessive strong urine والانسداد Impaired urine output في مجرى البول وكذلك الضعف في إخراج البول (Fossum *et al.*, 2002; Slatter, 2003; Peacock, 1984) وان رفو المثانة البولية هو خياطة جرح المثانة سواء الجرح الذي يجرى من قبل الجراح لعلاج اصابات المثانة او الجروح الناتج اذى المثانة Urinary bladder injury يتم غلقه اما بصف واحد من الخياطة البسيطة المستمرة simple continuous suture او بصفين من الخياطة المستمرة.

10-2: عملية التئام الرقع مع نسيج المثانة البولية *Grafts healing with urinary bladder tissue*

بعد ترقيع المثانة بالرقع النسجية بفترة قصيرة يحدث انكماش للمثانة والرقع المغروسة فيها وتتحول الخلايا الظهارية لظهارة المثانة والخلايا النافضة Detrusor cells الى خلايا نشطة Anticancerous cells تغزو الرقع وتملاها وتعمل على اندماج الرقعة واستبدالها بنسيج مشابه لنسج المثانة، اذ تبدأ خلايا الارومات الليفية Fibroblast بالتكاثر وتكونin the tissue الأنسجة الندية الأولية Scar tissue في مكان اتصال الرقعة بنسيج المثانة الاصلي وتعمل الخلايا المولدة (السلفية) للخلايا العضلية المساء المتطلولة Elongated smooth muscle cells على تكوين حزم من الياف العضلات المساء التي تلعب دوراً غير معروف اثناء تجديد جدار المثانة، اذ انها قد تتنظم في استعادة تكوين الحيز العصبي Neuronal compartment لجدار المثانة البولية من خلال التفاعل مع الخلايا العصبية المتعددة من نسيج المثانة بفترات زمنية مختلفة. خلال المرحلة الاولى من غرس الرقعة تحدث الاستجابة الالتهابية الأولية الحادة Acute inflammatory response والتي قد تستمر من ساعات قليلة الى يوم كامل في بعض الأحيان، وتميز هذه الاستجابة بشكل رئيسي بارتشاح الخلايا الالتهابية العدلات Neutrophilic cell ويليها ارتشاح للخلايا الوحيدة Monocytes القريبة من الموقع وهي. أن المدة الزمنية المحددة لإصلاح المثانة البولية وإعادة بنائها تكون من 7-120 يوم حسب حالة (Amer *et al.*, 2017; Pokrywczynska *et al.*, 2019).

2-11: الليفين الغني بالصفائح الدموية **Platelet rich fibrin**

الليفين الغني بالصفائح الدموية مستخلص دموي يحتوي على الصفيحات الدموية والمواد المهمة للمناعة بكميات مرکزة أكثر من مستواها في الدم الطبيعي والتي تكون ضرورية لعمليات الشفاء Healing والمناعة Immunity وتقليل الالتهابات بعد العمليات الجراحية (Eryilamz et al., 2006). تلعب مصفوفة الليفين الغنية بالصفائح الدموية دوراً مباشراً في تكوين الأوعية الدموية Angiogenesis إذ تحتوي على 6 من العوامل الرئيسية التي لها دور في تكوين الأوعية الدموية الجديدة وفي نضجها مثل عامل نمو الخلايا الليفية (FGFB) وعامل النمو Platelet alpha granules وحبسيات ألفا والصفائح الدموية growth factor وعامل التحويلي Transforming growth factor وعامل نمو بطانة الأوعية الدموية Vascular Platelet وعامل نمو مشتق الصفائح الدموية – endothelial growth factor (VEGF) (Hafeez et al., 2005; Dohan et al., 2006) derived growth factor (PDGF) تلعب الصفيحات الدموية وكرات الدم البيض Leukocyte الموجودة في الليفين الغني بالصفائح الدموية أدواراً مهمة في عملية التئام وتجدد الأنسجة المختلفة ولكن مصفوفة الليفين الداعمة لهذه التراكيب هي الأكثر فائدة في تكوين العناصر المهمة في علاج وشفاء الأنسجة الرخوة والصلبة والتي تعمل كسفالة للربط بين جزئي النسيج المتضرر مما يسهل من اندماج الأنسجة وبالتالي سرعة التئامها وشفاؤها (Ehrenfest et al., 2009; Naik et al., 2013; Pavlovic et al., 2021).

وقد اشار (Mihaylova et al., 2017) الى ان الصفائح الدموية تمثل العنصر الاساسي في PRF، وهي الخلايا الرئيسة المسؤولة عن النشاط الحيوي لـ PRF، اذ ان لها دور مهم في تكوين خثرة الدم اضافة الى احتواء حبسياتها على جزيئات بروتينية لها دور ايجابي مهم في سرعة التئام الأنسجة. وقد اشار (Al-Hamed et al., 2019) الى ان الصفائح الدموية تحتوي على نوعين من الحبسيات وهي الحبسيات الكثيفة Dense granules وحبسيات ألفا، تحتوي الحبسيات الكثيفة على الهاستامين Histamine والسيروتونين Serotonin وبروتينات وعناصر معدنية اخرى مثل الكالسيوم والمغنيسيوم والبوتاسيوم، بينما تعمل حبسيات الفا على خزن عوامل النمو وبروتينات الالتصاق والتثبيط والبروتينات المحللة لليفين لحين إفرازها وذلك بعد تنشيط الصفيحات الدموية. ان التراكيب التي يتم انتاجها من قبل الصفيحات تميز بقابليتها على سرعة التئام وتجدد الأنسجة التالفة من خلال سرعة تنشيط وزيادة تكاثر الخلايا اشافة الى سرعة تكوين الأوعية الدموية الحديثة وسرعة نضوجها.

اشار (Pavlovic *et al.*, 2021) انه يوجد انواع متعددة من الـ PRF اعتماداً على طريقة التحضير والتي بدورها تعتمد على نوع جهاز الطرد المركزي المستعمل ومدة دوران انبوب الدم داخله، إضافة الى عدد الدورات المستعملة ونوع المواد المصنوعة منها الانابيب المستعملة ومن هذه الانواع الليفين الغني بالصفائح الدموية وكرات الدم البيض Leukocyte platelet rich fibrin والليفين الغني بالصفائح الدموية المتقدم (A-PRF) Advanced platelet rich fibrin والليفين الغني بالصفائح الدموية المتقدم + والليفين الغني بالصفائح الدموية المتقدم + السائل والليفين الغني بالصفائح الدموية الحقلي Injectable platelet rich fibrin والليفين الغني بالصفائح الدموية - تيتانيوم Titanium- platelet rich fibrin (T-PRF) فضلاً عن عوامل النمو المركزية Concentrated growth factors التي تعد احدث نوع من انواع PRF. ان انواع الليفين الغني بالصفائح الدموية تختلف في تركيبها وكذلك في تأثيرها البالغ على الانسجة وذلك بسبب الاختلاف في محتواها من المواد والعناصر البالغية المهمة في عملية التئام الانسجة وتجددها مثل الحركيات الخلوية والحركيات الكيميائية اضافة الى عوامل النمو.

واشار (Dohan *et al.*, 2006; Pavlovic *et al.*, 2021) ان عملية تحضير الليفين الغني بالصفائح الدموية من الدم بسيطة وفعالة وغير مكلفة ولا تحتاج الى إضافة مانع تخثر او أي مادة كيموحياتية أخرى على العكس من تحضير البلازما الغنية بالصفائح الدموية التي تحتاج الى اضافة مواد مانعة للتخثر الى عينة الدم فضلاً عن انها تحتاج الى وضع عينة الدم مرتين داخل جهاز الطرد المركزي.

12-2: المواد الحيوية المستعملة في تجديد المثانة البولية in urinary bladder regeneration

اشار (Chan and Leong, 2008) بأن السقالات scaffolds هي انسجة مصممة لعلاج وتجدد الانسجة التالفة، اذ تعمل على نمو الخلايا أثناء عملية الشفاء وان السقالات المستعملة لإصلاح المثانة وتجددتها يجب أن تمتاز بكونها توفر دعماً ميكانيكياً مؤقتاً وكافياً لتحمل القوى المسلطة من قبل التراكيب المجاورة مع الحفاظ على تماسك نسيج المثانة والعمل على تجده وشفاءه، وإن المواد الحيوية المستخدمة في تجديد المثانة البولية يجب أن تمتلك مرونة كافية وذلاك لسهولة تطابق شكلها مع شكل المثانة أثناء تعويض النسيج المفقود وعلاوةً على ذلك يجب أن تمتلك المواد الحيوية القدرة على التحلل الحيوي الكامل اثناء اندماجها بالنسيج وتحولها الى نسيج مشابه للنسيج الاصلي فضلاً عن عدم قدرتها على احداث تفاعلات مناعية شديدة. لقد استعملت

العديد من السقالات الحيوية لإصلاح المثانة ومنها الرقع الذاتية المصدر Autologous tissue مثل الثرب Omentum والتامور Pericardium والجلد Skin وبنجاحات محدودة وكذلك المواد المشتقة من انسجة طبيعية مثل سقالات الكولاجين Collagen والأنسجة الالكترونية مثل طبقة تحت المخاطية للمثانة البولية. إضافة إلى المواد الاصطناعية مثل سقالات حامض البوليالكتك - كوليوكوليک (Atala, 2011; Davis and Poly lactic-co-glycolic acid (PLAG) (Stewart, 2011 Sabeel and Al-Hyani, 2024). الالكترونية هي من المصنفوفات منزوعة الخلايا التي يتم انتاجها من مصادر نسجية متعددة منها الذاتية Autologous أو المتماثلة Allogenic أو الغريبة Xenogenic (Yoo *et al.*, 1998). ان العمليات الكيميائية أو الميكانيكية المستعملة لإزالة الخلايا من المصنفوفة تعمل على إزالة جميع المكونات الخلوية مع ترك المركبات البايولوجية الأخرى الغير خلوية لتكون قاعدة طبيعية أساسية في علاج الأنسجة التالفة وتتجدد (Langer and Sutherland *et al.*, 1996). وقد اشار (Vacanti, 1993) إلى منشأ المواد الحيوية الأكثر شيوعاً هو من انسجة المثانة البولية و الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة ، فيما أشار (Brehmer *et al.*, 2007) إلى السقالات بعد غرسها بالنسج سيتم تحللها واستبدالها بنسيج مشابه للنسج الأصلي للمضيف، اذ تعمل هذه السقالات على توفير الدعم الهيكلي الذي يساعد في بناء بنية النسيج الأصلي وتعد مصنفوفة المثانة البولية الالكترونية من أكثر السقالات استعمالاً في هندسة الأنسجة حيث لها القدرة على تحفيز الخلايا البولية والظهارة الداخلية، العصبية والعضلات الملساء.

اشار (Baker *et al.*, 2009; Matoka and Cheng, 2009 Chen *et al.*, 2010) إلى من المواد الصناعية الأكثر استعمالاً التي تستعمل كسقالات التجديد الأنسجة في الدراسات التجريبية والتجارب السريرية هي التيفلون Teflon والسيلكون Silicon والكولاجين collagen، وان هذه المواد تمتاز بعدم توافقها مع خلايا النسيج مما ادى إلى تصنيع البوليمرات الاصطناعية Synthetic polymers إذ تم تحسين خصائصها لتمتنك بنية مناسبة وخصائص بيولوجية يمكنها من تجدد الأنسجة المتضررة من خلال زيادة تكاثر الخلايا وتمايزها. ان من اهم الأنسجة الحيوية المستعملة لترقيع المثانة:

1- غشاء التامور Pericardium membrane

التامور هو كيس يتكون من النسيج الضام Connective tissue sac يحيط بالقلب يتكون من طبقتين: الطبقة العميقة Deep layer ملتصقة بالقلب وتدعى بالطبقة الحشوية Visceral والطبقة السطحية تدعى بالطبقة الجدارية Partial layer وتنفصل هاتين طبقتين تفصل بواسطة تجويف التامور (Francisco *et al.*, 2016).

يتكون التامور نسجياً من الظهارة الحرشفية البسيطة Simple squamous epithelium والنسيج الضام الغني بالكولاجين الذي يحتوي التامور على الكولاجين من نوع الاول Collagen type-1 ويكون منظم ومرتب على شكل حزم، وإن هذا التنظيم يجعل التامور يمتاز بخصائص ميكانيكية. ويحتوي نسيج التامور أيضاً على تراكيب نسجية حيوية أخرى مثل الكلايکوبروتين glycosaminoglycan (GAGs) وكلايکوزامينوكلايكان (Glycoprotein) بالإضافة إلى الخلايا التأسيسية constitutive cells (Sacks, 2003; Liao *et al.*, 2005).

ذكر (Liao *et al.*, 2005) أن التامور هو نسيج حيوي Biological tissue استخدم على نطاق واسع كمادة حيوية في هندسة الأنسجة بما في ذلك تكوين الأطراف الصناعية الحيوية وترقيع الأوعية Vascular graft وترقيع جدار البطن وجدار المهبل bio prostheses وفي علاج صمامات القلب Heart valves، وعلى الرغم من استعماله في مجالات واسعة إلا أنه قد وجدت بعض العيوب في هذه البدائل الحيوية bioprostheses حدوث التلف وتتكسر الأنسجة المرتبط بالتكلسات على الرغم من أن عملية إزالة الخلايا من التامور سواء المنشق من مصدر ذاتي Outologous pericardium أو من مصدر غريب Cellular antigens تتضمن إزالة الخلايا والمستضدات الخلوية Xenopericardium والكالسيوم مع الحفاظ على سلامة المصفوفة خارج الخلية (Crapo *et al.*, 2011).

2- الغلالة المهبلية *Tunica vaginalis*

هي جزء من البريتون الذي يحيط بالخصية Testicular peritoneum، وت تكون الغلالة المهبلية من الظهارة الحرشفية Mesothelium والنسيج الضام الغني بالكولاجين، وتستعمل رق عالقة المهبلية بسبب سهولة الحصول عليها وانخفاض تكلفة الحصول عليها إضافة إلى عدم الحاجة إلى الخبرة عند استعمالها من الجزء الواهب. تمتاز هذه الرفع النسجية بقلة احداثها لتفاعل الجسم الغريب Foreign body reaction وخمج الجروح Wound infection ويمكن استعمالها بدون أي معالجة أو استعمال مواد حافظة (Pratummintra *et al.*, 2013; Hua *et al.*, 2019). لقد أكدت العديد من البحوث العلمية أن رق الغلالة المهبلية لها القدرة على الاندماج مع نسيج الأعضاء البولية ومنها المثانة وتحول نسيجها بمرور الوقت إلى ظهارة بولية عند غرسها في المسالك البولية Urinary tract في الكلاب والارانب (Hua *et al.*, 2019).

3- اللفافة العريضة **Fascia lata**

ذكر (Rubel *et al.*, 2004; Buschmann and Burgisser, 2017) أن اللفافة العريضة هي اللفافة العميقه للفخذ Deep fascia of thigh التي تنشأ من العضلة الموترة للفافة العريضة Tensor fascia lata muscle وهي عبارة عن شبكة قوية ثلاثية الابعاد من النسيج الضام المكون من الالياف كولاجين مع كمية أقل من الالياف المرنة Elastic fibers التي تمنحها المرونة الكامنة اثناء التمدد لذلك تستخدم عادةً في اصلاح العديد من الانسجة التالفة. وقد اشار (Disa *et al.*, 1996; Pavletic, 2007; Maksymowicz, 2012; Yonez *et al.*, 2019) ان اللفافة العريضة لها تأثير مناعي والتهابي حيث لها القابلية على مقاومة التلوث البكتيري ولا تحدث تسمم وغير مكلفة وسهولة الحصول عليها. وقد ذكر (Ugurlu *et al.*, 2004) أن اللفافة العريضة استعملت في اصلاح العيوب الغشاء المخاطي في تجويف الفم في الكلاب وفي اصلاح عجان الكلاب Canine perineum والفتق الحجابي Diaphragmatic hernia، بينما اشار (Atalan *et al.*, 2005; Ayyildiz *et al.*, 2006) بأن اللفافة العريضة اعطت نتائج ايجابية وناجحة عند استعمالها لإعادة بناء ناسور مجرى البول Urethral fistula لدى الكلاب بالإضافة لذلك اشار (de Rezende Pinna *et al.*, 2011) بأن اللفافة العريضة تم استعمالها في علاج القصور المزماري في عضلة الصوت في الأرانب.

4- طبقة تحت مخاطية الأمعاء الدقيقة **Small intestinal submucosa layer**

ت تكون طبقة تحت المخاطية للأمعاء الدقيقة من النسيج الضام والأوعية الدموية والأوعية اللمفاوية والضفيرة العصبية تحت المخاطية submucosal plexus وقد تحتوي الطبقة تحت المخاطية على خلايا مهاجرة منتشرة Migratory cells تكون فيها الخلايا البدنية الخلايا السائدة وتحتوي الطبقة تحت مخاطية على الشبكات الوعائية الكثيفة التي تلعب دور مهم في توجيه الأوعية الدموية والتوزيع الدموي اللمفاوي في المنطقة (Kropp *et al.*, 1996). قد اشار (Zhao *et al.*, 2024) ان بسبب التطابق الحيوي لطبقة تحت مخاطية الأمعاء مع العديد من انسجة الجسم، وبسبب قلة احداثها للفيبرات المناعية وتركيبها الثلاثي الابعاد تم استعمالها في تجديد العديد من الانسجة التالفة، اذ تم استعمالها لترقيع المثانة في الخنازير، الجلد، العظام، صمامات القلب، الاوعية الدموية، الرحم والاحليل.

ذكر (Brehmer *et al.*, 2007) أن هنالك مواد مختلفة من السقالات والتي استعملت لإعادة تشكيل المثانة البولية وتتجدد بها ومنها المحفظة الكلوية (Salehipour Renal capsule) Equine Achilles *et al.*, 2016) والسقالات المصنوعة من كولاجين وتر العرقوب للخيول

ورقائق الكولاجين البقرى Bovine collagen foil وورقائق tendon collagen mixture Bovine collagen ويسفحة خليط الكولاجين البقرى Human fascia lata و والأدمة الالخلوية للكولاجين الخنزير Porcine collagen acellular mixture sponge و سقالة السليلوز Cellulose scaffold وحامض بولي جليكوليك subdermis فضلا عن مواد حيوية اخرى لها دور محفو ومسرع لنمو الخلايا الظهارية والجذعية.

13-2: طرائق إزالة الخلايا من الأنسجة **methods**

اشار (Schmidt and Baeir, 2000; Gilbert *et al.*, 2006; Crapo *et al.*, 2011) بان الازالة الخلوية من الانسجة قبلها عملية غرسها بالنسج المضييف (المعالج) الهدف منها هو تقليل الاستجابة المناعية والمحافظة على المصفوفة خارج خلوية المتكونة بشكل رئيسي من الكولاجين والعناصر الحيوية المهمة في عملية تجدد الانسجة التالفة وشفاؤها. ان الطرق المستعملة لإزالة الخلايا من الانسجة الحيوية تشمل عدة تقنيات ومنها الاتي:

1- الطرائق الفيزيائية Physical: اشار (Schenk and Quaranta, 2003; Duarte, 2019) بان الطرائق الفيزيائية لإزالة الخلايا تشمل:

أ- الحرارة Temperature: تعتمد هذه التقنية على التغيرات الحادة في درجات الحرارة مثل معالجة التجميد والذوبان تسبب في تحلل الخلايا بشكل فعال، اذ تعتمد هذه الطريقة على التجميد السريع للأنسجة ومن ثم ذوبانها بالكلم الحراري حيث يتسبب التجميد السريع في تكوين بلورات ثلجية في داخل الخلايا، مما يؤدي إلى تلف الأغشية الخلوية و يؤدي إلى تحلل الخلايا. عادة يتم استعمال دورات متعددة من التجميد والذوبان للمساعدة في تحلل الخلايا. وقد اشار الباحث الى ان المعالجة الفيزيائية بالتجميد والتذويب يمكن ان تؤدي تلف وتدمير المصفوفة خارج خلوية بسبب تكوين بلورات الجليد داخل الأنسجة التي قد تعمل على حدوث تغييرات في البنية النسجية للسقالة و تؤثر على قوتها الميكانيكية وخاصة الانسجة الرخوة اما بالنسبة للأنسجة الاكثر صلابة و ذات قوة ميكانيكية كبيرة مثل الأوتار او الأربطة فان ازالة الخلايا بهذه الطريقة تعد طريقة فعالة مع حدوث نسبة قليلة من اذى البنية النسجية للمصفوفة خارج خلوية مقارنة بالأنسجة الرخوة.

بـ- **القوة Force**: يمكن استخدام الضغط المباشر على الأنسجة للحث على تحلل الخلايا بمساعدة عوامل إزالة الخلايا الأخرى حيث يمكن إزالة الخلايا من سطح الأنسجة أو العضو ميكانيكيا عن طريق قشط الخلايا بالفرشاة أثناء التنظيف ولكن هذه التقنية يمكن أن تحدث ضرراً شديداً على القوة الميكانيكية للسقالة الناتجة.

جـ- **الضغط الهيدروستاتيكي Hydrostatic pressure**: في هذه التقنية يتم استخدام الضغط الهيدروستاتيكي العالي أو الضغط الهيدروستاتيكي الفوق العالي Ultrahigh Hydrostatic Pressure للعمل على تحلل الخلايا والعمل على إزالة المواد الخلوية من الأنسجة، وعادة لا يستطيع الضغط الهيدروستاتيكي وحده إزالة الخلايا بشكل كامل ويحتاج إلى طريقة إضافية أخرى لإزالة بقايا الحامض النووي أن استعمال الضغط الهيدروستاتيكي المرتفع يمكن أن يثبط نشاط بعض الميكروبات الدقيقة والفيروسات ، لذلك تعتبر هذه الطريقة من الطرق التي لها تأثير تعقيم عند استعمالها في مستويات ضغط معينة.

2- الطرائق الكيميائية Chemical: وتشمل

أـ- **الاحماض والقواعد Acids and bases**: تستخدم الأحماض والقواعد في إزالة الخلايا من الأنسجة الバイولوجية عن طريق إذابة المكونات السيتوبلازمية للخلايا وتعطيل عمل الأحماض النووية. ومع ذلك فإن هذه المواد الكيميائية يمكن أن تسبب أضراراً لألياف الكولاجين والجليكوزامينوجليكان وعوامل النمو مما يؤثر على التركيب الحيوي وقوة الشد للسقالة، ومن الأحماض المستخدمة بشكل شائع في عملية إزالة الخلايا هي حامض البيراسيتيك Peracetic acid وحامض الخل Acetic acid وحامض الديوكسيكولييك Deoxycholic acid (Freytes *et al.*, 2004).

بـ- **المحاليل مفرطة التوتر ومنخفضة التوتر Hypertonic and hypotonic solutions**: يمكن استخدام المحاليل مفرطة التوتر ومنخفضة التوتر مثل المحاليل الملحية أو الماء منزوع الأيونات للعمل على تحلل الخلايا عن طريق الكلم التناضحية Osmotic shock، وعادة ما يكون لهذه المواد تأثيرات ضئيلة للغاية على مكونات المصفوفة خارج الخلية البنية النسجية للسقالة، حيث يمكن للمحاليل مفرطة التوتر أن تثبط عمل الأغشية النووية وتساعد في تفتيت الحامض النووي وفصله عن البروتينات فضلاً عن أنها قد تعمل على تورم الخلايا بسبب حركة دخول الماء إلى الخلية وفي النهاية تؤدي إلى تمزق الغشاء الخلوي.

ج- المنظفات **Detergents**: هي مركبات متقابلة الزمر amphipathic اي انها تمتلك مجموعات نافرة للماء ومجموعات محبة للماء. يمكن للمنظفات إذابة البروتينات العشائيرية، وتوجد بشكل عام أربع انواع رئيسية من المنظفات، لكن المستخدم منها في إزالة الخلايا تتضمن في الغالب واحد او أكثر من هذه الانواع وهي المنظفات غير الأيونية *Ionic detergents*، والمنظفات الأيونية *Nonionic detergents*، والمنظفات الشاردة ثنائية القطب اي لها شحنة موجبة وشحنة سالبة (Rieder *et al.*, 2004).

د- الكحولات **Alcohols**: مثل الإيثانول Ethanol والميثanol Methanol وهي مركبات عضوية قطبية تستخدم في إزالة الخلايا بسبب قدرتها على تجفيف الخلايا وبالتالي العمل على تحللها حيث لها القدرة على إذابة المواد غير القطبية مثل الدهون وغالباً ما يتم استعمالها لإزالة الدهون من الأنسجة وبشكل عام قد وجد أنها أكثر كفاءة من العلاجات الأنزيمية في إزالة الخلايا من الأنسجة.

هـ- فوسفات ثلاثي ن-البوتيل **Tri(n-butyl phosphate)**: هو مركب فسفوري عضوي يستخدم كمستخلص ومذلن *Organophosphorus compound*، حيث يعمل على تشكيل مجموعات مستقرة كارهة للماء مع بعض المعادن مما يمر الترابط البروتيني وبالتالي يسهل من إزالة الخلايا. وقد استعمل لسنوات عديدة كمذيب عضوي لتعطيل الفيروسات في الدم وإزالة الخلايا من الأنسجة ذات الكثافة العالية مثل الأوتار، وهو أكثر فعالية من المنظفات أو بعض الأحماض في إزالة ائوية الخلايا مع ترك البنية والتكون النسجي سليمين.

3- الطرائق البايولوجية **Biological**: وتسمى ايضاً بالطرائق الانزيمية التي تتمثل باستعمال الانزيمات *Enzymes*: تم استخدام عدة أنواع من الإنزيمات في دراسات إزالة الخلايا ولكن من أكثر الإنزيمات استعمالاً هي الإنزيمات النووية *Nucleases* والتربيسين Trypsin. تشمل الإنزيمات النووية إنزيم DNase وانزيم RNase حيث تعمل على إزالة المواد النووية بعد تحلل الخلية وتستعمل للمساعدة في تثبيط عمل الفيروسات. أما بالنسبة لانزيم التربيسين يعمل على تحلل البروتينات عن طريق شق سلاسل البيتيدية المكونة للبروتين، ويمكن أن يتسبب التعرض لفترة طويلة لهذا الإنزيم الى تدمير وتلف المصفوفة خارج الخلية للأنسجة حيث يعمل على تحلل وتدمير الياف المرنين والكولاجين (Gamba *et al.*, 2002; McFetridge *et al.*, 2004)

14-2: الفحوصات الكيميائية الحيوية **Biochemical examinations**

1- الكرياتينين **Creatinine**

اشار (Kumar *et al.*, 2013) هو أحد المواد النيتروجينية المطروحة من الجهاز البولي ذات وزن جزيئي 133.3D، فيما أشار (Hjelmesæth *et al.*, 2010) ناتج من أيض في العضلات وكذلك الكرياتين المصنّع في الكبد والبنكرياس، ويكون الكرياتين من ثلاثة أمّاحض أمينية هي الأرجينين والكلايسين والميثيونين ويختزن في عضلات الجسم، ثم يختزل إلى الكرياتينين. ان من أسباب ارتفاع الكرياتينين في الدم هي:

- أ- أسباب ليس لها علاقة بأمراض الكلى Prerenal causes ومثال على ذلك النزف المفرط من الأمعاء وفي حالات ارتفاع ضغط الدم لدى الأشخاص البالغين والأشخاص الذين يعانون من تصلب الشرايين أو داء السكري أو في حالات فقر الدم وفي القىء المتكرر وحالات التبول المتعدد (Wu, 2006).
- ب- أسباب ما بعد الكلية postrenal causes وهي التي ليس لها علاقة بأمراض الكلية مثل كل أنواع الانسدادات التي تحصل في الجهاز البولي.
- ج- أسباب تتعلق بالكلية Renal causes مثل التهاب النبيبات الكلوية (Wu, 2006).

2- الـ **Urea**

لقد اشار (Rastogi, 2007) بان الـ **Urea** عبارة عن فضلات نيتروجينية تتكون في الكبد كناتج نهائي من تكسير الأحماس الأمينية وبعد تكوينها تنتشر إلى البلازما وترشح وتطرح مع البول، وتكون الـ **Urea** من ثلاثة أمّاحض أمينية هي الأرجينين Arginine والأورنثين Orthenine والسيترولين Citrullin. أشار (Slatter, 2003; Wu, 2006) ان من أسباب ارتفاع الـ **Urea** في الدم هي:

- أ- أسباب ليس لها علاقة بالكلية Prerenal causes ومنها وجود خلل في القلب وكذلك حصول جفاف في الجسم نتيجة قلة أخذ الماء أو فقدان المفرط له.
- ب- امراض تصيب الكلية Renal causes مثل الالتهاب الحاد للكبيبة والنبيبات الكلوية Acute glomerulonephritis أو التهاب النبيبات الكلوية المزمن أو تنكس النبيبات الكلوية.

- ج- أسباب ما بعد الكلية Postrenal causes ومثل ذلك الانسدادات التي تحصل في الجهاز البولي مثل الحصى أو تضخم البروستات أو الإصابات السرطانية. وكذلك الانسدادات في الإحليل أو حصول تمزق في المثانة، وإن أخذ كميات كبيرة من البروتينات

تؤدي إلى رفع البيوريا في الدم. فضلاً عن ذلك ترتفع البيوريا في الكلاب بعد الأكل مباشرهً وكذلك في حالة منع الطعام لفترة طويلة، إذ تؤدي إلى زيادة هدم وتحطيم البروتين في الجسم مما ينتج عنها ارتفاع مستوى البيوريا.

3- بروتين متفاعل -سي *C-reactive protein*

هو بروتين خماسي حلقي موجود في بلازما الدم، يرتفع تركيزه في الدورة الدموية كاستجابة لالتهابات، وهو بروتين في الطور الحاد Acute-phase من أصل كبدي hepatic origin يزداد بعد إفراز الانترلوكين-6 Interlinkin-6 بواسطة الخلايا الblastomacrophages والخلايا T-cell. يتمثل دوره الفسيولوجي في الارتباط باللايزوفوسفتيد ايل كولين Lysophosphatidylcholine الموجودة على سطح الخلايا الميتة (Thompson *et al.*, 1999) و يتم تصنيع بروتين سي التفاعلي بواسطة الكبد (Pepys *et al.*, 2003) استجابة للعوامل التي تطلقها الخلايا الblastomacrophages والخلايا التائية الشحمية Macrophage and T-cells (Lau *et al.*, 2005).

اشار (Bray *et al.*, 2016; Enocsson *et al.*, 2021) بان بروتين سي التفاعلي يرتبط بالفوسفوكولين Phosphocholine الموجود على سطح الخلايا البكتيرية مثل بكتيريا المكورات الرئوية *Pneumococcus bacteria* ويعودي هذا إلى حدوث الموت المبرمج للخلايا حيث يعمل على تحفيز عملية البلعمة بواسطة الخلايا الblastomacrophages للخلايا التالفة والمتخرفة Necrotic cells، وبنفس الآلية يرتبط بروتين سي التفاعلي أيضاً بالخلايا اللافقارية ناقصة الاوكسجين Ischemic hypoxic cells ويعودي إلى التخلص منها، بالإضافة إلى ذلك فقد اشار (Pepys and Hirschfield, 2003; Lau *et al.*, 2005; Bray *et al.*, 2016; Buerke *et al.*, 2022) بان بروتين سي التفاعلي يستخرج من المجموعات المناعية بنفس طريقة إنتاج الأجسام المضادة أي جي جي IgG ويحدث الاستجابة الحادة Acute response نتيجة لزيادة تركيز الأنترلوكين-6 IL-6 الذي تنتجه الخلايا الblastomacrophages والخلايا الشحمية، وهذه الاستجابة تحدث في حالات الالتهابات الحادة والمزمنة مثل العدوى البكتيرية او الفيروسية Viral او الفطرية Fungal او الروماتيزية Rheumatic والأمراض الالتهابية الأخرى والأورام الخبيثة Malignancy فضلاً عن أصوات الأنسجة وتنخرها Tissue damage and necrosis وهذه الحالات تسبب إطلاق الحركيات الخلوية التي تؤدي إلى تصنيع بروتين سي التفاعلي والفيبرونوجين Fibrinogen بواسطة الكبد.

15-2: الفحص النسجي المناعي الكيميائي *Immunohistochemistry*

examinations

1- عامل نمو بطانة الأوعية الدموية *Vascular endothelial growth factor* (VEGF)

ان عامل نمو بطانة الأوعية الدموية عامل نمو له نشاط محفز لتكوين الأوعية الدموية، وله تأثير على الخلايا البطانية، اذ يعمل على زيادة هجرة تكاثر هذه الخلايا لتكوين الأوعية الدموية. لقد اشار (Broussy, 2024) بان عائلة VEGF من الحركيات الخلوية الرئيسية المساعدة لتكوين الأوعية والأوعية اللمفاوية. في الثدييات، تشمل هذه العائلة عدة انواع وهي VEGF- VEGF-A و VEGF B والنوع C والنوع D وعامل نمو المشيمة. وقد تم وصف عامل النمو VEGF والمعروف باسم عامل نفاذية الأوعية الدموية VPF لأول مرة كعامل نمو أساسى للخلايا البطانية الوعائية، اذ تم تشخيصه في العديد من الأورام حيث تم التأكيد من مساهمه في تكوين الأوعية الدموية للورم.

عامل نمو بطانة الأوعية الدموية ينتج بواسطة أنواع عديدة من الخلايا منها الخلايا السرطانية والبلعميات والصفائحات الدموية والخلايا الكيراتينية، ان وظيفة هذا العامل لا تقتصر تكوين الأوعية الدموية الجديدة فقط بل انه يلعب دوراً في الوظيفة الفسيولوجية الطبيعية مثل تكوين العظام وتكون الدم والثئام الجروح وتطورها (Taub *et al.*, 2000).

اشار (Drinkwater *et al.*, 2002) بان بروتين عامل نمو بطانة الأوعية الدموية يفرز من الأنسجة استجابة لعدة منبهات مثل نقص الأوكسجين والالتهابات حيث يعمل على هجرة بطانة الأوعية الدموية وانتشارها وزيادة نفاذية الأوعية الدموية وان افرازه يكون بشكل منظم أثناء عملية التئام الجروح.

2- الفيمينتين *Vimentin*

الفيمينتين هو بروتين خيطي وسيط من النوع الثالث III يوجد في العديد من أنواع الخلايا غير الناضجة في الجهاز العصبي المركزي والجسم مثل الخلايا الظهارية العصبية البدائية Neuroepithelial cells primitive والخلايا البطانية للجهاز العصبي المركزي CNS والأوعية الدموية والعضلات الوعائية الملساء وخلايا الارومات الليفية. ان الفيمينتين هو بروتين هيكل ي يتم تشفيره عند البشر بواسطة جين فيم VIM ويأتي أسمها من الكلمة اللاتينية *vimentum* والتي تشير الى مجموعة (Eriksson *et al.*, 2009) وكذلك البكتيريا

ذكر (Cabeen and Jacobs-Wagner, 2010) ان الفيمينتين هو المكون الرئيسي للهيكل الخلوي للخلايا الوسطية وبسبب هذا غالباً ما يستخدم كعلامة للخلايا المشتقة من اللحمة المتوسطة Mesenchymally-derived cells والخلايا التي تمر بمرحلة انتقالية من الظهارية الى اللحمة المتوسطة Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) خلال كل من التطور الطبيعي والتقدير النقيلي Metastatic progression. وأشار (Katsumoto *et al.*, 1990) بأن الفيمينتين يلعب دوراً مهماً في دعم وثبتت موضع العضيات في العصارة الخلوية Cytosol ويكون على اتصال بالشبكة الأندوبلازمية Endoplasmic reticulum والنواة Nucleus والميتوكوندريا Mitochondria. أن الطبيعة الديناميكية للفيمينتين مهمة لتوفير المرونة للخلية عندما تتعرض للضغط الميكانيكي في الجسم الحي، لذلك من المقبول عموماً ان الفيمينتين هو المكون الهيكلية الثاني المسؤول عن الحفاظ على سلامة الخلايا وأن الخلايا التي تحتوي على الفيمينتين تكون حساسة للغاية (Goldman *et al.*, 1996).

16-2: التصوير الشعاعي للمثانة البولية Cystography

أشار (Byl *et al.*, 2010) يسمح تصوير المثانة البولية بالتبين ببرؤية المثانة وتقييم سلامة جدار المثانة وسمكه والتحقق من التشوّهات داخل التجويف المثانة مثل حصوات المثانة والكتل Mass وأن تصوير المثانة بالتبين السلبي Negative contrast cystography مفيد في المقام الأول لتحديد سماكة جدار المثانة. وبعد تصوير المثانة الإيجابي والمزدوج التباين أكثر حساسية للتشوّهات المخاطية والتي تكون داخل التجويف والتي قد ترتبط بالعلامات السريرية لعسر البول Dysuria وتمزق المثانة ويمكن أيضاً استعماله لتقييم حالة المريض المصابة بالرتج الاحيلي Urachal diverticulae وغالباً ما يستخدم تصوير المثانة مزدوج التباين للكشف عن حصوات المثانة. ان التصوير الشعاعي يعتبر أكثر دقة من التصوير بالموجات فوق الصوتية ultrasonography في تحديد حجم الحصوات داخل المثانة وقد لا يحدد التصوير بالموجات فوق صوتية والتصوير الشعاعي ultrasonography and plain radiography موضع المثانة البولية بوضوح في الحيوانات المصابة بكتلة داخل البطن أو العجان أو خلف البريتون خاصةً إذا كانت المثانة مملوئة بالسوائل.

2-17: الرفض المناعي للرُّقُع الحيوية Immunorejection of biomaterials

ان رفض الانسجة مناعياً يحدث عندما يحصل تفاعل مناعي ناتج عن رفض جسم المتنامي للأعضاء أو الانسجة المغروسة فيه، ويعود سبب ذلك إلى وظيفة الجهاز المناعي المتمثلة بالقضاء على الأجسام الغريبة، وعادةً تقوم بذلك الخلايا البيضاء التي تهاجم الأنسجة الغريبة بما في ذلك الأنسجة المغروسة في جسم المتنامي ويسمى هذا التفاعل بالتفاعل الرفضي *Rejective reaction* ويحصل الرفض للأعضاء والأنسجة عندما يتعرف الجهاز المناعي على جزيئات معينة موجودة على سطح الخلايا الموجدة في النسيج المتبروع به على أنه جزيئات غريبة تسمى هذه الجزيئات بالمستضدات *Antigens*، ويمكن في بعض الحالات التقليل نسبة الرفض عند جسم المتنامي عن طريق التنميط المصلي (Gammon and Jewell, 2019).

وقد اشار (Gammon and Jewell, 2019) ان الرفض المناعي للأنسجة المغروسة والاعضاء يمكن تقسيمه الى انواع وهي كالتالي:

1- الرفض فائق الحدة *Peracute rejection*

الرفض فائق الحدة هو استجابة وسطية مكملة لجسم المتنامي الحامل للأجسام المضادة الموجودة مسبقاً لديه، وهي بدورها تكون مضادة للجزء المغروس مثل الأجسام المضادة بالدم نوع *ABO*. إن الرفض مفرط الحدة يحدث في غضون دقائق، ويجب أن يزال العضو أو النسيج المغروس لتجنب حدوث الاستجابة الالتهابية الشديدة، والتي تؤدي الى حدوث التلاصق السريع في الدم، وهذا الخطر يحدث عادة في عمليات زرع الكلية. ان الرفض فائق الحدة هو رد فعل مشابهة لرد فعل الجسم عند نقل الدم، وهي استجابة مناعية لعملية الاختلاط في الدم. فيما يتعلق بزراعة الأعضاء الأخرى تم منع مشكلة الرفض عن طريق زراعة الأعضاء ذات التوافق *ABO* فقط.

2- الرفض الحاد *Acute rejection*

يببدأ عادةً بعد اسبوع واحد من غرس الانسجة في الجسم، بينما الرفض فائق الحدة يحدث بشكل فوري. إن أعلى درجة خطورة عند التعرض للرفض الحاد تكون في الأشهر الثلاثة الأولى من غرس الانسجة الغريبة ومع ذلك يمكن أن يحدث الرفض بعد عدة أشهر الى سنة من عملية الغرس، وفي حالة تمييز سبب الرفض ومعالجته فوراً فإن ذلك يؤدي الى تقبل جسم المتنامي للنسيج المغروس.

3- الرفض المزمن **Chronic rejection**

استعمال مصطلح الرفض المزمن في البداية لوصف فقدان طويل الأمد لوظيفة الأعضاء المغروسة بالإضافة إلى تلف الأوعية الدموية الداخلية في الأنسجة المغروسة، أما في الوقت الحالي يسمى بالاعتلال الوعائي المزمن. أن مصطلح الرفض المزمن مقترن بحالات رفض الأنسجة بسبب وجود الالتهابات المزمنة (Gammon and Jewell, 2019).



الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and

Methods

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-3: الحيوانات Animals

أُجريت هذه الدراسة بعد أن تم الحصول على موافقة لجنة أخلاقيات التعامل مع الحيوانات التابعة لكلية الطب البيطري في جامعة الموصل رقم UM.VET. 203,069.

استخدم في هذه الدراسة (18) كلباً محلياً بالغاً من الذكور فقط، أذ بلغ معدل أعمارها (2.2±24) شهراً وأوزانها (1.1±25) كغم. تم فحص جميع الكلاب سريرياً وذلك للتأكد من خلوها من الأمراض، وكانت جميعها بصحة جيدة ولم تعاني من أي مرض ظاهر خلال مدة التجربة وتم تلقيحها بلقاح داء الكلب السباعي Biocan DHPPi+LR, biovita, Czech Republic والداخلية نوع أيفرمكتين (Ivermectin, promectin, Spanish) وبجرعة 0.3 ملغم /كغم من وزن الجسم تحت الجلد (Atala, 2014). وتم إيواء الكلاب لمدة أسبوعين في البيت الحيواني قبل البدء بالدراسة للمراقبة والتلقيح ثم تم وضعها في أقفاص منفردة في البيت الحيواني في الكلية في المكان المخصص لإيواء الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري /جامعة الموصل، وتم إعطاؤها الطعام الخاص بالكلاب والماء النظيف بصورة مستمرة.

2-3: المواد المستعملة Materials

2-3-1: الأدوية والمواد الكيميائية

تم استعمال الأدوية والمواد المدرج اسماؤها ومكان صنعها في الجدول (1-3).

الجدول (1-3): يوضح الأدوية والمواد الكيميائية المستعملة في التجربة

| الدولة المصنعة | اسم الدواء أو المادة الكيميائية | ت |
|----------------|---|---|
| هولندا | عقار الزايلازين xylazine %2 | 1 |
| المانيا | عقار هايدرو كلورايد الكيتامين Ketamine %5 hydrochloride | 2 |
| إنكلترا | مضاد حيوي مزيج من البنسلين والستربوتومايسين | 3 |
| إنكلترا | مضاد حيوي مزيج من الألماوكسلين والجنتاماسيين | 4 |
| الأردن | خافض حرارة ومسكن ألم ومضاد التهابات الفولتارين | 5 |
| إيران | بanax جروح OTC | 6 |

| | | |
|---------|--|----|
| إنكلترا | فورمالين 10% | 7 |
| هندي | مسحوق صوديوم ديوكسى كلوريت | 8 |
| العراق | إيثانول الكحول 70% مطلق | 9 |
| العراق | PBS فوسفيت بفر سلاين | 10 |
| تركيا | الصبغة الشعاعية contrast med | 11 |
| العراق | ديستل وتر DW | 12 |
| فرنسا | محلول وبخاخ مادة اليود بوفيدون ايدوبين | 13 |
| يونان | خيط جراحي غير ممتص نوع حرير Silk قياس 2 | 14 |
| الصين | خيط جراحي ممتص نوع قصابة الكروميك (2) chromic catgut | 15 |
| الصين | خيط جراحي ممتص بولي كلرتيين 910 حجم 0.3 | 16 |
| الصين | قسطرة حجمها 10 مع أكياس جمع البول | 17 |
| تركيا | اليود العضوي | 18 |

2-2-2: الأجهزة والأدوات المستعملة في الدراسة

تم استعمال الأدوات والأجهزة المدرجة في الجدول (2-3).

الجدول (2-3): الأجهزة والأدوات المستخدمة في التجربة

| الجهة المصنعة | أسم الجهاز أو الأداة | ت |
|---------------|---|----|
| إنكلترا | جهاز التعقيم المؤصدة Autoclave | 1 |
| المانيا | جهاز الطرد المركزي Centrifuge | 2 |
| الهند | جهاز صفيحة التسخين Hot plate | 3 |
| الصين | جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer device | 4 |
| إيطاليا | جهاز المشراح الدوار Rotary microtome | 5 |
| المانيا | سيت جراحي متكامل لأجراء العمليات الجراحية للمثان البولية | 6 |
| اليابان | جهاز الأشعة المترد | 7 |
| اليابان | جهاز التحميض الآوتوماتيكي | 8 |
| بلجيكا | الأفلام الشعاعية | 9 |
| الصين | أنابيب اختبار زجاجية مختلفة الأنواع والاستعمال بحجم 10 مل | 10 |
| الصين | أنابيب اختبار بلاستيك حجم 10 مل | 11 |

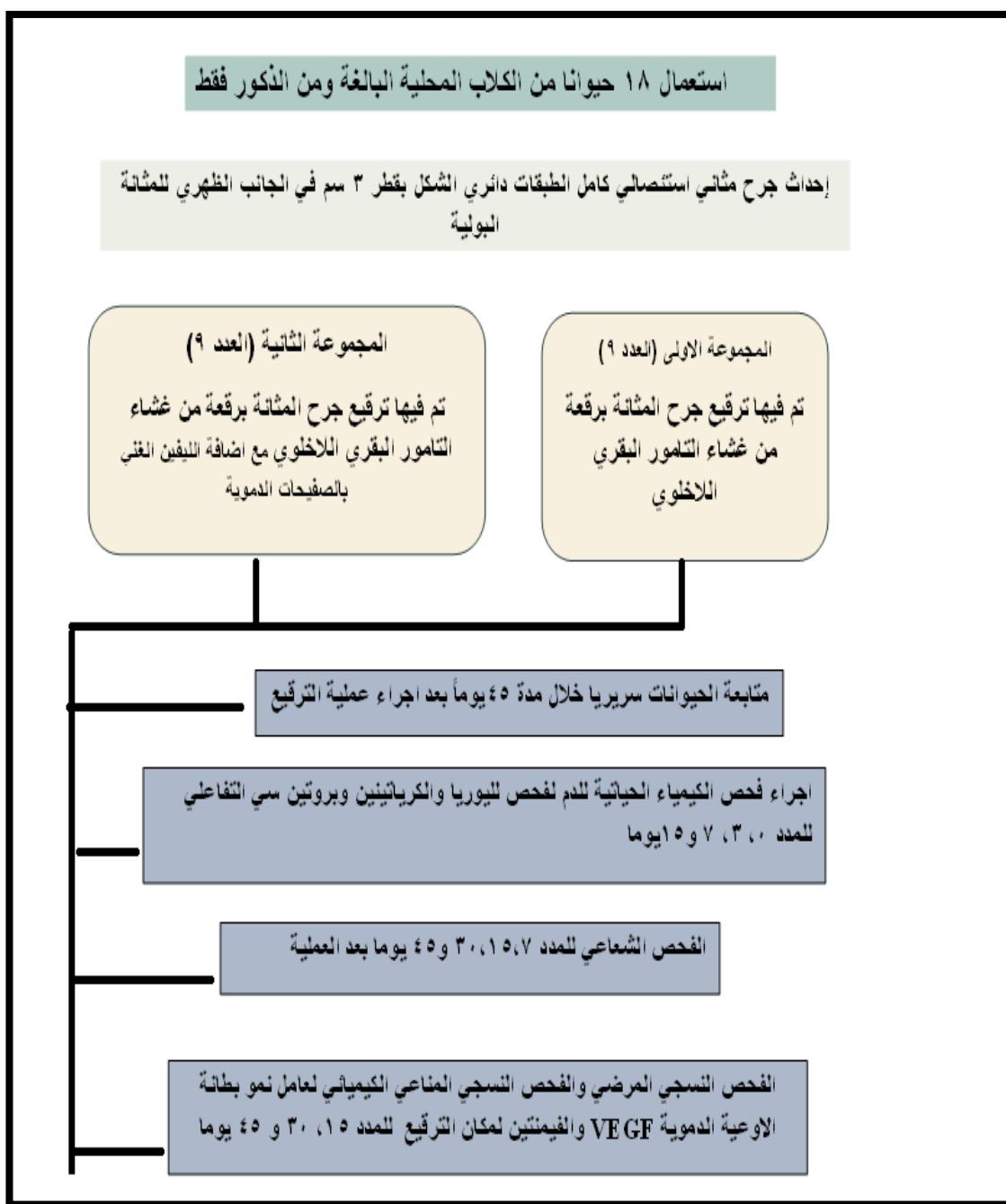
3-3: تصميم التجربة Experimental design

تم إجراء هذه الدراسة على (18) كلباً محلياً بالغاً من السلالات المحلية من الذكور فقط، واجريت العمليات الجراحية في الحيوانات باستعمال التخدير العام وذلك بإحداث جرح مثاني استئصالي كامل الطبقات دائري شكل بقطر 3 سم في الجانب الظاهري للمثانة البولية. وبعدها قسمت الحيوانات عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين اعتماداً على نوع المعاملة التي استعملت لعلاج الجرح وكذلك.

1- المجموعة الأولى: أُجري فيها ترقيع جرح المثانة برقة من غشاء التامور البكري اللاخلوي دائريّة شكل وبقطر 4 سم، وتم تثبيت الرقة في مكان الترقيع بصفين من الخياطة المستمرة المقلوبة للداخل *continuous inverting suture technique* وباستعمال خيط البولي كلاتين 910-3.0. حجم 3-0، اذ تم خياطة الصف الاول بتقنية لمبرت *Cushing suture technique* والصف الثاني بتقنية كوشن *Lambert suture technique* فقط.

2- المجموعة الثانية: أُجري فيها ترقيع جرح المثانة برقة من غشاء التامور البكري اللاخلوي كما في المجموعة الأولى مع اضافة الليفين الغني بالصفائح الدموية على حافة الرقة وتنبيتها بغرز متفرقة من الخياطة البسيطة المتقطعة *Simple interrupted* باستعمال خيط البولي كلاتين 910-3.0 *Polygalactine* حجم 3-0.

بعد ذلك تم متابعة الحيوانات في كافة المجاميع سريريا خلال مدة 45 يوماً وإجراء الفحص العياني للمدد 15، 30 و45 يوماً بعد العملية، اضافة الى اجراء فحص الكيمياء الحيوية للدم لفحص الليوريا والكرياتينين وبروتين سي التفاعلي للمدد 0، 3، 7 و15 يوماً. مع اجراء الفحص الشعاعي للمدد 30، 15، 7 و45 يوماً بعد العملية وكذلك إجراء الفحص النسجي المرضي والفحص النسجي المناعي الكيميائي لعامل نمو بطانة الاوعية الدموية والفيمنتين لمكان الترقيع للمدد 15، 30 و45 يوماً بعد العملية (الشكل 1-3).



الشكل (1-3): مخطط تصميم التجربة.

4-3: تحضير الحيوانات

تم تصويم الحيوانات مدة 8 ساعات عن الغذاء ومنعها من شرب الماء مدة 6 ساعات قبل اجراء العملية، وبعد تخيير الحيوانات تم تحضير مكان العملية وهي منطقة البطن Animal abdomen والتي تشمل المنطقة الممتدة من غضروف الراهبة Xiphoid cartilage الى عظم العانة وكذلك تم تحضير مكان الوريد الوداجي Jugular vein لسحب الدم.

3-5: تخدير الحيوانات

اعطيت الحيوانات قبل العملية مباشرة او لا عقار الاتروبين سلفيت Atropine sulfate بجرعة 0.05 ملغم / كغم من وزن الجسم كمادة ما قبل التخدير وبعدها تم تخدير الحيوانات تخدير عام عن طريق الحقن العضلي بخلط متكون من الزيالازين بتركيز 2% والكيتامين هيدروكلورايد بتركيز 10% وبجرعة 3 ملغم / كغم و 10 ملغم / كغم من وزن الجسم على التوالي.

3-6: تحضير غشاء التامور البقري اللاخلوي Preparation of acellular

bovine pericardium

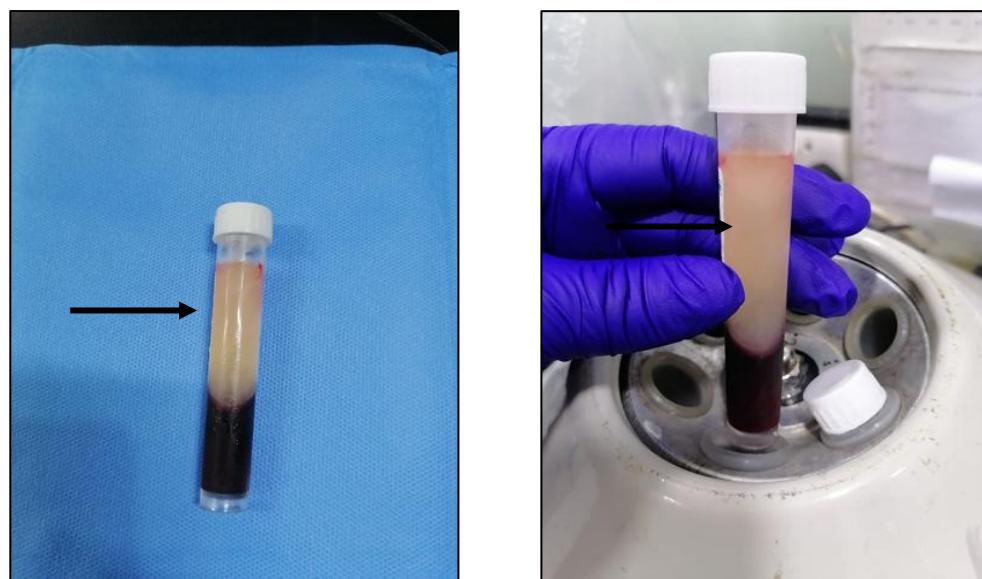
تم جلب غشاء التامور البقري الطازج من المجزرة وتم وضعه بحاوية بلاستيكية تحتوي على محلول داري الفوسفات phosphate buffered saline PBS لحفظ العينة لحين البدء بعملية تحضيره في المختبر، إذ تم غسل الغشاء بالفسفور محلول داري الفوسفات لإزالة الدم الملتصق بعد ذلك تم إزالة وتنظيف العينة من الدهون ومن الأنسجة الأخرى بشكل جيد باستعمال الشاش الجاف ، وبعدها وضعت العينة النسيجية في كحول الإيثانول 70% Ethanol alcohol لمنطقة 2 ساعة لتنبيط العينة ومن ثم بعد ذلك تمت عملية استكمال إزالة الخلايا من غشاء التامور باستعمال طريقة معدلة، اذ تم اخذ العينة ووضعها في مادة صوديوم دايوكسى كلورايد Sodium diaoxy chloride 2% %2 وتم وضعها في جهاز صفيحة التسخين بسرعة 220 دورة بالدقيقة لمدة سبعة أيام لضمان الاتصال المباشر الجيد بين غشاء التامور والمواد الكيميائية. وللتتأكد من إزالة الخلايا من عينات غشاء التامور المعالجة تم أجراء الفحص النسجي المجهرى بعد صبغها بصبغة الهيماتوكслиن واللايوسين، ومن بعد ذلك وضعت العينة بمحلول داري الفوسفات لمدة 15 دقيقة لإزالة مادة صوديوم دايوكسى كلورايد 2% من النسيج المحضر، وبعدها تم وضع النسيج المحضر بماء غير أيوني Deionized water لمدة 15 دقيقة ومن ثم بمحلول محضر من محلول داري الفوسفات والجنتاميسين 2% لتعقيمها. وتم بعد ذلك تم حفظ العينة بالثلاجة لحين استعمالها في عملية الترقيع (Kumar *et al.*, 2013; Al-Bayati and Hameed, 2018) (الشكل 2-3). لقد تم اخذ عينة نسجية من غشاء التامور قبل وبعد تحضيره لأغراض الفحص النسجي والتتأكد من خلوه من الخلايا بعد اجراء تقنية ازالة الخلايا منه.



الشكل (3-2): غشاء التامور البكري اللاخلوي بعد التحضير.

7-3: تحضير الليفين الغني بالصفائح الدموية Fibrin rich platelet processing (PRF)

تم في حيوانات المجموعة الثانية سحب 20 مل من الدم الوريدي من الوريد الوداجي. ثم وضع الدم مباشرة بعد سحبه في أنبوبين من أنابيب الاختبار الفارغة سعة كل منها 10 مل. وبعدها وضعت الأنابيب المحتوية على عينات الدم في جهاز الطرد المركزي بسرعة (2500 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة) لفصل الدم إلى ثلاث طبقات وهي كالتالي: السفلي تمثل كريات الدم الحمر والوسطى تمثل الليفين الغني بالصفائح الدموية والطبقة العليا تمثل البلازما الفقيرة بالصفائح الدموية. بعد ذلك تم سحب طبقة الليفين الغني بالصفائح الدموية بواسطة ملقط جراحي معقم وتم إزالة الجزء الملتصق به من كريات الدم بواسطة الملقط الجراحي (Mufti *et al.*, 2017) (الشكل 3-3).



الشكل (3-3): يبين الليفين الغني بالصفائح الدموية المحضر من الدم.

8-3: العملية الجراحية **Surgical operation**

بعد تخدير الكلب، تم تفريغ المثانة البولية من البول باستعمال القسطرة البولية Urethral catheterization بقطر (10-8) حسب حجم الحيوان، بعدها تم تحضير مكان العملية الجراحية والمتمثل بالجزء البطني Ventral site من البطن والتي تشمل المنطقة الممتدة من غضروف الرهابة Xiphoide cartilage إلى عظم العانة باتباع المبادئ الأساسية للتحضير للعمليات الجراحية ومن اجراء فتح البطن من خلال عمل شق جراحي في الخط الوسطاني للبطن Midline abdominal incision والذي يمتد من السرة Umbilicus إلى العانة ، حيث تم اجراء القطع في الجلد ونسيج تحت الجلد والخط الابيض Lina alba وعند الوصول إلى مكان اللقفة prepuce تم عمل الفصل الجراحي Dissection لاستبعاد القلفة عن مكان الجرح الوسطاني. بعد الدخول إلى التجويف البطني يتم سحب المثانة بطف وعزلها عن بقية الاحداث في البطن ومن ثم احاطتها بالشاش المرطب بمحلول الملح الفسيولوجي لمنع التلوث وتسريب البول إلى التجويف البطني وبعدها يتم تثبيت قمة المثانة وجانبيها وتهيئتها للفتح الجراحي باستعمال غرز من Stay suture باستعمال خيط البولي كلاكتين 910 حجم 3-0. قبل عمل الجرح في المثانة تم رفع المثانة للأعلى والى الخلف معأخذ الحذر من تمزق الحالبين. وبعدها تم عمل جرح استئصالي كامل الطبقات Full thickness excisional wound دائري بقطر 3 سم في الجهة الظهرية من المثانة وفي المنطقة الخالية من الأوعية الدموية باستعمال المشرط، وبعد عمل الفتحة، تم إزالة البول والدم المتبقى باستعمال جهاز الشفط (الشكل 3-4).

وبعدها قسمت الحيوانات عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين اعتماداً على نوع المعاملة التي استعملت لترقيع مكان الجرح الاستئصالي وكذلكالي:

1- المجموعة الأولى:

شملت هذه المجموعة 9 كلاب وفيها تم اجراء ترقيع جرح المثانة برقة من غشاء التامور البقري الالخلوي دائري شكل وبقطر 4 سم، وتم تثبيت الرقة في مكان الترقيع بصفين من الخياطة المستمرة المقلوبة للداخل وباستعمال خيط البولي كلاكتين 910، اذ تم خياطة الصفيحة الاولى بتقنية لمبرت والصف الثاني بتقنية كوشنر فقط (الشكل 5-3).

2- المجموعة الثانية:

شملت هذه المجموعة 9 كلاب وأجري فيها ترقيع جرح المثانة برقة من غشاء التامور البقري الالخلوي كما في المجموعة الاولى مع اضافة الليفين الغني بالصفائح الدموية الذي تم الحصول عليه من عملية الطرد المركزي لعينة الدم بحجم 20 مل. حيث تم وضع الليفين بشكل دائري فوق خط الخياطة الرابط بين الرقة ونسج المثانة، وقد تم تثبيته بغرز متفرقة من الخياطة البسيطة المقطعة باستعمال خيط البولي كلاكتين 910. حجم 0-3 (الشكل 6-3).

تم في كل المجموعتين، وبعد الانتهاء من ترقيع المثانة غسل المثانة البولية والتجويف البطني بمحلول الملح الفسيولوجي 0.9 % وبعدها تم رفع خيط التثبيت للمثانة البولية ومن ثم إرجاعها إلى التجويف البطني وآخرها تم غلق جدار البطن باتباع التقنيات الأساسية المعتمدة لخياطة جدار البطن.



الشكل (4-3): يوضح عمل جرح استئصالي كامل السماكة دائري بقطر 3 سم في جدار المثانة البولية.



الشكل (5-3): يوضح عملية ترقيع المثانة البولية بغضاء التامور البكري الالخلوي بقطر 4 سم في المجموعة الأولى.



الشكل (6-3): يوضح ترقيع المثانة البولية بغضاء التامور البكري الالخلوي مع اضافة الليفين الغني بالصفائح الدموية في المجموعة الثانية.

٩-٣: العناية بالحيوانات بعد العملية الجراحية Post-operative care

بعد انتهاء من العملية ولتجنب تداخل الحيوان مع جرح العملية تم تقييد حركة الحيوان بوضع اطوق اليزبيثان كولر على عنق الحيوان Elizabethan collar، وتم المحافظة على جرح البطن باستعمال ضمادات معقمة لمدة 5 ايام حيث تم تبديلها يومياً مع التطهير اليومي للجرح برذاذ OTC لحين التئام الجرح، وتم اعطاء الحيوانات في المجموعتين عقار البنسلين بجرعة 10000 وحدة دولية اكغم من وزن الجسم وستربوتومايسين بجرعة 15 ملغم اكغم من وزن الجسم طريق الحقن العضلي لمدة خمسة ايام بعد العملية. ايضا تم اعطاء الحيوانات عقار مسكن الألم وخافض الحرارة لمدة من 5-3 أيام. تم ازالة القسطرة بعد 24 ساعة وتم ازالة الخيط Analgesic الجراحي الخارجي لجرح العملية بعد 10 ايام في جميع الحيوانات.

3-10: الفحوصات المتعددة بعد اجراء عملية الترقيع

1-10-3: الفحص السريري Clinical examination

تم فحص جميع حيوانات التجربة سريرياً وخلال مدة 45 يوماً للحظة أي تغيرات مرضية قد تظهر على الحيوانات مثل وجود الألم وفقدان الشهية والتبول الدموي وسلس البول وصعوبة التبول والبول البطني.

3-10-2: الفحوصات الكيميائية الحيوية Biochemical analysis

تم قياس تركيز اليوريا والكرياتينين من خلال تحليل قياس اللون Colorimetric calculation باستعمال جهاز مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer device. حيث تم قياس تركيز اليوريا والكرياتينين في مصل الدم في اليوم صفر قبل العملية الجراحية وفي اليوم 15,7,3 بعد العملية الجراحية، إذ تم سحب 5 مل من دم الوريد الوداجي للكلاب في كل فترة من الفترات التي تم فيها القياس، وبعدها تم وضع الدم في أنابيب اختبار وتركه لمدة 30 دقيقة لغرض التخثر، وبعد ذلك تم وضع الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة \ دقيقة ولمدة 10 دقائق لغرض الحصول على المصل (Wu, 2006). (الملحق 1 والملحق 2) يبين طريقة قياس اليوريا والكرياتينين على التوالي.

2- بروتین متفاعل سی C-reactive protein

تم قياس تركيز بروتين متفاعل -سي في مصل الدم في اليوم صفر قبل العملية الجراحية وفي اليوم 15,7,3 بعد العملية الجراحية، إذ تم سحب 5 مل من دم الوريدي لحيوانات التجربة

في كل فترة من الفترات التي تم فيها القياس، وبعدها تم وضع الدم في أنابيب اختبار وتركه لمدة 30 دقيقة لغرض التخثر، وبعد ذلك يوضع في جهاز الطرد المركزي من نوع وبسرعة 3000 دورة \ دقيقة ولمدة 10 دقائق لغرض الحصول على المصل وبعد ذلك تم نقل المصل الى أنابيب ايبندروف Eppendorf tube سعة 0.5 وتم خزنه في درجة حرارة -20°C وتم تحليل عينات المصل باستعمال تقنية الانزيم المرتبط بالفحص المناعي (الايلزا) Enzyme -linked Immunosorbent assay technique (ELISA) مع استعمال العدة الخاصة بالكلاب من نوع ELISA ELK9107 Kit . (الشكل 7-3) . (الملحق 3) يبين طريقة قياس بروتين متفاعل - سي.

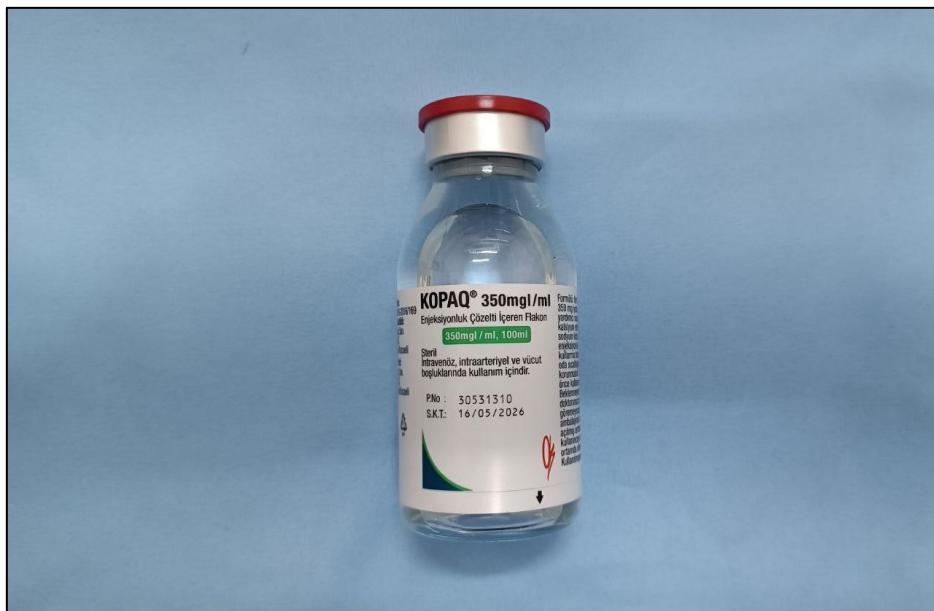


الشكل (7-3): يوضح المواد والمستلزمات الخاصة بإجراء فحص بروتين متفاعل - سي في الكلاب.

3-10-3: الفحص الشعاعي Radiographic examination

تم اجراء الفحص الشعاعي لل厶ثانية البوالية cystography لجميع حيوانات التجربة باستعمال جهاز الأشعة الرقمي Digital radiography . باستعمال عامل التعرض ذروة الكيلوفولط 60 (وال ملي امبير لكل ثانية \second Kilovoltage peak 60 Mile Amber) 0.25\0.02 (دقيقة) للمدد 45,30,15,7 يوم بعد العملية الجراحية ، وقد تم اخذ صور شعاعية للحيوانات بوضع بطيء ظهري Ventrodorsal ووضع جانبي lateral، وذلك لمعرفة هل هناك

التهاب في المثانة او تسريب في المثانة leakage او تكون حصوات داخل المثانة وكذلك لتقدير مكان الالتمام في موقع الترقيع. بدايةً، تم تخدير الحيوانات تدريجياً عام باستعمال نفس المواد والجرع العلمية المستعملة اثناء تدريج الحيوانات لإجراء العملية الجراحية، وبعدها تم تفريغ المثانة البولية بشكل كامل من البول باستعمال القسطرة البولية، وبعد ذلك تم حقنها بالوسط التبانيي الموجب Positive contrast media نوع اليود العضوي Organic iodide (الشكل 8-3)، اذ تم سحب 10 مل من اليود العضوي وتخفيضه باستعمال 40 مل من محلول الملح الفسيولوجي بتركيز 0.9% للحصول على 50 مل من اليود العضوي والذي تم حقنه في داخل المثانة عن طريق القسطرة، وبعدها تم غلق نهاية القسطرة باستعمال الملاقط الشريانية Artery forceps two view بطني ظهري ووضع جانبي للمثانة البولية.



الشكل (8-3): يوضح الوسط التبانيي الموجب (اليود العضوي).

3-10-4: الفحص المرضي العياني Macropathological examination

بعد تدريج الحيوانات تدريجياً عام وكما هو موضح سابقاً، تم اجراء فتح البطن بنفس الطريقة التي تم شرحها سابقاً، وقبل اخذ الخزع النسجية من مكان الترقيع لأغراض الفحص النسجي المرضي والفحص النسجي المناعي، تم تقييم مكان الترقيع عن طريق الفحص العياني للمدد 45,30,15 بعد العملية وذلك لملحوظة هل هنالك التصاقات او تسريب للبول او التهابات او خمج وكذلك فحص وملحوظة تقبل الرقع من قبل نسيج المثانة.

3-10-3: الفحص النسجي المرضي Histopathological examination

أُجري جمع عينات نسجية من مكان الترقيع شملت رقعة غشاء التامور البكري الالخلوي ونسيج المثانة في مكان الترقيع للأيام 15,30,45 بعد عملية ترقيع المثانة وبواءع 3 عينات لكل مدة في كلا المجموعتين. تم وضع العينات في محلول الفورمالين الداري المتعادل بتركيز 10% ولمدة 3 أيام وبعدها أجريت لها التمريرات المعتادة في أساسيات الفحص النسجي. اذ مررت في الكحول الاليلي والزايولول ومن ثم شمع البارافين وبعدها صبت العينات في قوالب شمعية وقطعت بجهاز المشراح الدوار Rotatory microtome الى مقاطع نسجية بسمك (5) مايكرون. صبغت الشرائح النسجية بصبغة الهيماتوكسيلين والايوسين Hematoxylin and Eosin اعتمادا على طريقة (Suvarna *et al.*, 2023). وفحصت المقاطع النسجية بالمجهر الضوئي وتم تقييمها من قبل خبراء الفحص النسجي المرضي وبعدها صورت بالكاميرا الرقمية. وقد شملت النتائج النسجية المرضية تقييم ارتشاح الخلايا الالتهابية، كمية تكوين الأنسجة الحبيبية ودرجة نضجها وتكوين الأوعية الدموية الحديثة.

3-10-4: الفحص النسجي المناعي الكيميائي Immunohistochemistry

أُجري الفحص النسجي المناعي الكيميائي للكشف عن البروتينات الخاصة بالفيتينين وعامل نمو الخلايا البطانية الوعائية VEGF في مكان التئام رقعة غشاء التامور البكري الالخلوي مع نسيج المثانة وفي كلا المجموعتين للمدد 15,30,45 يوما بعد عملية الترقيع، اذ تم إزالة البارافين من العينات النسجية التي استعملت لأغراض الفحص النسجي المرضي و المغمورة بالبارافين على شرائح مشحونة، وتم تجفيفها بواسطة الكحوليات المتدرجة وغسلها بمحلول الملح الفسيولوجي وبعدها وضعت الشرائح النسجية في بيروكسيد الهيدروجين بنسبة 0.3% لمرة 30 دقيقة لمنع حصول الاكسدة الداخلية، وبعدها تم حضنها بمحلول بفر مانع Blocking Buffer لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 37°C، بعد ذلك تم اضافة الجسم المضاد الاولى المتعدد النسيلة من ارانب 3-Ab VEGF polyclonal Rabbit IgG للشرائح طوال الليل بدرجة حرارة 4°C، بعدها اضيفت الاجسام المضادة الثانوية IgG anti-Rabbit IgG-Polyperoxidase-anti-Mouse 40m. تم تعليم الشرائح النسجية مناعيا Immunolabeling بمواد مولدة للصباغ البني الاصفر Chromogenic substrate. ثم صبغ العينات بصبغة الهيماتوكسيلين وتم سحب الماء بواسطة الايثانول بتركيز متضاد والترويق بالزايولول ثم وضع الغطاء الزجاجي على الشرائح وبعدها قيمت النتيجة بالاعتماد على النظام المعتمد لتحديد درجة

عامل نمو بطانة الاوعية الدموية. تم اجراء فحص الفيمينتين اعتمادا على الطريقة المتبعة من قبل (Nayak *et al.*, 2013).

قيمت النتيجة للكشف عن الـ VEGF والفيمنتين بالاعتماد على النظام المعتمد لتحديد الدرجات والمعتمد من قبل (Kroese *et al.*, 2007) (الجدول 3-3). تم تصوير جميع المقاطع النسجية المرضية باستعمال الكاميرا الرقمية.

الجدول (3-3): يبين النظام المعتمد لتحديد درجة عامل نمو بطانة الاوعية الدموية والفيمنتين .(Kroese *et al.*, 2007)

| 4+ | 3+ | 2+ | 1+ | 0+ | المعايير |
|---------------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|----------------------|-------------------------------------|
| موجب +++ أكثر من 25 خلية/حقل | موجب ++ 25-11 خلية/حقل | موجب + 10-4 خلية/حقل | ضعيف ± 3-1 خلية/حقل | سالب - 0 خلية/حقل | عامل نمو بطانة الاوعية الدموية VEGE |
| موجب +++ أكثر من 25 خلية/حقل | موجب ++ 25-11 خلية/حقل | موجب + 10-4 خلية/حقل | ضعيف ± 3-1 خلية/حقل | سالب - 0 خلية/حقل | الفيمينتين Vimentin |

(-) لا يوجد تفاعل مناعي؛ (±) تفاعل مناعي ضعيف جدًا؛ (+) تفاعل مناعي إيجابي منخفض؛
(++) تفاعل مناعي معتدل؛ (+++) تفاعل مناعي مرتفع.

11-3: التحليل الاحصائي للنتائج Statistical analysis

النتائج التي تم الحصول عليها تم كتابتها على اساس الوسط الحسابي Mean والخطأ القياسي \pm S.E. وقد تم استعمال برنامج سيكما ستات Sigma stat للتحليلات الاحصائية بواسطة تحليل التباين انوفا (Tow way analysis of Variance, ANOVA) واختبار T-test للمقارنة بين مجموعتي الدراسة (Petrie and Watson, 2013). تم الاعتماد على المستوى المعنوي (P \leq 0.01) للتفريق بين النتائج.



الفصل الرابع

النتائج

Results

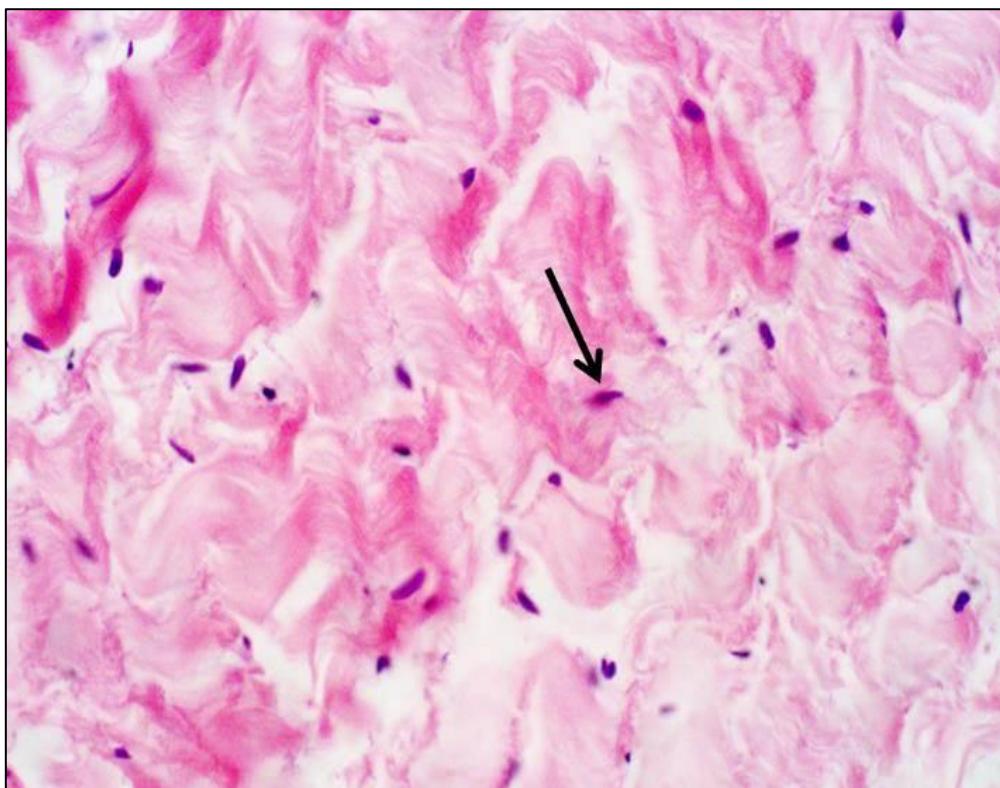
الفصل الرابع

النتائج

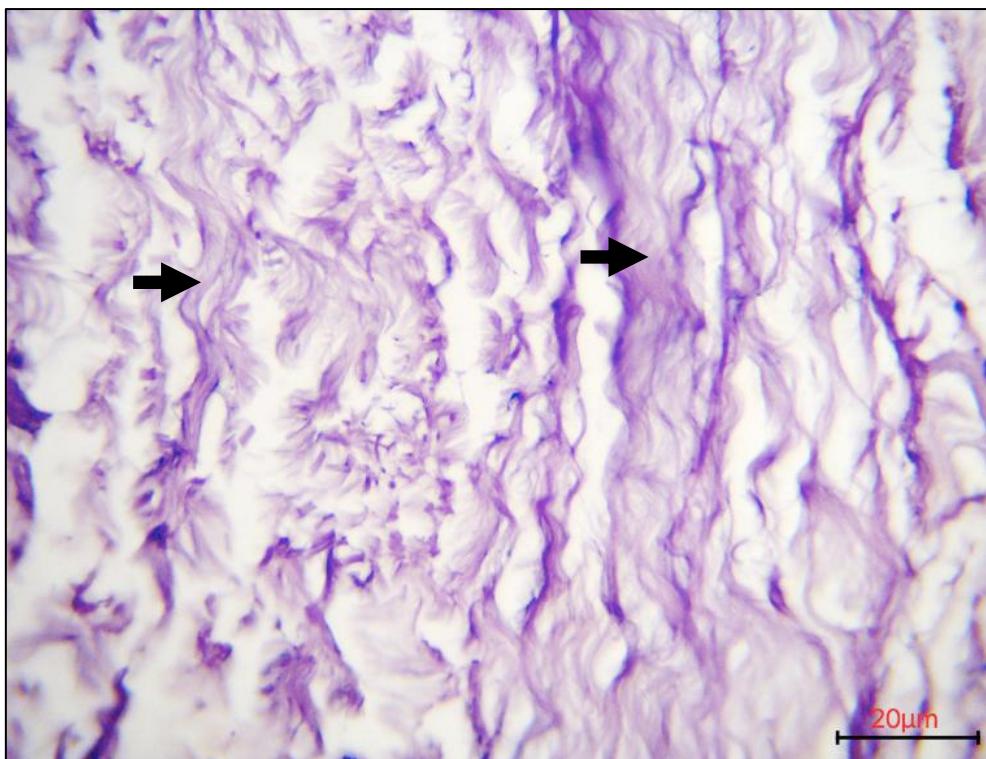
Results

1-4: التقييم النسجي للإزالة الخلوية لغشاء التامور البقري The histological assessment of bovine pericardium decellularization

لوحظ نسجياً فقدان جميع الخلايا والعناصر النووية باستعمال الطريقة المحورة للإزالة الخلوية وملاحظة عدم حدوث تحطيم للكولاجين مع المحافظة على المواد الخارج الخلوية وكذلك البناء الهندسي للجهاز الوعائي الدموي لرقعة غشاء التامور البقري (الاشكال 1-4 و2-4).



الشكل (1-4): مقطع نسجي لغلاف التامور البقري الخلوي الطبيعي يبين وجود النواة (السهم الاسود)، الصبغة هيماتوكسيلين ايوسين. قوة التكبير X40.



الشكل (4-2): مقطع نسجي لغشاء التامور البكري اللاثولي يوضح عدم وجود الخلايا مع ترسب الياف الكولاجين (السهم الاسود) الصبغة هيماتوكسيلين ايوسين. قوة التكبير X.20.

4-2: العلامات السريرية

أظهرت نتائج الفحص السريري بعد العملية الجراحية أن جميع الحيوانات لكلا المجموعتين بقيت على قيد الحياة وفي حالتها الصحية الجيدة وان العلامات السريرية لحيوانات المجموعتين تمثلت بوجود البيلة الدموية في قسم من الحيوانات والتي استمرت لمدة 10-12 ساعة بعد العملية الجراحية وكذلك لوحظ الخمول والكآبة والأرق بعد الإفادة من التخدير مع ملاحظة فقدان الشهية، عملية التعصر وتقوس الظهر Arching of back، الالم وسلس البول اثناء التبول والتي استمرت لمدة 24-48 ساعة بعد العملية الجراحية، وهذه العلامات اختفت في جميع الحيوانات بصورة تدريجية بعد مرور 48-72 ساعة بعد العملية الجراحية حيث تم رجوع التبول الطبيعي للحيوانات. فضلاً عن ذلك لم يلاحظ وجود أي خراجات في مكان جرح البطن، ولم يلاحظ على الحيوانات وفي كل المجموعتين حدوث اي علامات تدل على حدوث التهاب البريتون او الخمج او رفض الرقيقة او البول البطني او تكوين الحصى او تسرب البول.

4-3: الفحوصات الكيميائية الحيوية

4-3-1: قياس تركيز اليوريا

أظهرت نتيجة تحليل تركيز اليوريا إن هناك فرقاً معنوياً بين الفترات ضمن حيوانات المجموعة الأولى المعالجة برقة التامور البقري اللاخلوي عند مستوى ($P \leq 0.01$) فيما عدا بين اليوم الـ 3 واليوم الـ 7 بعد العملية اذ لم يكن هناك فرقاً معنوياً. اما بالنسبة للمجموعة الثانية المعاملة برقة التامور البقري اللاخلوي والليفين الغني بالصفائح الدموية فقد اظهرت فرق بين الفترات ماعدا في فترة الصفر اي قبل العملية وفترة الـ 15 يوم بعد العملية حيث لم يكن هناك فرق بينهما. بينما اظهرت نتائج الفحص بين المجموعتين ان تركيز اليوريا في مجموعة رقة التامور البقري اللاخلوي كانت اعلى من المجموعة الثانية المعاملة برقة التامور والليفين الغني بالصفائح الدموية مختلفة معنوياً عند مستوى معنوية ($P \leq 0.01$) للمدد 7 و 15 يوم بعد العملية، حيث كانت 84.9 ± 3.9 ميليغرام اديسيلتر و 3.6 ± 60.4 ميليغرام اديسيلتر على التوالي (الجدول 1-4).

الجدول (1-4): معدل قيمة تركيز اليوريا في المصل (ميليغرام اديسيلتر) خلال فترات الدراسة في كلتا المجموعتين.

| المجموعة | | |
|--|------------------------------------|------------------------|
| مجموعة رقة التامور البقري اللاخلوي مع الليفين الغني بالصفائح الدموية | مجموعة رقة التامور البقري اللاخلوي | اليوم |
| 25.8 ± 2 أ | 3.4 ± 29 أ | صفر (قبل العملية) |
| 95.3 ± 4.8 ب | 100.8 ± 11.2 ب | الثالث بعد العملية |
| 62.7 ± 11.8 ج * | 84.9 ± 3.9 ب | السابع بعد العملية |
| 28.3 ± 4.7 أ * | 60.4 ± 3.6 ج | الخامس عشر بعد العملية |

الحروف المختلفة في كل عمود تعني وجود اختلاف معنوي بين الفترات في كل مجموعة عند مستوى معنوي ($P \leq 0.01$). *: تعني وجود فرق معنوي بين المجموعتين لنفس الفترة الزمنية عند مستوى معنوي ($P \leq 0.01$) بين مجموعة رقة التامور البقري اللاخلوي ورقة التامور البقري اللاخلوي مع الليفين الغني بالصفائح الدموية.

4-3-2: قياس تركيز الكرياتينين

أظهرت النتائج تحليل تركيز الكرياتينين أنه لا يوجد فرق معنوي بين الفترات ضمن مجموعة رقعة التامور البقري الالخلوي عند مستوى فترة ($P \leq 0.01$) باستثناء فترة 7 أيام التي أظهرت فرقاً معنواً عالياً مع الفترات الأخرى ضمن هذه المجموعة. بينما لوحظ في مجموعة رقعة التامور البقري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائح الدموية وجود فرق بين الفترات ماعدا في اليوم صفر واليوم 15 من جهة وكذلك في اليوم 3 واليوم 7 من جهة أخرى اذا لم يكن هناك اختلاف معنوي. أما بالنسبة للمقارنة بين المجموعتين فقد أظهرت النتائج أن هنالك فرق بين المجموعتين للفترة 7 أيام حيث كانت 2.37 ± 0.26 ميلigram اديسيلتر في مجموعة رقعة التامور البقري وهي أعلى من المجموعة الثانية المعاملة بغضاء التامور البقري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائح الدموية حيث كانت 0.3 ± 1.73 ميلigram اديسيلتر عند مستوى معنوية ($P \leq 0.01$) (الجدول 4-2).

الجدول (4-2): معدل قيمة تركيز الكرياتينين (ميليغرام اديسيلتر) في المصل خلال فترات الدراسة في كلتا المجموعتين.

| المجموعة | | |
|---|-------------------------------------|------------------------|
| مجموعة رقعة التامور البقري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائح الدموية | مجموعة رقعة التامور البقري الالخلوي | اليوم |
| 0.03 ± 1.06 أ | 0.03 ± 1.3 أ | صفر (قبل العملية) |
| 0.05 ± 1.5 ب | 0.12 ± 1.73 أ | الثالث بعد العملية |
| $* 0.3 \pm 1.73$ ب | 0.3 ± 1.73 * | السابع بعد العملية |
| 0.08 ± 1.3 أ | 0.16 ± 1.43 أ | الخامس عشر بعد العملية |

الحروف المختلفة في كل عمود تعني وجود اختلاف معنوي بين الفترات في كل مجموعة عند مستوى معنوي ($P \leq 0.01$). *: تعني وجود فرق معنوي بين المجموعتين لنفس الفترة الزمنية عند مستوى معنوي ($P \leq 0.01$) بين مجموعة رقعة التامور البقري الالخلوي ورقعة التامور البقري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائح الدموية.

4-3-3: قياس تركيز بروتين متفاعل -سي

أظهرت نتيجة تحليل تركيز بروتين متفاعل -سي للكلاب كما هو موضح في الجدول (4-3) عدم وجود فرق معنوي بين فترات ضمن مجموعة رقعة التامور البكري الالخلوي وكذلك ضمن مجموعة رقعة التامور البكري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائحات الدموية عند مستوى معنوي ($P \leq 0.01$). فيما يتعلق بالمقارنة بين المجموعتين فقد اظهرت النتائج ان هنالك فرق معنوي بين المجموعتين للدّر 3 و 7 ايام بعد العملية، حيث كانت عالية في المجموعة الاولى مقارنة بالمجموعة الثانية.

الجدول (4-3): معدل قيمة تركيز بروتين متفاعل- سي (ملغم البير) في المصل خلال فترات الدراسة في كلتا المجموعتين.

| المجموعة | | |
|---|-------------------------------------|------------------------|
| مجموعة رقعة التامور البكري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائحات الدموية | مجموعة رقعة التامور البكري الالخلوي | اليوم |
| 0.03 ± 0.21 | 0.018 ± 0.23 | صفر (قبل العملية) |
| $*0.01 \pm 0.23$ | 0.02 ± 0.29 | الثالث بعد العملية |
| 0.02 ± 0.20 | 0.016 ± 0.20 | السابع بعد العملية |
| $*0.014 \pm 0.21$ | 0.02 ± 0.30 | الخامس عشر بعد العملية |

الحروف المختلفة في كل عمود تعني وجود اختلاف معنوي بين الفترات في كل مجموعة عند مستوى معنوي ($P \leq 0.01$). *: تعني وجود فرق معنوي بين المجموعتين لنفس الفترة الزمنية عند مستوى معنوي ($P \leq 0.01$) بين مجموعة رقعة التامور البكري الالخلوي ورقعة التامور البكري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائحات الدموية.

4-4: الفحص الشعاعي

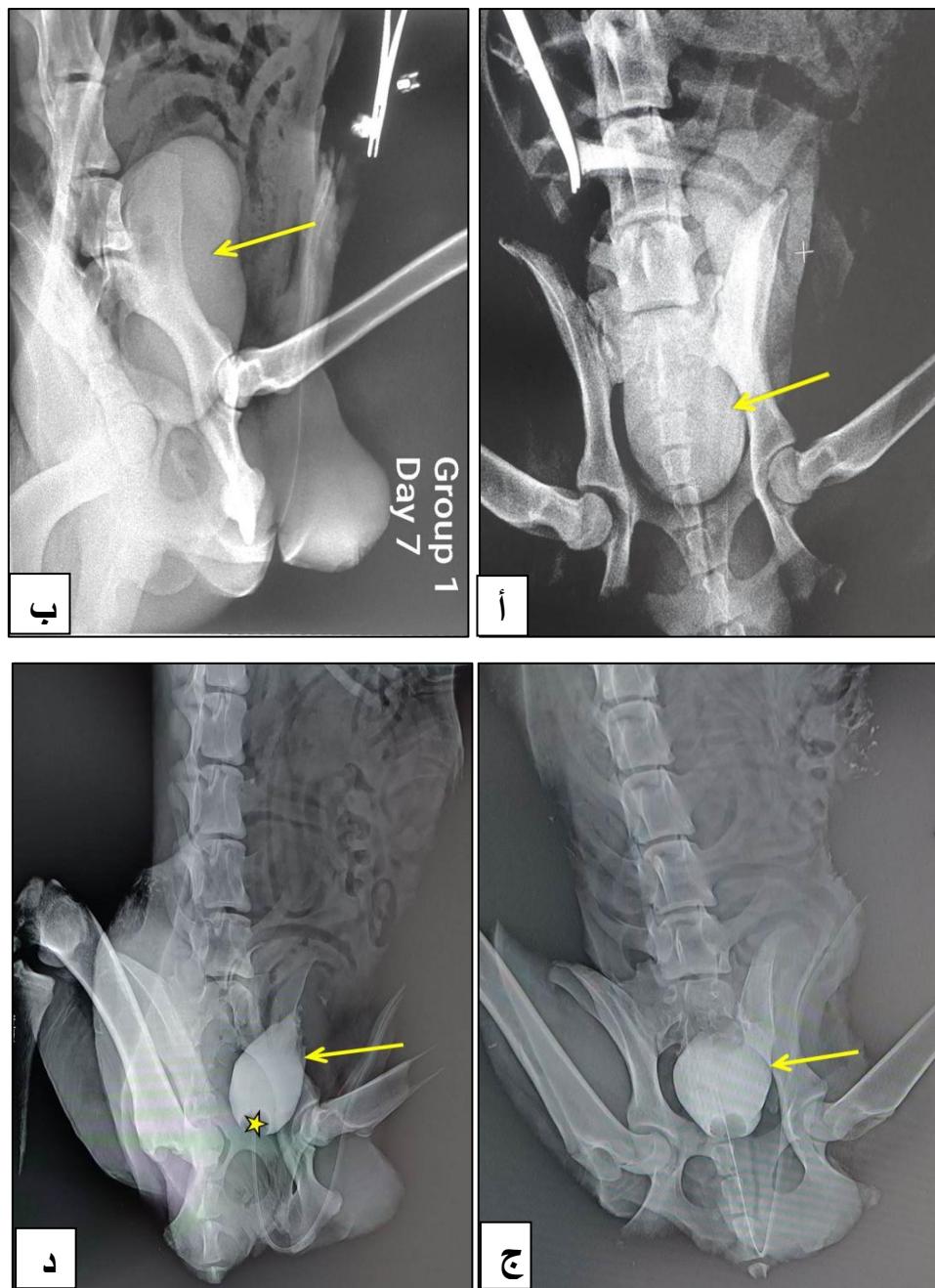
أظهر الفحص الشعاعي في اليوم السابع بعد إجراء عملية ترقيع المثانة البولية في مجموعة غشاء التامور البكري الالخلوي أن الجزء البطني للمثانة منتفخ وذو شكل متغير غير منتظم، ولا يوجد فشل في اندماج الرقعة مع نسيج المثانة ولا يوجد انتفاخ جانبي في جدار المثانة (رتج Diverticulum) ولم يلاحظ حدوث تسرب البول (الشكل 3-4 (أ، ب)). بينما في المجموعة المعالجة بغضاء التامور البكري والليفين الغني بالصفائحات الدموية فقد أظهر الفحص الشعاعي بأن الجزء العلوي من المثانة منتفخ مع شكل كمثري، وفي المنطقة الامامية العلوية لجدار المثانة (موقع

الرقعة) لا يوجد اي عيوب تدل الى فشل التحام الرقعة مع نسيج المثانة. اضافة الى عدم وجود اي انتفاخ جانبي في جدار المثانة (رتج) ولم يلاحظ تسرب للبول (الشكل 4-3 (ج، د)).

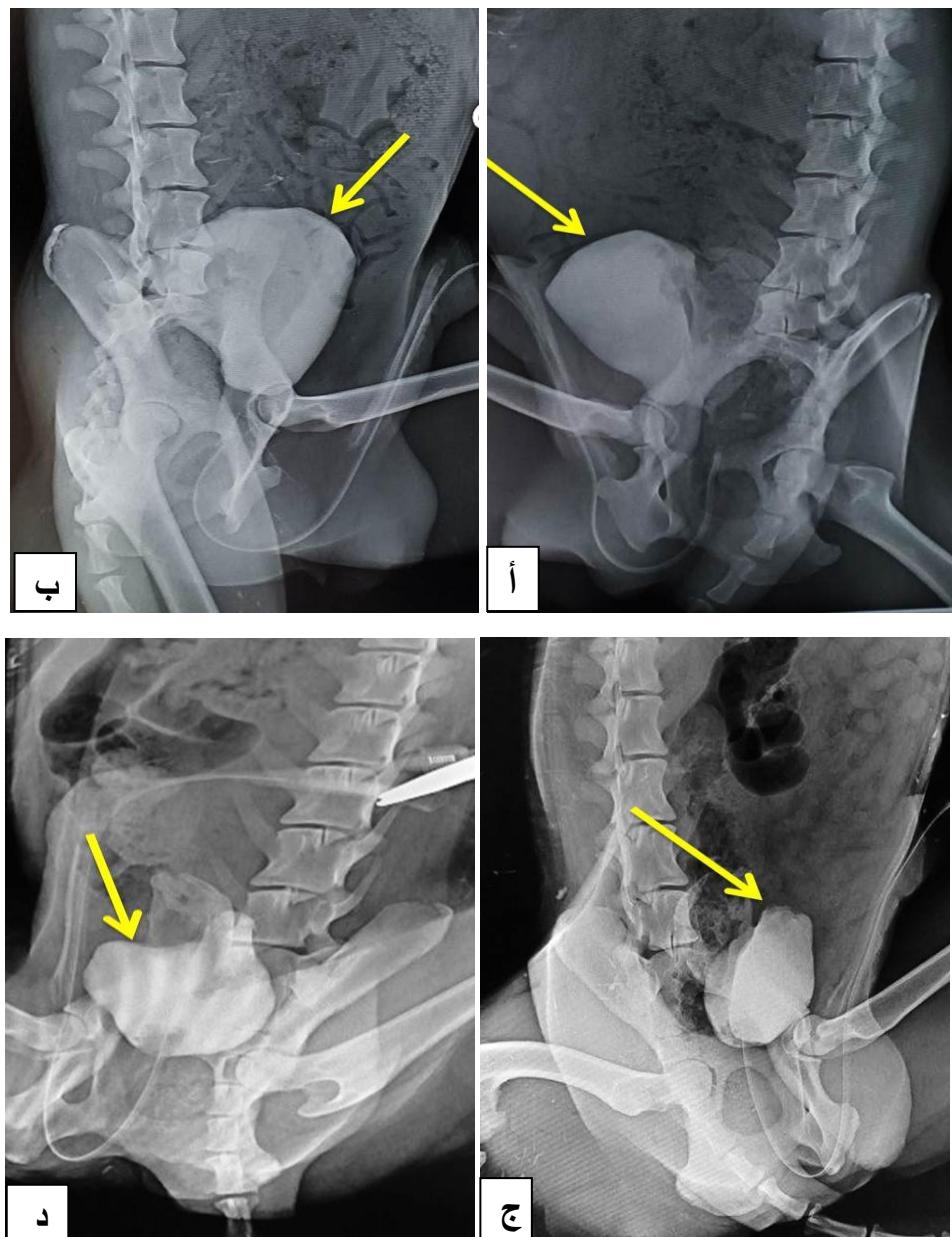
أظهر الفحص الشعاعي في اليوم الخامس عشر من إجراء عملية الترقيع للمثانة البولية في مجموعة غشاء التامور البكري الالخلوي من خلال المنظر بطني ظهري ووحشى انتفاخ المثانة بشكل كمثري ثابت، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام القبة والمنطقة الامامية العلوية لجدار المثانة (موقع الترقيع) ولا توجد عيوب ممتنعة ولا يوجد انتفاخ في جدار المثانة (الرتج) ولا يوجد تسرب البول مؤكدا (الشكل 4-4 (أ، ب)). بينما في مجموعة غشاء التامور البكري المدعם بالليفين الغني بالصفائح الدموية أظهر الفحص الشعاعي بأن الجزء العلوي من المثانة شبه منتفخ مع شكل الكمثري متغير ولكن هناك انخفاض مع انتظام في القبة والمنطقة العلوية الامامية من المثانة (موقع الرقعة) وجاء من انتفاخ القسطرة (النجمة البيضاء)، ولا يوجد انتفاخ في الجدار (رتج) ولا يوجد تسرب بول مؤكدا (الشكل 4-4 (ج، د)).

لوحظ اثناء الفحص الشعاعي للمثانة البولية في اليوم الثلاثون من إجراء العملية في مجموعة غشاء التامور البكري الالخلوي وفي كلا المناظرين البطني الظهري والجانبي انتفاخ المثانة بشكل شبه كمثري ثابت، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام القبة والمنطقة الامامية العلوية لجدار المثانة (موقع الترقيع) ولا يوجد تسرب البول مؤكدا (شكل 4-5 (أ، ب)). بينما في مجموعة غشاء التامور البكري المدعם بالليفين الغني بالصفائح الدموية كانت الفحوصات الشعاعية مشابهاً للمجموعة الاولى (شكل 4-5 (ج، د)).

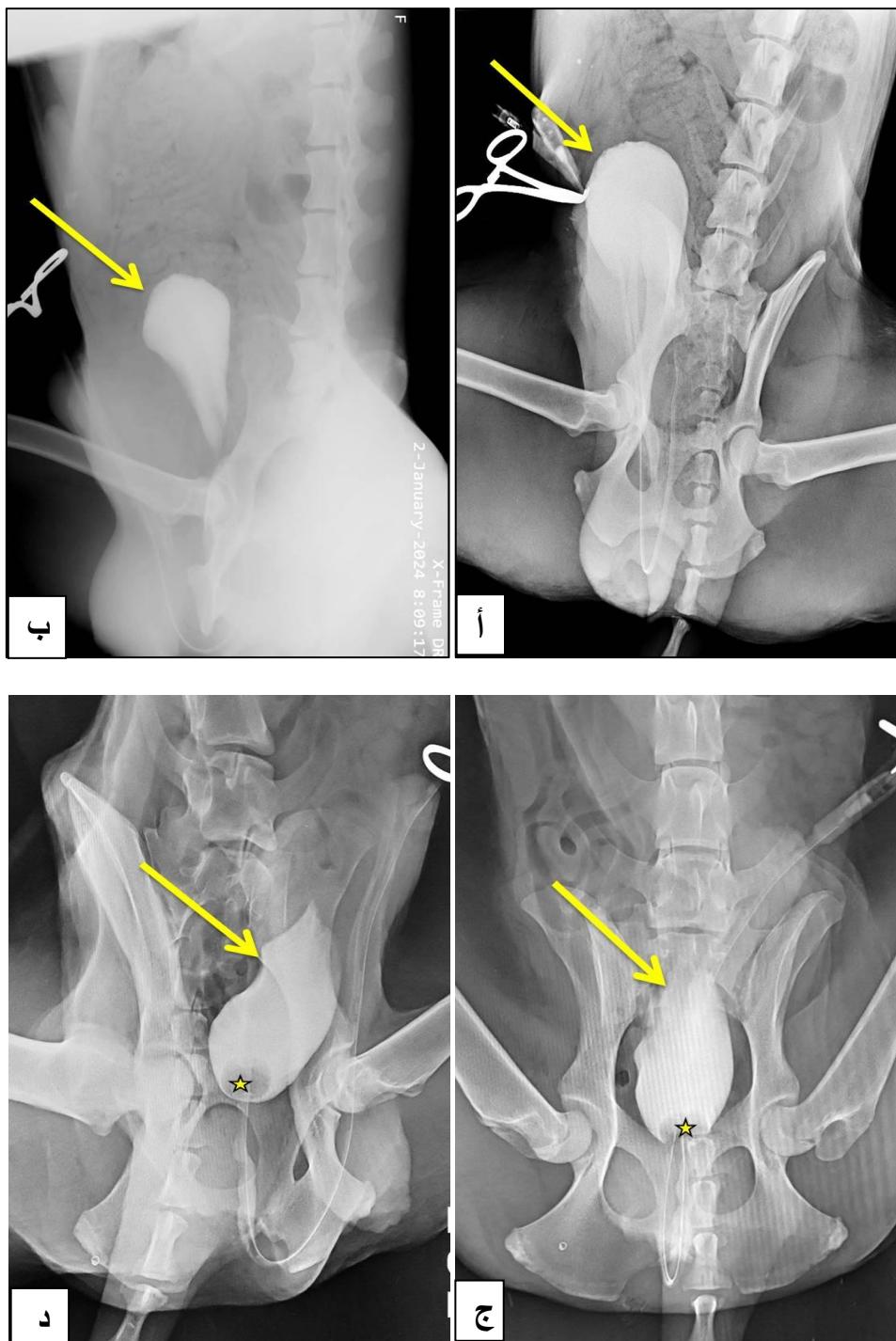
أظهر الفحص الشعاعية في اليوم الخامس والأربعون بعد اجراء عملية ترقيع المثانة في مجموعة غشاء التامور البكري الالخلوي انتفاخ المثانة بشكل كمثري ثابت مع عدم وجود انخفاض. اضافة الى انتظام القبة والمنطقة الامامية العلوية لجدار المثانة (موقع الترقيع) ولا يوجد عيوب في الترقيع ولا يوجد بروز في الجدار ولا يوجد تسرب البول مؤكدا (شكل 4-6 (أ، ب)). اما في حيوانات مجموعة غشاء التامور البكري المدعם بالليفين الغني بالصفائح الدموية فقد أظهرت الفحص الشعاعية ان الجزء البطني منتفخاً بشكل جيد مع شكل كمثري ثابت وله جدار منظم وأملس ولا توجد عيوب في الترقيع ولا يوجد انتفاخ في الجدار ولا يوجد تسرب بول مؤكدا (شكل 4-6 (ج، د)).



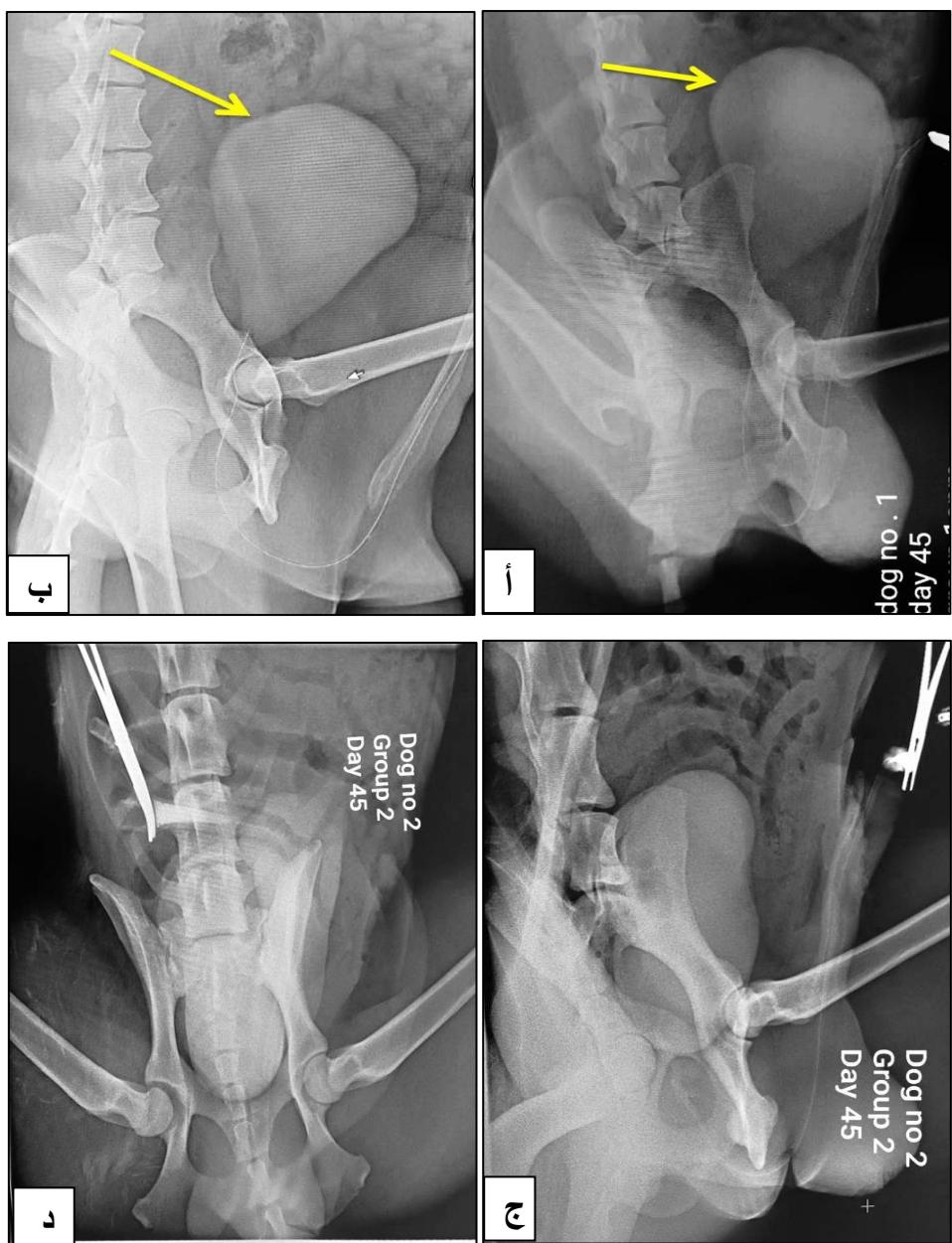
الشكل (3-4): صور شعاعية للمثانة البولية في اليوم السابع بعد عملية الترقيع (أ) "منظر بطني ظاهري و(ب): منظر جانبي للمجموعة الاولى يبين بأن الجزء البطني منتفخ ذو شكل متغير غير منتظم ولا يوجد فشل في اندماج الرقعة مع نسيج المثانة ولا يوجد انتفاخ جانبي في جدار المثانة ولا يوجد عيوب في الرقعة او انتفاخ بالجدار (رتج) او تسرب للبول. (ج): منظر بطني ظاهري و(د): منظر جانبي في حيوانات المجموعة الثانية يبين ان الجزء العلوي من المثانة شبه منتفخ مع انتظام في القمة (السهم الاصفر). وفي المنطقة الامامية العلوية لجدار المثانة (موقع الرقعة) لا يوجد اي عيوب تدل الى فشل التحام الرقعة مع نسيج المثانة. اضافة الى عدم وجود اي انتفاخ جانبي في جدار المثانة (رتج) او تسرب للبول تشير النجمة الى جزء من انتفاخ القسطرة.



الشكل (4-4): صور اشعاعية للمثانة البولية في اليوم السابع بعد عملية الترقيع (أ) منظر بطني ظاهري و(ب): منظر جانبي للمجموعة الاولى يوضح انتفاخ المثانة بشكل كمثري ثابت، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام في القبة (السهم الاصفر) والمنطقة العلوية لجدار المثانة (موقع الترقيع) ولا توجد عيوب في الحشو ولا يوجد انتفاخ في الجدار (رتج) ولا يوجد تسرب بول مؤكد. (ج): منظر بطني ظاهري و(د): منظر جانبي في حيوانات المجموعة الثانية يبين ان الجزء العلوي من المثانة شبه منتفخ مع شكل الكمثري المتغير، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام في القبة (السهم الاصفر) والمنطقة العلوية الامامية من المثانة لجدار المثانة (موقع الرقعة) وجزء من انتفاخ القسطرة (نجمة صفراء) ولا يوجد انتفاخ في الجدار (رتج) ولا يوجد تسرب بول مؤكد.



الشكل (4-5): صور شعاعية للمثانة البولية في اليوم الثلاثون بعد عملية الترقيع (أ) منظر بطني ظاهري و(ب): منظر جانبي للمجموعة الاولى. بينما (ج): منظر بطني ظاهري و(د): منظر جانبي في حيوانات المجموعة الثانية يوضح تشابه العلامات الشعاعية في كلا المجموعتين اذ تبين الصور انتفاخ المثانة بشكل كمثري ثابت، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام في القبة (السهم الاصفر) والمنطقة الامامية العلوية لجدار المثانة (موقع الرقبة) ولا توجد عيوب في الرقبة ولا يوجد تسرب بول مؤكد والنجمة الصفراء تبين جزء من منطقة انتفاخ القسطرة.

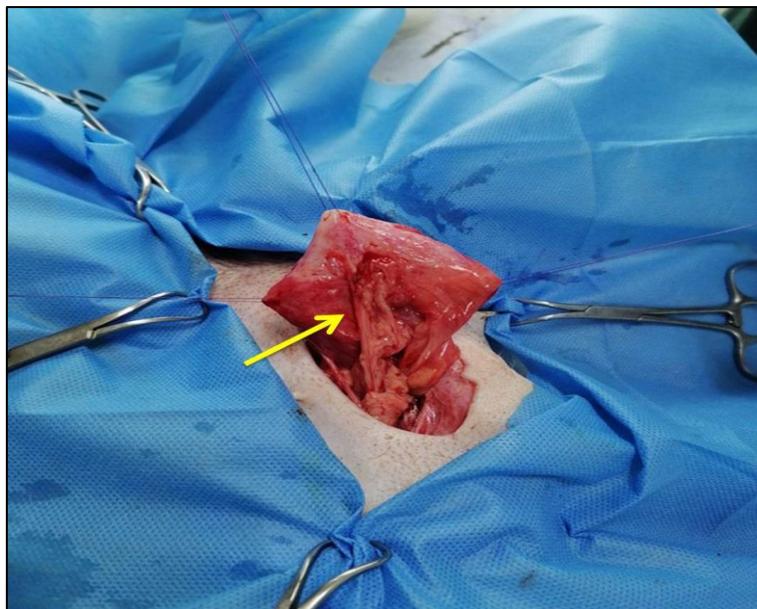


الشكل (4-6): صور شعاعية للمثانة البولية في اليوم الثالثون بعد عملية الترقيع (أ) منظر بطني ظاهري و(ب): منظر جانبي للمجموعة الاولى يوضح توسيع المثانة بشكل كمثري ثابت، ولكن هناك انخفاض مع عدم انتظام في القبة (السهم الاصفر) والمنطقة العلوية لجدار المثانة (موقع الرقعة) لا توجد عيوب في الرقعة ولا يوجد انتفاخ في الجدار الخارجي (رتخ) ولا يوجد تسرب بول مؤكد. (ج): منظر بطني ظاهري و(د): منظر جانبي في حيوانات المجموعة الثانية يبين ان الجزء البطني منتفخاً بشكل جيد مع شكل كمثري ثابت وله جدار منتظم وأملس ولا توجد عيوب في الترقيع ولا يوجد انتفاخ في الجدار ولا يوجد تسرب بول مؤكد.

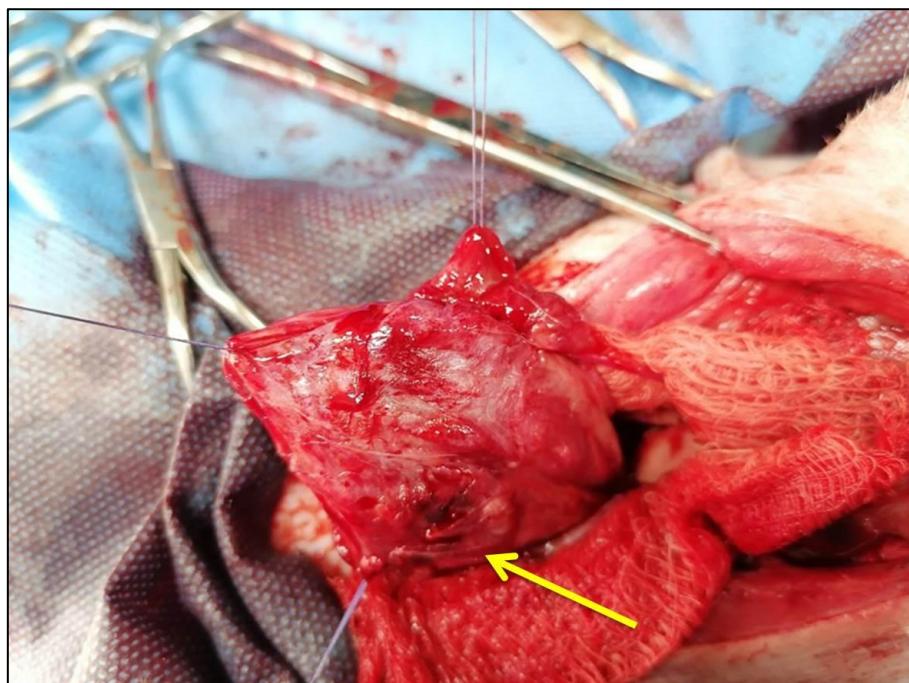
4-5: الفحص المرضي العياني

أظهر الفحص العياني في اليوم 15 بعد العملية الجراحية في مجموعة الأولى بان خط التماس بين رقعة التامور البقري اللاخلوي ونسيج المثانة ظهر بشكل نظيف ولا يوجد أي تفاعلات التهابية ولا علامات تixer ولا يوجد نسيج ندبي مع وجود احتقان على بعض أطراف الرقعة اضافةً إلى وجود التصاقات في 2 من الحيوانات وكانت شديدة (الشكل 4-7) أما في المجموعة الثانية فإن نتائج الفحص العياني تميزت ايضاً بعدم وجود تixer او خمج مع التحام جيد بين الرقعة ونسيج المثانة وكانت شدة الاحتقان في الرقعة اقل من المجموعة الأولى مع عدم وجود التصاقات بين نسيج المثانة والأعضاء المجاورة (الشكل 4-8).

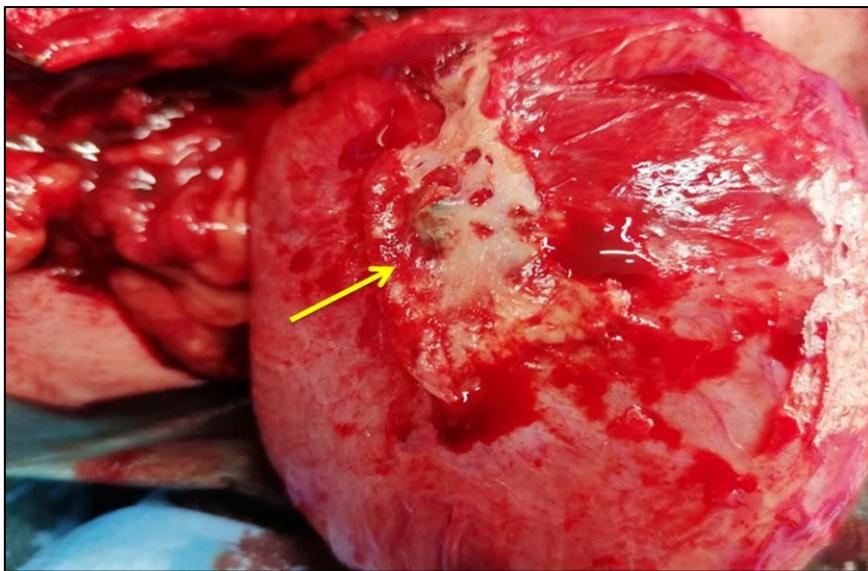
بيّنت الفحوصات العيانية المرضية في اليوم 30 بعد العملية الجراحية أن خط التماس بين النسيجين ظهر نظيفاً وواضحاً خاصة في حيوانات المجموعة الأولى مع عدم ملاحظة وجود أي تفاعلات التهابية أو تixer أو نسيج ندبي أو التصاقات فقط كان يوجد احتقان بسيط في بعض المناطق في المجموعة الأولى. بينما اظهر الفحص المرضي العياني في اليوم 45 بعد العملية الجراحية في كلا المجموعتين أن خط التماس بين النسيجين ظهر نظيفاً ولا يوجد أي تفاعلات التهابية أو تixer أو نسيج ندبي أو التصاقات وفي المجموعة الأولى لوحظ وجود احتقان بسيط بالرقعة في منطقة اتصالها مع نسيج المثانة مع وجود تميز واضح بين الرقعة ونسيج المثانة. في حين اظهر الفحص العياني المرضي في (الشكل 4-9) اما في حيوانات المجموعة الثانية لوحظ وجود تجانس نسيجي بين الرقعة ونسيج المثانة وعدم وضوح خط الالقاء بين الرقعة ونسيج المثانة حيث لوحظ صعوبة تمييز الرقعة عن النسيج للمثانة اضافةً إلى عدم وجود اي احتقان في مكان الترقيع بالمقارنة مع المجموعة الأولى (الشكل 4-10).



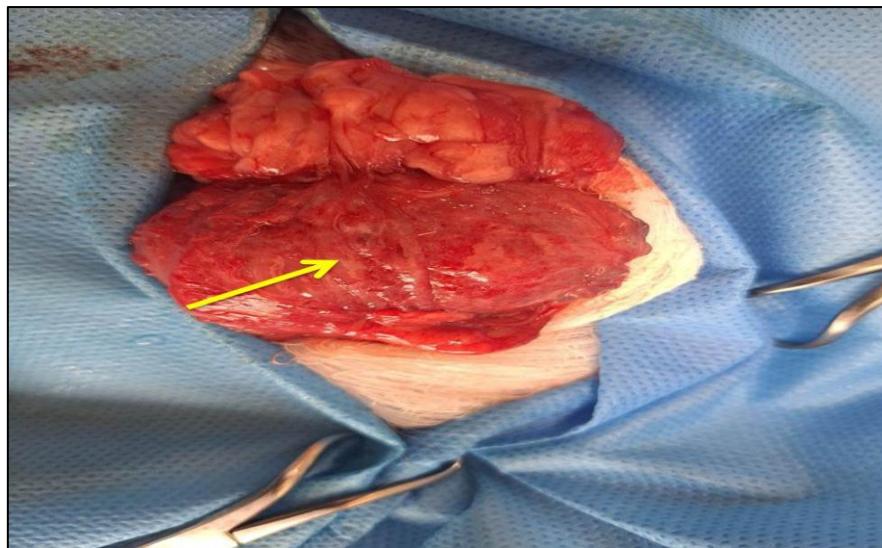
الشكل (7-4): يبين المظهر العياني المرضي لرقبة التامور المغروسة في نسيج المثانة بعد 15 يوماً من عملية الترقيع في حيوانات المجموعة الاولى (السهم الاصفر): يشير الى الالتصاقات والاحقان في مكان الترقيع (ب): المجموعة الثانية يبين عدم وجود التصاقات مع التحام جيد بين الرقعة ونسيج المثانة.



الشكل (8-4): يبين المظهر العياني المرضي لرقبة التامور المغروسة في نسيج المثانة بعد 15 يوماً من عملية الترقيع في حيوانات المجموعة الثانية (السهم الاصفر): يبين عدم وجود التصاقات مع التحام جيد بين الرقعة ونسيج المثانة.



الشكل (9-4): يبين المظهر العياني المرضي لرقع التامور المغروسة في نسيج المثانة بعد 45 يوماً من عملية الترقيع في حيوانات المجموعة الاولى (السهم الاصفر): يشير الى وجود احتقان بسيط برقعة التامور البكري الالاخلي في منطقة اتصالها مع نسيج المثانة مع وجود تميز واضح بين الرقعة ونسيج المثانة (ب): المجموعة الثانية يبين وجود تجانس نسيجي بين الرقعة ونسيج المثانة وعدم وضوح خط الالقاء بين الرقعة ونسيج المثانة حيث لوحظ صعوبة تمييز الرقعة عن النسيج للمثانة اضافة الى عدم وجود اي احتقان في مكان الترقيع.

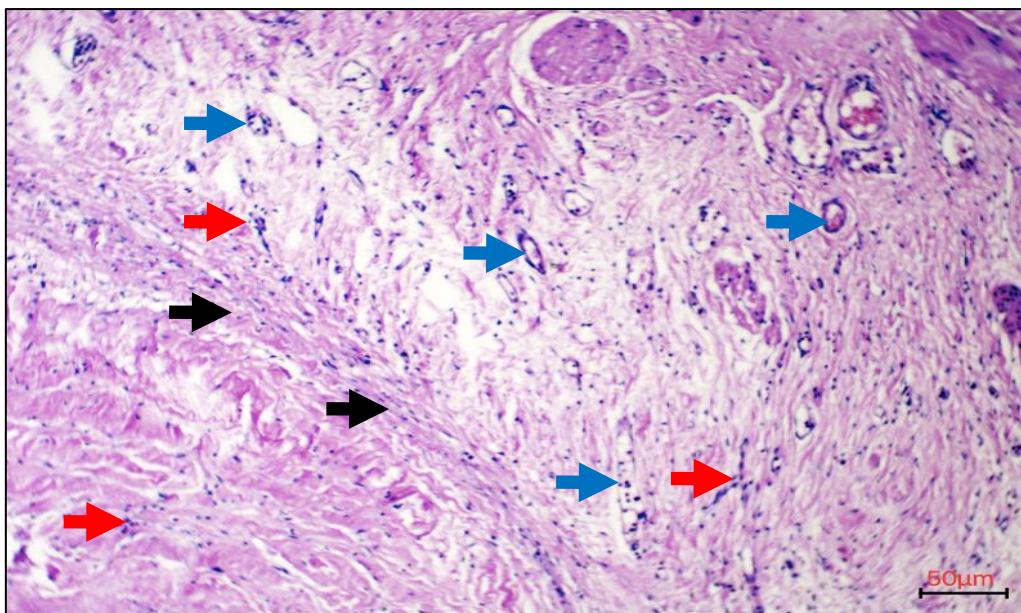


الشكل (10-4): يبين المظهر العياني المرضي لرقع التامور المغروسة في نسيج المثانة بعد 45 يوماً من عملية الترقيع في حيوانات المجموعة الثانية (السهم الاصفر) يبين وجود تجانس نسيجي بين الرقعة ونسيج المثانة وعدم وضوح خط الالقاء بين الرقعة ونسيج المثانة حيث لوحظ صعوبة تمييز الرقعة عن النسيج للمثانة اضافة الى عدم وجود اي احتقان في مكان الترقيع.

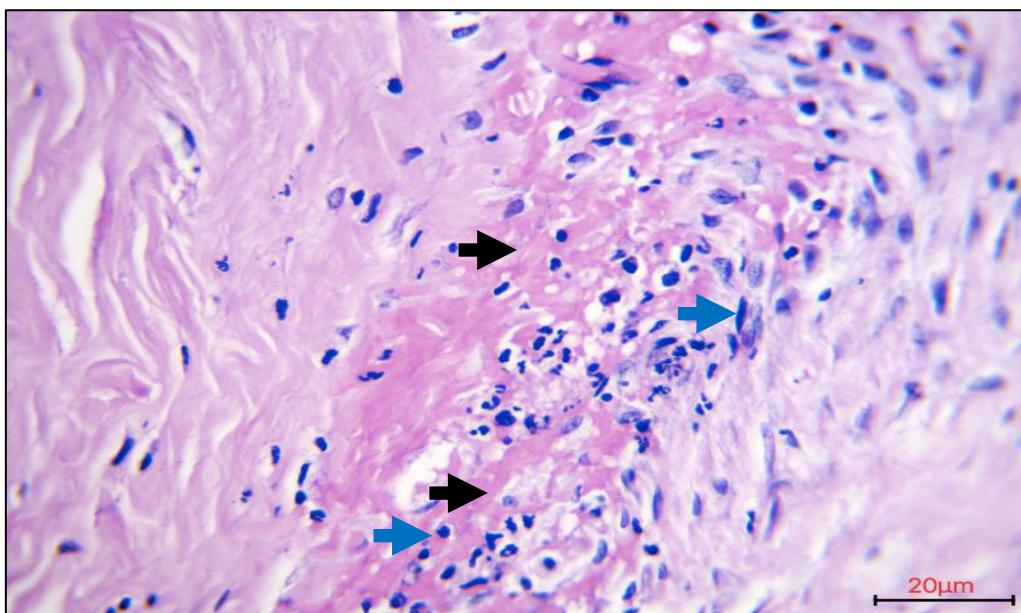
4-6: الفحص النسجي المرضي

أظهرت الفحص النسجي المرضي في اليوم الخامس عشر بعد عملية الترقيع في مجموعة غشاء التامور البكري الالخلوي ارتشاح الخلايا وحيدة النواة حول وداخل الرقعة وجود أنسجة ليفية بين المثانة البولية وغشاء التامور البكري الالخلوي، وكذلك تكوين الشعيرات الدموية غير الناضجة في موقع الاتصال (الشكل 4-11). أما في مجموعة رقعة التامور البكري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائح الدموية لوحظ وجود ارتشاح التهابي للخلايا وحيدة النواة مع تكاثر الخلايا الليفية بين النسيجيين المتصلين وحول مادة الخياطة مع تجانس خفيف وبسيط ومنتظم لشبكة الليفين على السطح بين النسيجيين المتلتحمين مع وجود وذمة و لعديد من الشعيرات الدموية الحديثة التكوين علاوة على وجود جلطة الليفين الكثيفة وترسب شبكة الليفين مع وجود نسيج ضام ليفي كثيف يتكون بشكل رئيسي من ألياف الكولاجين المحاط بالخلايا الليفية المتعددة مغزلية فضلاً عن وجود الخلايا الالتهابية (الشكل 4-12). وفي اليوم الثلاثون بعد عملية الترقيع في مجموعة غشاء التامور البكري الالخلوي لوحظ وجود بؤر من الخلايا الالتهابية (الخلايا البلعمية والخلايا العملاقة) بين نسيج الرقعة والمثانة البولية وحول الخيط الجراحي مع وجود انسجة ليفية وعدد من الخلايا الليفية (الشكل 4-13). أما في حيوانات المجموعة الثانية التي تم فيها ترقيع المثانة برقعة التامور البكري الالخلوي مع الليفين الغني بالصفائح الدموية لوحظ ارتشاح الخلايا الالتهابية في الأنسجة وحول الخيط الجراحي مع وجود ترسب لجلطة الليفين الشفاف وتكوين جسور من الأنسجة الليفية بين الرقعة ونسيج المثانة، فضلاً عن تكوين أو عية دموية حديثة التكوين داخل الأنسجة وجود خلايا ليفية متعددة الاشكال مغزلية وخلايا التهابية وترسب ألياف الكولاجين بين نسيج المثانة ورقعة التامور (الشكل 4-14).

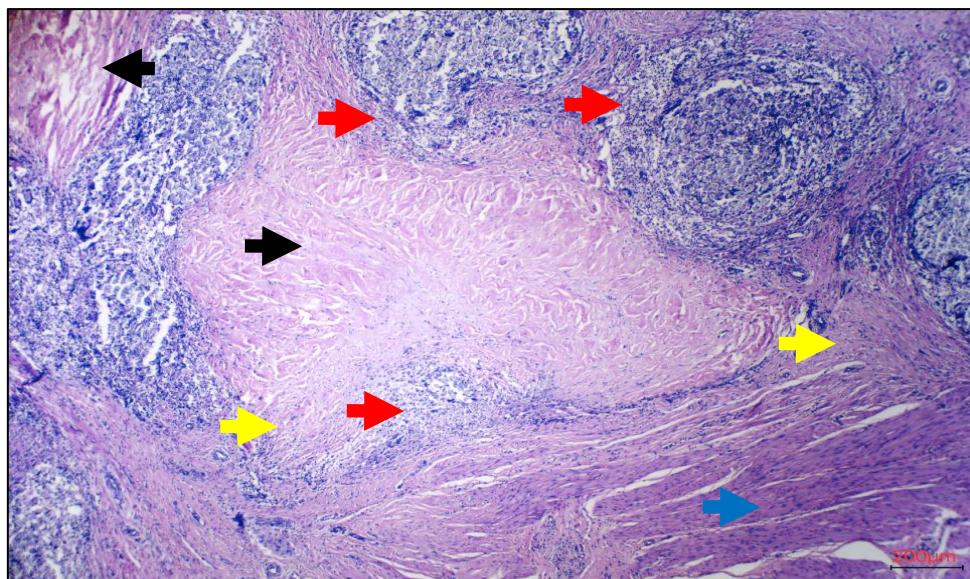
أظهرت الفحص النسجي المرضي في اليوم الخامس والأربعون بعد عملية الترقيع في مجموعة غشاء التامور البكري الالخلوي وجود عدد قليل من الخلايا الالتهابية ملتصقة بسطح الرقعة وحول مادة الخيط الجراحي مع وجود أو عية دموية صغيرة موجودة بين النسيجيين وتكوين النسيج الضام غير الناضج بين النسيجيين، اضافة الى وجود الخلايا العملاقة Giant cells حول بقايا الخيط الجراحي (الشكل 4-15). أما في مجموعة غشاء التامور البكري الالخلوي مع الفبرين الغني بالصفائح الدموية يظهر المقطع النسيج الضام الليفي المنظم جيدا وحزم الكولاجين بين أنسجة المثانة البولية ومنطقة التامور البكري الالخلوي مع تكوين او عية دموية جديدة وخلايا الليفية متعددة شكل المغزلية والخلايا الالتهابية (الشكل 4-16).



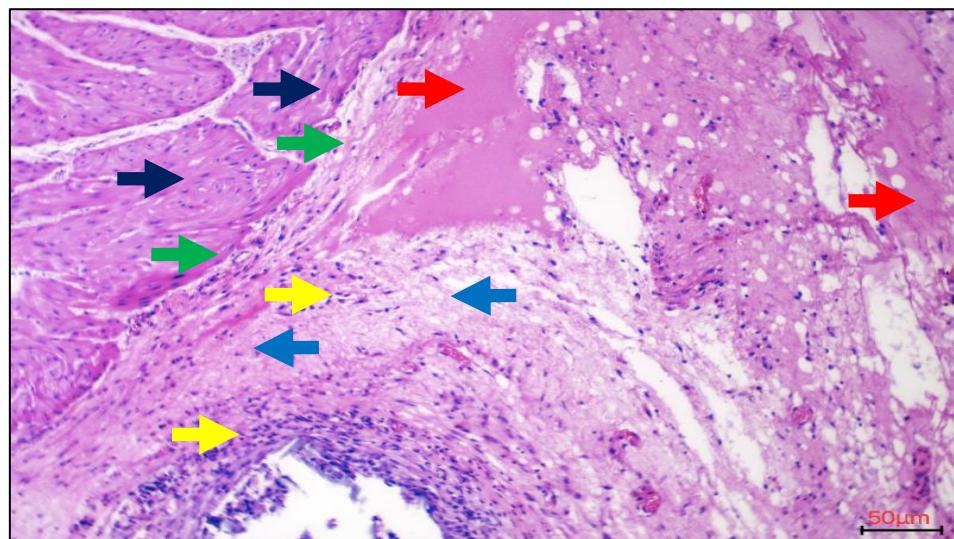
الشكل (11-4): مقطع نسجي لحيوانات المجموعة الاولى في اليوم 15 بعد ترقيع المثانة البولية في الكلب يبين ارتشاح الخلايا وحيدة النواة حول وداخل الرقعة (الاسهم الحمراء) ووجود نسيج ليفي بين المثانة البولية ورقة التامور (الاسهم السوداء)، وكذلك تكوين الشعيرات الدموية غير الناضجة (الاسهم الزرقاء)، الصبغة هيماتوكسيلين ايوسين. قوة التكبير 50 ميكرومتر.



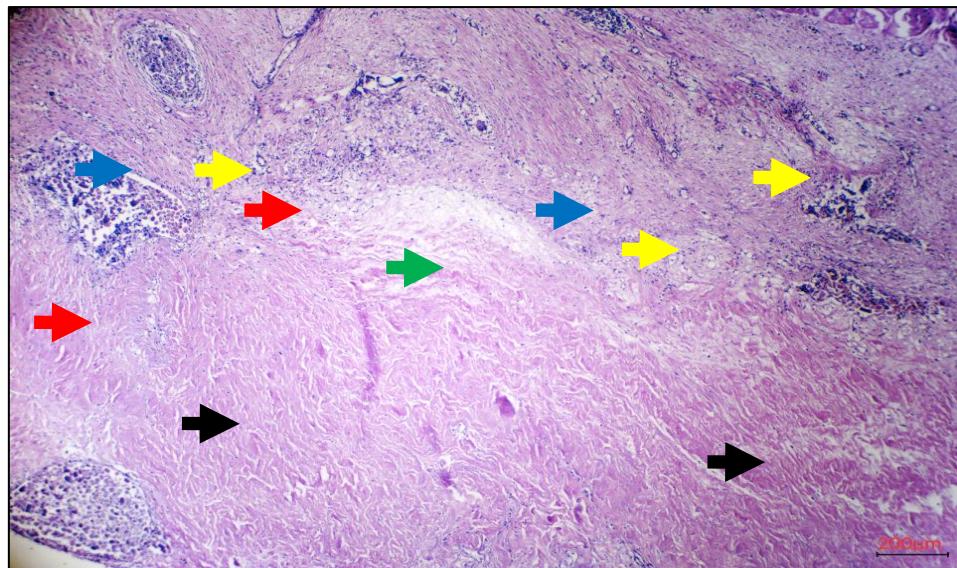
الشكل (12-4): مقطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الثانية في اليوم 15 بعد ترقيع المثانة البولية في الكلب يبين وجود نسيج ضام ليفي كثيف يتكون بشكل رئيسي من ألياف الكولاجين (الاسهم السوداء) وتحيط به الخلايا الليفية المتعددة ذات الشكل المغزلي مع الخلايا الالتهابية (الاسهم الزرقاء)، الصبغة هيماتوكسيلين ايوسين. قوة التكبير 20 ميكرومتر.



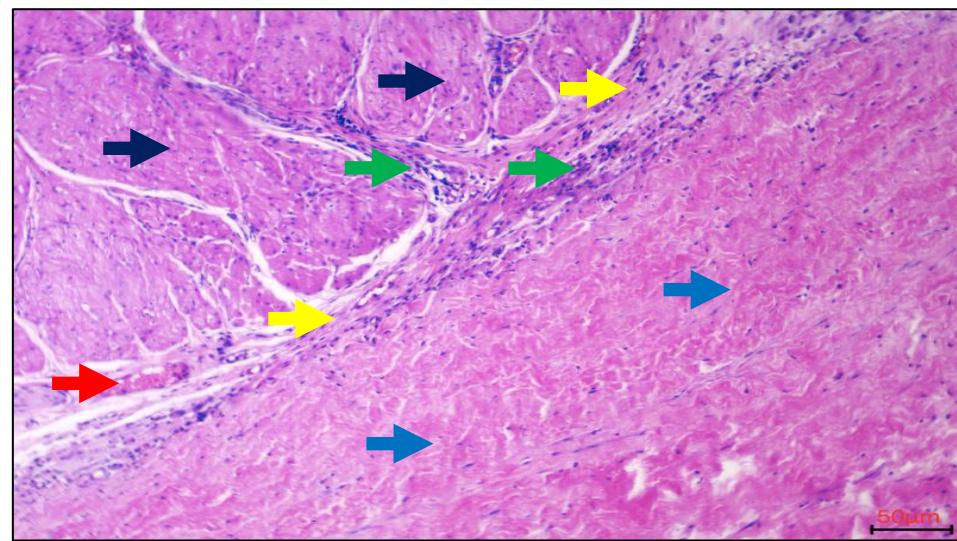
الشكل (13-4): مقطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الاولى في اليوم 30 بعد الترقيع يظهر الاتصال بين الطبقة العضلية للمثانة البولية (الاسهم الزرقاء) مع التامور البقري اللاخلوي (الاسهم السوداء) وبؤر الخلايا الالتهابية (الخلايا البلعمية والخلايا العملاقة) بين نسيجي التلامس وحول الخيط الجراحي (الاسهم الحمراء) مع وجود أنسجة ليفية وعدد من الخلايا الليفية (الاسهم الصفراء)، الصبغة هيماتوكسيلين ايосين. قوة التكبير 200 ميكرومتر.



الشكل (14-4): مقطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الثانية في اليوم 30 بعد عملية الترقيع يظهر الاتصال بين نسيج المثانة (الاسهم السوداء) والتامور البقري اللاخلوي (الاسهم الزرقاء) مع تسلل الخلايا الالتهابية في الأنسجة وحول الخيط الجراحي (الاسهم الصفراء) فضلاً عن ترسب شبكة الليفين (الاسهم الحمراء) وتشكيل جسور الأنسجة الليفية بين الرقعة ونسيج المثانة (الاسهم الخضراء). الصبغة هيماتوكسيلين ايосين. قوة التكبير 50 ميكرومتر.



الشكل (15-4): مقطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الاولى في اليوم 45 بعد عملية الترقيع للثانية البولية يوضح الاتصال بين الطبقة العضلية للثانية (الاسهم الزرقاء) مع رقعة التامور البكري الالخلوي (الاسهم السوداء) ووجود الخلايا الالتهابية (الاسهم الحمراء) والاواعية الدموية الصغيرة (الاسهم الصفراء) مع ملاحظة النسيج الضام غير الناضج بين النسيجين (الاسهم الخضراء). الصبغة هيماتوكслиن ايосين. قوة التكبير 200 ميكرومتر.



الشكل (16-4): مقطع نسجي مرضي في حيوانات المجموعة الثانية في اليوم 45 بعد عملية الترقيع يظهر النسيج الضام الليفي وحزم الكولاجين (الاسهم الصفراء) بين نسيج المثانة (الاسهم السوداء)، ورقعة التامور الالخلوي (الاسهم الزرقاء) مع اوعية دموية جديدة (الاسهم الحمراء) والخلايا الليفية المغزلية الشكل والخلايا الالتهابية (الاسهم الخضراء)، الصبغة هيماتوكслиن ايосين. قوة التكبير 50 ميكرومتر.

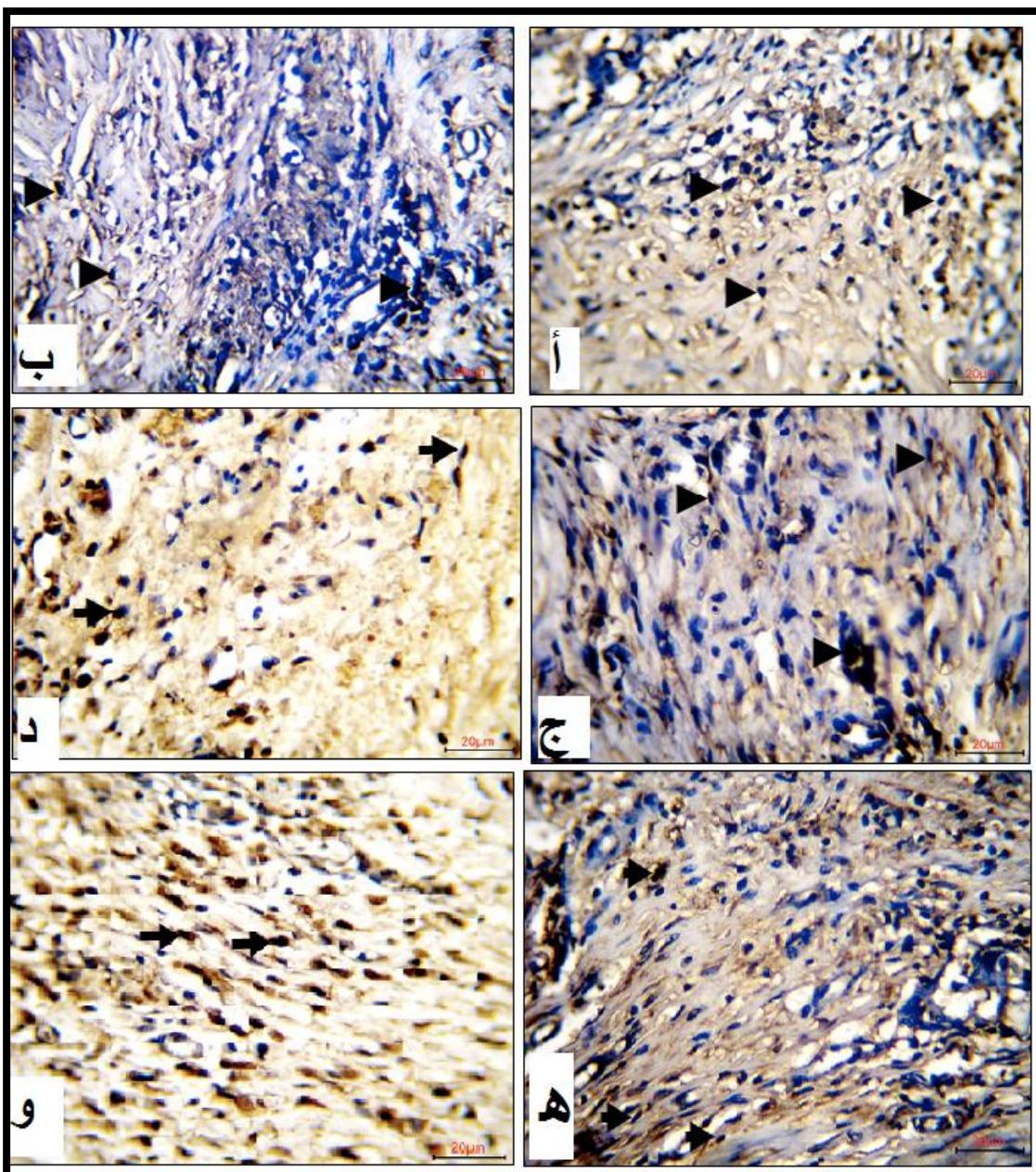
4-7: الفحص النسجي المناعي الكيميائي

1- فحص الفيمينتين

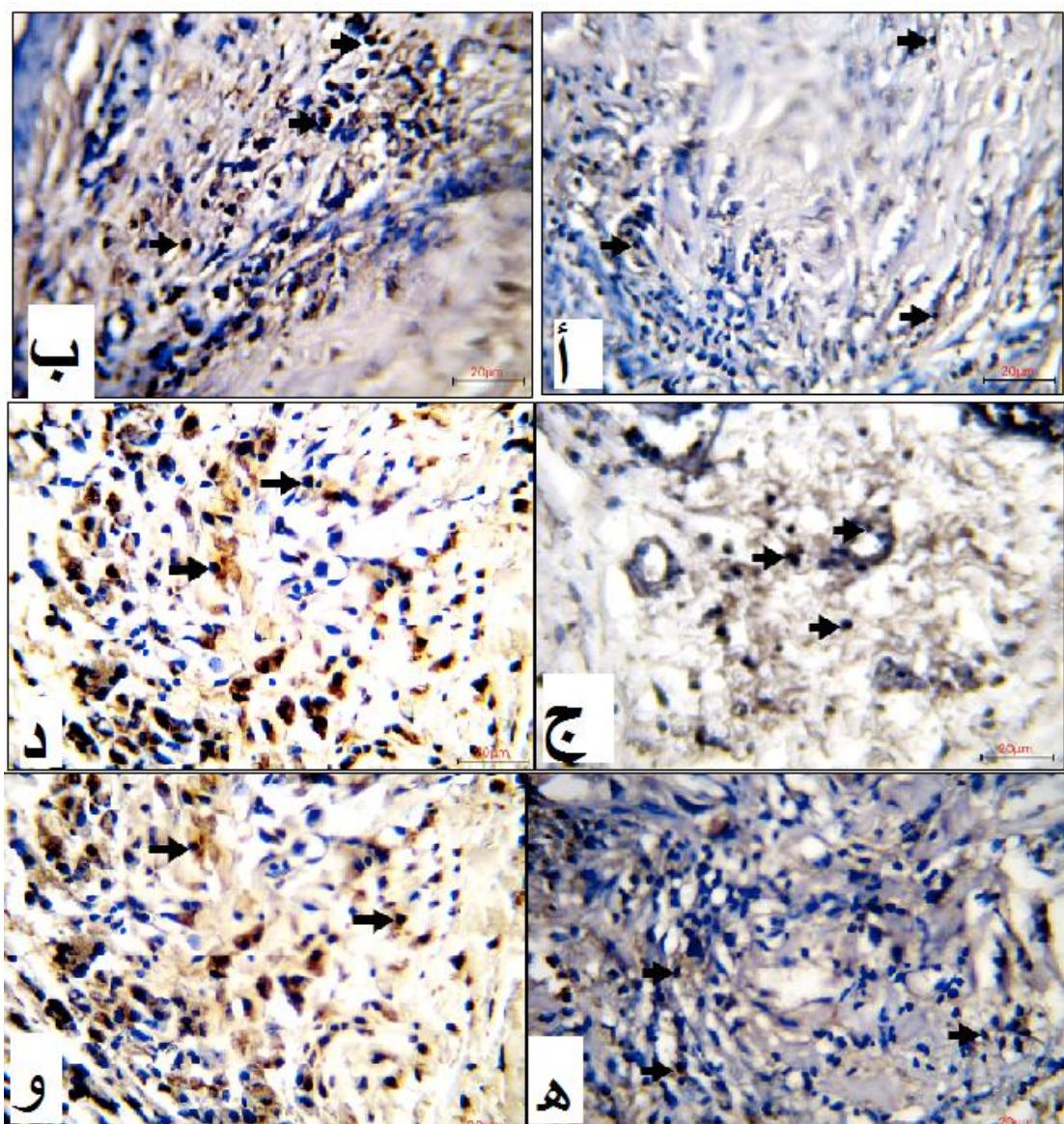
اظهر الفحص النسجي المناعي الكيميائي لبروتين الفيمينتين والذي يظهر كبقعة نووية بنية في الخلايا الليفية داخل الأنسجة أنه لا يوجد فرق بين المجموعتين في المدد 15 و 45 يوماً بعد عملية الترقيع ولكن هنالك فرق في مدة الـ 30 يوماً بعد عملية ترقيع، اذ اظهر الفحص تفاعل مناعي من الدرجة الثالثة (++) والدرجة الرابعة (+++) للمدد 15 و 45 يوماً بعد عملية الترقيع على التوالي في كلا المجموعتين أما في المدة 30 يوماً بعد عملية الترقيع فقد كانت نتائج فحص الفيمينتين موجبة من الدرجة الثالثة (++) في حيوانات المجموعة الاولى والدرجة الرابعة (+++) في حيوانات المجموعة الثانية (الشكل 17-4).

2- عامل نمو بطانة الاوعية الدموية VEGF

اظهر الفحص النسجي المناعي الكيميائي لبروتين عامل نمو بطانة الاوعية الدموية VEGF في مكان الترقيع بعد غرس الرقع النسجية لحيوانات المجموعة الاولى في اليوم الخامس عشر 45 تعبير إيجابي من الدرجة الثالثة (++) وفي اليوم 30 تعبير إيجابي من الدرجة الثانية (+)، أما في اليوم 45 بعد العملية فظهر تعبير إيجابي من الدرجة الرابعة (+++) (الشكل 18-4) بينما في المجموعة المعاملة برفع التامور البكري اللاخلوي والليفيني الغني بالصفائح الدموية فقد اظهر الفحص النسجي المناعي الكيميائي تعبيراً إيجابياً شديداً من الدرجة الرابعة في اليوم 15 و 30 و 45 يوماً بعد عملية الترقيع (الشكل 18-4)



الشكل (17-4): يوضح نتائج الفحص عن الفيبرينتين في مكان ترقيع المثانة حيث (أ) و(ب): تبين تعبير موجب من الدرجة الثالثة (++) في مدة الـ 15 يوم بعد العملية في المجموعة الاولى والثانية على التوالي. (ج): تبين تعبير موجب من الدرجة الرابعة (+++) في المجموعة الاولى و(د): تعبير موجب من الدرجة الثالثة (++) في المجموعة الثانية لمدة 30 يوم بعد عملية ترقيع المثانة. أما (ه) و(و): تبين تعبير موجب من الدرجة الرابعة (+++) في مدة الـ 45 يوم بعد العملية في المجموعة الاولى والثانية على التوالي. الصبغة هيماتوكسيلين. قوة التكبير 20 ميكرومتر.



الشكل (4-18): يوضح نتيجة الفحص النسجي المناعي الكيميائي لعامل نمو بطانة الاوعية الدموية في مكان ترقيع المثانية حيث (أ) و(ج) و(ه): تبين تعبير موجب من الدرجة الثالثة (++) والدرجة الثانية (+) والدرجة الرابعة (+++) في مدة 15 و 30 و 45 يوم بعد العملية على التوالي في المجموعة الاولى. بينما (ب) و(د) و(و): تبين تعبير موجب من الدرجة الرابعة (++) في حيوانات المجموعة الثانية للمدد 15 و 30 و 45 يوم بعد العملية. الصبغة هيماتوكسيلين. قوة التكبير 20 ميكرومتر.



الفصل الخامس المناقشة

Discussion

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

5-1: تحضير غشاء التامور البكري الالخوي

تم استعمال تجريبياً العديد من الرقق الحيوية والصناعية لإعادة بناء المثانة لدى الكلاب كان الهدف منها هو اما لعلاج الاذى الحاصل لنسيج المثانة والناتج عن مضاعفات العلاج كازالة الارواح او لعرض تكبير المثانة حيث تم استعمال رقق من نسيج التامور البكري المأخوذ من المجزرة والغير معامل باي مادة الغرض منها ازالة الخلايا، وهذا الغشاء هو مادة حيوية قابلة للتحلل البايولوجي فقد لوحظ عند غرسه بالنسيج ادى الى تضخم المثانة و تم امتصاصه تدريجياً بمرور الوقت حيث عمل على تجديد جدار المثانة ووصولها إلى السعة والوظيفة المطلوبة اضافة لاستعمال التامور البكري لترقيع المثانة لقد استعمل على نطاق واسع في مجالات الجراحة لتجدد العديد من الانسجة المتضررة ومنها جراحة القلب والأوعية الدموية وجراحة البطن، اذ استعمل في إصلاح صمام القلب Cardiac valve وإعادة بناء القوس الابهري Ortic arch وإعادة بناء القصبة الهوائية Tracheal reconstruction واصلاح الحجاب الحاجز Diaphragmatic repair حيث يتمتع التامور البكري بالتوافق الحيوي مع انسجة الجسم مع تميزه بعدم احداثه للتكتلitas او حدوث النزف ودعمه للنمو الخلوي وانخفاض معدلات حدوث التضيق في الانسجة الم gioفة كالأوعية الدموية اضافة الى انخفاض معدل احداثه للخمج مقارنة برقع نسجية اخرى. ايضاً يتميز التامور بكونه نسيج ذو مثانة وقوه وسهولة الحصول عليه بالأحجام المناسبة (Montinaro *et al.*, 2007; Al-Hyani and Al-Hasan, 2019; Hildebrandt *et al.*, 2023) من جهة اخرى في الدراسة الحالية تم استعمال رقق التامور البكري الالخوي سواء لوحده او مع الليفين الغني بالصفائح الدموية لترقيع المثانة البولية. ان غشاء التامور البكري الالخوي قد تم استعماله مسبقاً لعلاج وتجديد العديد من انسجة الجسم مثل الجروح الجلدية، وقد وجد ان تثبيت هذه الانسجة البايولوجية يجب ان يتم قبل زرعها في الانسجة المتضررة لغرض الحد من المستضدات والتفاعل المناعي ومنع التدهور الانزيمي لهذه المواد، فضلاً عن زيادة قوة ومتانة هذه الانسجة. لقد تم استخدام مواد مختلفة في تثبيت الانسجة البايولوجية ومنها رقق التامور البكري وهذه المواد اغلبيتها هي مواد كيميائية مصنعة مثل الفورمالديهيد Formaldehyde

والجلوتارالدهيد Glutaraldehyde starch ونشا الديالديهيد Dialdehyde starch ومركب الايبوكسي Epoxy compound. ومع ذلك، فإن هذه المواد الكيميائية كلها شديدة السمية للخلايا مما قد يضعف التوافق الحيوي للأنسجة البيولوجية (Chang *et al.*, 2002). وفي دراستنا الحالية تم استعمال التامور البقري وتحويله إلى تامور بقري لاخلوى اعتماداً على الطريقة المستعملة من قبل (AL-Bayati, and Hameed, 2018) والتي اثبتت نجاحها وعدم احداثها للخمى او التفاعلات الالتهابية والمناعية الشديدة وكذلك الخمى في ترقيع الجروح الجلدية. لقد اشار (Pokrywczynska *et al.*, 2022) بأن المواد الحيوية المثلالية التي تستعمل لترقيع المثانة يجب ان تمتاز بقدرتها على اعادة بناء المثانة البولية وذات مرونة ولها القدرة على التوسع تحت ضغط منخفض وعدم نفاذيتها للبول وقابليتها على التحلل البيولوجي ولأتحدث اي تفاعل مناعي، فضلاً عن قدرتها على دعم الالئنام من خلال زيادة وتسريع هجرة الخلايا الضرورية للالئنام وتمايزها وتكاثرها.

ان عملية ازالة الخلايا من نسيج التامور البقري بمعاملته بالمواد الكيميائية والطرائق الفيزيائية تهدف الى تقليل الاستجابة المناعية التي يحدثها نسيج الجسم المتأقى ضد الغرس النسجية الغربية. اضافة لذلك ان المعاملة الكيميائية لنسيج التامور تعمل على زيادة خشونة نسيج التامور مما يؤدي الى تعديل الاستجابة البيولوجية ضده عند غرسه بالنسيج اضافة الى العمل على زيادة مرونته وزيادة تشابك الياف الكولاجين فيه مما يجعله أكثر قوة ومتانة، فضلاً عن تقليل التفاعل الالتهابي ضده (Gilbert *et al.*, 2007; Mondalek *et al.*, 2008; dos Santos *et al.*, 2017; AL-Bayati and Hameed, 2018).

5-2: العملية الجراحية

في الدراسة الحالية تم احداث اذى المثانة في السطح الظهرى لتجنب تسرب البول والالتصاق واحتمال تكون الحصوات، ان هذه الطريقة قد تم استعمالها من قبل (Akomas and Kene, 2005; Hellebrekers and Kooistra, 2011) والذين اشاروا الى ان تقنية فتح المثانة من الجهة الظهرية تمتاز بقلة حدوث الالتهابات وتكوين الجلطات الدموية والالتصاقات وتكوين الحصوات وحدوث تسرب البول والتهاب البريتون مقارنة بطريقة فتح المثانة من الجهة البطنية وهذه النتيجة تتوافق مع نتائج دراستنا الحالية. من جهة اخرى قد استعمل في هذه الدراسة الخيوط الممنصنة الصناعية وباستعمال تقنيتين من الخياطة. وهذا يتطابق مع ما تم الاشارة اليه من قبل (Xiao *et al.*, 2017; Ekder and Mahdi, 2021; Hildebrandt *et al.*, 2023)

اللذين اشاروا الى ان جرح المثانة البولية يتم خياطته اما بصف واحد من الخياطة المستمرة او صففين وباستعمال خيوط ممتصة.

3-5: الفحص السريري

اظهر الفحص السريري للحيوانات بعد عملية الترقيع ان الحيوانات كانت بصحة جيدة خلال مدة الدراسة، وقد حدث بيلة دموية لدى بعض الحيوانات في كلتا المجموعتين بعد مرور 10-12 ساعة وقد يعود سبب ذلك الى الكلم وربما حدث هذا بسبب الكلم الناتج عن عملية احداث جرح استئصالي في جدار المثانة لغرض الترقيع، وتتفق هذه النتيجة مع (Alkattan, 2014) الذي اشار الى عدم ملاحظة اي تغيرات غير طبيعية في نشاط الحيوانات او سلوكها باستثناء الالم البسيط والبيلة الدموية والتي استمرت لمدة يومين. ان هذه تتطابق هذه النتيجة ايضاً مع (Al-Asadi and Khwa, 2014) اللذان اجريا دراسة مقارنة لأنواع من الخياطة ذات المقلوبة الحافات للداخل Inverting Apposition والم مقابلة Inverting Apposition لاغلاق جرح المثانة في الكلاب وقد لاحظا حدوث بيلة دموية في ثلاثة حيوانات والتي اختفت في اليوم الثاني في جميع الحيوانات دون اي علاج. أيضاً اشار (Ahmed *et al.*, 2022) بان البيلة الدموية ظهرت في الكلاب التي خضعت لعملية إصلاح المثانة خلال الأسبوع الأول. ايضاً هذه النتيجة تتفق مع (Alhamdany and Alkattan, 2019) اللذين سجلوا حدوث بيلة دموية في الحيوانات التي تم احداث فيها حرج في المثانة وتقويتها بسديلة الترب Omental pedicle وشاروا الى أن هذه العلامات اختفت خلال يومين بعد الجراحة.

اظهرت الحيوانات الالم وتقوس الظهر أثناء التبول خلال اليومين الأولين بعد عملية الترقيع، وبعد هذه المدة عادت الحيوانات الى التبول الطبيعي من دون حدوث الالم وتقوس الظهر او سلس للبول أثناء التبول، ويعزى سبب ذلك الى الالم المترتب نتائجاً من العملية الجراحية، اضافة الى الجهد المسلط على عضلات البطن، وهذه النتيجة مشابهة لما توصل اليه (Al-Asadi and Khwa, 2014) اللذين اشاروا الى ان العلامات والمضاعفات المتمثلة بالالم وتقوس الظهر لوحظت بعد فترة العملية الجراحية واستمرت لفترات وذلك عند استعمالهم لتقنيات مختلفة لخياطة المثانة البولية. ان الالم الناتج بعد اجراء العملية يعزى الى الاذى الحاصل بسبب احداث جرح في المثانة وترقيعه وهذا يتطابق مع ما اشار اليه (Kuo, 2014; Hu *et al.*, 2024) بأن تكون اعراض الالم تحدث نتيجة للاضطرابات في المثانة البولية، والتي تنشط الجهاز العصبي الحسي الوارد وتحفيز الجهاز العصبي المركزي، والذي قد يعزى سببه الى العديد من الآليات الفيزيولوجية المرضية بما في ذلك الخلل الوظيفي للخلايا الظهارية للمثانة، وتنشيط الخلايا البدنية

Mast cells، والالتهاب العصبي، والمناعة الذاتية والخمف الغير ظاهر اعراضه. ان سلس البول في هذه الدراسة قد لوحظ في حيوانات المجموعتين واختفى خلال الـ 48 ساعة الاولى بعد العملية الجراحية تلقائياً دون علاج وقد يعزى سبب سلس البول الى تهيج المثانة او التهاب المثانة. ويتطابق هذا مع ما اشار اليه (Sabeel *et al.*, 2024) اللذين اشاروا الى حدوث فقدان الشهية والإجهاد أثناء التبول والبيلة الدموية وسلس البول بعد عملية اصلاح عيب المثانة البولية ببديلة الترب والليفين الغني بالصفائح الدموية وقد اوعزوا سبب ذلك الى اذى انسجة المثانة نتيجة لاحادث الاذى فيها وكذلك الى عملية ادخال القسطرة البولية الى داخل المثانة، حيث تسبب ذلك بإحداث قلقاً وعدم راحة للحيوانات نتيجة للالم وتلف الأنسجة في الغشاء المخاطي للمسالك البولية السفلية. وهذا يتواافق ايضاً مع (Chen *et al.*, 2021). تم ترك القسطرة البولية داخل القناة البولية في هذه الدراسة الحالية لمدة 24 ساعة بعد العملية الجراحية، وهذا يتفق مع ما اشار اليه Bakhtiari *et al.*, 2000) اللذين ذكروا ان ترك القسطرة بعد العملية هو لتقليل الضغط على خط الخياطة ومنع تراكم البول.

5-4: الفحوصات الكيميائية الحيوية

أظهرت نتيجة التقييم المصلي لليوريا والكرياتينين زيادة معنوية في تركيز اليوريا والكرياتينين creatinine في المصل في اليوم 3 و 7 مقارنة باليوم قبل اجراء العملية واليوم 15 بعد اجراء العملية في كلا المجموعتين، ان سبب ذلك قد يعزى الى التهاب المثانة نتيجة لعملية احداث جرح المثانة الاستئصالي، وهذه النتيجة تتوافق مع ما اشار اليه (Liu *et al.*, 2016). بان اليوريا تزداد نسبتها في حالات اضطرابات المثانة ومنها التهاب المثانة. وهذا يتطابق ايضاً مع ما اشار اليه (Parsons Hurst, 1990) بان الكرياتينين ترتفع نسبته بالأشخاص المصابين بالتهاب المثانة الخلالي مقارنة بالأشخاص الغير مصابين. لوحظ ايضاً من خلال النتائج ان ارتفاع نسبة اليوريا والكرياتينين قد قل في فترة الـ 15 يوم بعد العملية في كلا المجموعتين مقارنة باليوم قبل العملية وقد يعود سبب ذلك الى انخفاض الالتهاب في المثانة في (Parsons *et al.*, 2016). حيث اشار (Ahmed *et al.*, 2022) ان نفس النتيجة تم الحصول عليها من دراسات سابقة Tunica vaginalis allograft والمصفوفة خارج الخلوية من الغلالة المهبلي للأغنام Sheep tunica vaginalis decellularized extracellular matrix Sheep tunica vaginalis xenograft حيث لاحظوا زيادة في مستوى اليوريا في الدم والكرياتينين خاصةً في مجموعة الحيوانات المعالجة برقة الغلالة المهبلي للأغنام. ان ارتفاع نسبة اليوريا

والكرياتينين في المجموعة الاولى مقارنة بالمجموعة الثانية قد يعزى سببه الى استعمال الليفين الغني بالصفائح الدموية الذي عمل على تقليل الاستجابة المناعية وتقليل الالتهاب مما انعكس ذلك على انخفاض نسبة البيريا والكرياتينين، وهذا يتطابق مع ما اشار اليه (Tanan Karaca et al., 2023) بان الـ PRF يعتبر من المواد المضادة للالتهابات ومقلل للاستجابة المناعية اذ يعمل على تقليل الحركيات المسببة للالتهاب مثل الانترلوكينات- 6 و 1-الفا (IL-6 and IL-1) اضافة الى عامل نخر الورم. اظهرت نتائج الدراسة ارتفاع مستوى تركيز بروتين متفاعل سبي في لمجموعة الاولى والثانية وان هذا الارتفاع قد يعود سببه الى الالتهاب الناتج عن احداث الاذى وكذلك عملية الترقيع بال TAMOOR البكري الالخلوي، وهذا يتوافق مع ما اشار اليه (Kupelian et al., 2009; Chuang et al., 2010) بان ارتفاع بروتين متفاعل سبي له علاقة مع حدوث اصابات المجرى البولي السفلي حيث ان نسبته تزداد في حالة الانسدادات والالتهابات، وكذلك يترافق مع ما اشار اليه (Messias et al., 2020) بان ارتفاع بروتين متفاعل سبي يترافق مع الالتهابات، ولهذا يمكن ان يعزى سبب ارتفاعه في المجموعتين الى الالتهاب الحاصل في المثانة وكذلك مجرى البول نتيجة لا دخال القسطرة. لقد لوحظ ان تركيز بروتين متفاعل سبي كان اعلى في المجموعة الاولى مقارنة بالمجموعة الثانية، وقد يعزى ذلك الى شدة الالتهاب في المجموعة الاولى مقارنة بالمجموعة الثانية والذي يعود سببه الى الدور الايجابي للـ PRF المستعمل في المجموعة الثانية والذي يعتبر مادة مضادة للالتهابات وهذا ما تم ملاحظته من قبل اخرين (Kupelian et al., 2009; Chuang et al., 2010). ان هذه النتيجة تتطابق مع النتيجة التي اشار اليها (Ahmed et al., 2022)، اذ اشاروا الى ان مستوى بروتين متفاعل سبي ازدادت نسبته في المجموعات التجريبية التي تم فيها ترقيع المثانة بأنواع مختلفة من الرقع الحيوية وقد اوعزوا سبب ذلك الى الالتهاب الناتج عن الكلم اثناء العملية الجراحية، وشاروا الى ان مستوى هذا البروتين رجع الى مستوى الطبيعي بعد انخفاض حدة الالتهاب. وقد ذكر (Alsaif et al., 2021) ان بروتين متفاعل سبي في المرحلة الحادة عمره قصير إذ يتم تصنيعه بواسطة الكبد نتائجة لاستجابة غير محددة لمجموعة متنوعة من التي يتم افرازها نتائجة للحركات الخلوية المسببة للالتهاب مثل انترلوكين-6 (interleukin-6) الذي يرتفع مستوى استجابة الكلم والعدوى ونقص التجهيز الدموي والأورام الخبيثة، ومع ذلك فإن التغير في مستوى بروتين متفاعل سبي بعد الجراحة مفيد بشكل خاص للكشف عن المضاعفات الخطيرة بعد الجراحة (Abet et al., 2020).

5-5: الفحص الشعاعي

استعمل في الدراسة الحالية تقنية تصوير المثانة بالتباین وكانت ذات فاعلية في تشخيص المثانة شعاعيا بعد عملية الترقيع بال TAM (ال TAM البكري الالخلوي)، وهذا يتوافق مع (Gallatti and Iwasaki, 2004) اللذين استعملوا هذه التقنية لتشخيص اصابات المثانة وتم من خلالها تم تشخيص العشاء المخاطي للمثانة وانزياح المثانة داخل التجويف. في هذه الدراسة كان إغلاق المثانة بعد حقن مادة التباین أمناً، لذ أظهرت الصور الشعاعية من دون وجود اي علامة على تسرب هذه المادة. لقد اظهرت النتائج الشعاعية حدوث تقدم في عملية الالئام واندماج الرق ع النسجية مع نسيج المثانة الاصلي خلال مدد الدراسة حيث اظهرت النتائج تغيير ايجابي متقدم مع تقدم فترة المتابعة للحيوانات، اذ لوحظ ان شكل المثانة في مدة الـ 45 يوما كان افضل من الفترات السابقة في كلا المجموعتين، ويعزى سبب ذلك الى ان رقعة التامور سواء لوحدها او مع الليفين الغني بالصفائح الدموية قد عملت على اصلاح اذى نسيج المثانة وان هذه الرق قد حصل لها ترابط واندماج مع نسيج المثانة، وهذه النتيجة تتطابق مع (Sabeel and Al-Hyani, 2024) اللذين استعملوا سديلة الترب في علاج عيب المثانة البولية في الكلاب. لقد لوحظ شعاعياً ان الالئام كان افضل في المجموعة الثانية التي تم فيها ترقيع المثانة بال TAM البكري الالخلوي والليفين الغني بالصفائح الدموية مقارنة بالمجموعة الاولى التي لم يتم فيها استعمال جلطة الليفين وخاصة في فترة الـ 45 يوم بعد العملية وذلك من خلال ظهور المثانة بشكل كمثري مشابه للشكل الطبيعي، ان سبب ذلك قد يعزى الى استعمال الليفين الغني بالصفائح الدموية الذي له تأثير محفز ومسرع للالئام الانسجة اضافة الى تأثيره الايجابي في تقليل الرق ع النسجية من قبل نسيج الجسم المتألق وزيادة اندماجها وارتباطها به. ان هذه النتيجة تم الحصول عليها من قبل اخرين، حيث اشار (Allawi and Saeed, 2023) الى ان الـ PRF يعتبر من السقالات البايولوجية الليفينة التي لها دور في التصاق وثبت الرقعة في مكانها مما يعمل على زيادة تجهيز الرقعة بالأوعية الدموية المختلفة من نسيج الجسم المتألق مما ينتج عن ذلك زيادة بقاء الرقعة وتحسين التئامها واندماجها مع النسيج الاصلي. وهذا يتطابق مع (Sabeel and Al-Hyani, 2024) الذي اشار الى ان اضافة الليفين الغني بالصفائح الدموية الى الرق ع المستعملة لترقيع المثانة يعمل على تسريع اندماجها مع نسيج المثانة الاصلي، وكذلك يتطابق مع ما اشار اليه (Raffea and Allawi, 2022; Abdulmawjood and Thanoon, 2022) لقد تم استعمال الليفين الغني بالصفائح الدموية بشكل متكرر كمشتق بيوولوجي في العديد من المجالات العلاجية وخاصة جراحة الوجه والفكين Maxillofacial والأمعاء وجراحة العيون والجراحة التجميلية (Raffea and Allawi, Dermatology) بالإضافة الى علاج العديد من الأمراض الجلدية

2022; Allawi and Saeed, 2022; Shiezadeh *et al.*, 2023; Karisma *et al.*, 2023; Atiyah *et al.*, 2024) حيث ان الـ PRF يعمل كمادة النهاية ويحتوي على العديد من عوامل النمو والحركيات الخلوية وعوامل بابولوجية اخرى لها دور محسن ومسرع لللتئام الانسجة وتجددها ، فضلاً عن تحسين وتسريع عملية تحلل الرقع النسجية داخل الانسجة المغروسة فيها مما يسرع من اندماجها مع النسيج الاصلي وبالتالي المساهمة في تجده من خلال تكوين الاوعية الدموية الحديثة والكولاجين والعناصر الضرورية لللتئام. أن هذه النتيجة تتفق مع (Sabeeel and Al-Hyani, 2024).

5-6: الفحص المرضي العياني

أظهر الفحص العياني لعملية ترقيع المثانة برقة التامور البكري الالاخوي في المجموعة الاولى خلال مدة الـ 15 يوم حدوث اندماج للرقعة منه النسيج وحدوث التصاقات بين جدار المثانة في مكان الترقيع والانسجة المجاورة بينما في المجموعة الثانية لوحظ عدم وجود التصاقات واندماج للرقعة مع نسيج المثانة بشكل أفضل من المجموعة الاولى. ان من اهم مضاعفات فتح البطن والعمليات داخل التجويف البطني ومنها عمليات المثانة هي التسرب والالتصاقات، وفي هذه الدراسة لم يشاهد حدوث للتسرب في جدار المثانة في كلا المجموعتين اما الالتصاقات فقد تم مشاهتها في حيوانات المجموعة الاولى وقد يعود سبب ذلك الى الالتهاب في مكان الجرح، وهذا يتطابق مع (Tabibian *et al.*, 2017) بان الالتصاقات داخل البطن نتيجة شائعة لجراحة البطن والحوض والعلاج الإشعاعي والعمليات الالهابية. وان الالتصاقات قد تؤدي الى مجموعة متنوعة من الاعراض المزمنة مثل انتفاخ البطن والآلم والغثيان، وقد اشار (Ntourakis *et al.*, 2015) بان الالتصاقات بعد عمليات جراحة فتح البطن بالطريقة التقليدية موجودة في 93% من المرضى وبمعدل أقل في العمليات التي يتم فيها الدخول الى داخل التجويف البطني عن طريق المنظار. المرضى الذين يعانون من التصاقات داخل البطن في معظم الحالات لا تظهر عليهم اعراض. على الرغم من ذلك، تعتبر الالتصاقات سبباً شائعاً لانسداد الأمعاء الدقيقة والعمق والآلام البطن المزمنة. منذ ذلك الحين تم بذل الكثير من الجهد لتطوير مواد فعالة لمنع الالتصاق. الهدف الرئيسي من استعمال المواد المانعة للالتصاق هو القضاء على الالتصاق أو تقليل حدوثه مع الحفاظ على عملية الشفاء الطبيعية ومنع التلوث. وفي هذه الدراسة في حيوانات المجموعة الثانية لوحظ عدم حدوث التصاقات بين مكان الترقيع والانسجة المحيطة به وقد يعود سبب ذلك الى استعمال الـ PRF الذي عمل كمادة مانعة للالتصاق وهذا مأتم مشاهدته من قبل اخرين. حيث اشار (Raffea and Allawi, 2022) الى ان استعمال الـ PRF مع رق البريتون لدعم عملية

اللتئام الامعاء قد عمل على تقليل الالتصاقات. لقد لوحظ ان هنالك تحسن في اندماج الرقعة النسجية مع نسيج المثانة في كلا المجموعتين مع تقدم مدة الللتئام، وفي اليوم 45 بعد العملية الجراحية لوحظ ان الللتئام رقعة التامور مع نسيج المثانة أفضل من المجموعة الأولى وقد يعود سبب ذلك الى استعمال الـ PRF الذي سرع وحسن من اندماج الرقعة بالنسيج الاصلي وهذا ما تم ملاحظته من قبل اخرين (Raffea and Allawi, 2022; Allawi and Saeed, 2023; Sabeel and Al-Hyani, 2024). بالإضافة الى ذلك أن رقعة التامور البكري الالخلوي غنية بمكونات الكولاجين والعديد من الاليفات الأخرى وان اضافة الـ PRF الغني بعوامل النمو على محيط حافة الرقعة قد لعب دوراً مهماً في تحسين الجهاز المناعي وتسريع الللتئام من خلال محتواه العالي من الصفيحات الدموية التي تحتوي على جميع العناصر المهمة في عملية الللتئام وتقليل عملية الالتهاب بعد الجراحة وهذا يتفق مع (Rémi *et al.*, 2011)، وتتفق ايضاً مع (Pokrywczynska *et al.*, 2022) الذين أظهروا نتائج مماثلة بعد عملية تكبير المثانة باستعمال مصفوفة المثانة الالخلوية حيث لاحظوا انكماش في حجم الرقعة واستبدلها تدريجياً بنسيج المثانة، ووجدوا ان الظهارة البولية قد غطت السطح الجوفي للرقعة بالكامل كما لوحظ تمدد العضلات الملساء بشكل رئيسي من المثانة الى مكان الرقعة من الاطراف باتجاه المركز. لقد اشار (Spiliopoulos *et al.*, 2015) بأن الرقعة المعالجة بالكلوتارالدهيد- Glutaraldehyde- treated patches والمشتقة من التامور تم اختيارها في علاج عيوب الجهاز الهضمي، حيث ان الارتباط التشابكي لأليف الكولاجين نتيجة تمريرها بالمواد الكيميائية قبل استعمالها جعلها أكثر مقاومة للتخر وزاد من قوتها وقوه الاندماج مع أنسجة المضييف وبالتالي العمل مع انسجة المضييف على تعويض الاذى الحاصل في النسيج وتتجدد. من جهة اخرى يمكن أن يعزى سبب كفاءة التامور في اصلاح اذى المثانة الى أن التامور البكري غني بالكولاجين الذي يحتوي على النوع الأول بشكل شائع، بالإضافة الى الجلوكوزامينوكلايكان والعديد من المواد البروتينية وعوامل النمو والحركيات الخلوية مما جعله قادر على علاج عيوب العديد من الانسجة مثل غضروف الاذن (Al-Hyani and Al-Hasan, 2019). ان النتيجة التي تم الحصول عليها من خلال ترقيع المثانة بالتامور مشابهة لما تم الحصول عليه من قبل (Wongsetthachai *et al.*, 2011; Sheta *et al.*, 2014; Alkattan, 2014) الذين استعملوا رقعاً مختلفة لترقيع المثانة وشاروا الى حدوث اندماج للرقع مع المثانة مع عدم حدوث تقلص في حجم المثانة او حدوث تخر او الاحتشاء وجود مثانة منتفخة بدون تشوه تشريري او وجود علامات تدل على نقص التروية Ischemic zone في موقع العملية ولا يوجد اي تسرب للبول وكان الترب ملتصقاً بقمة بموقع العملية بعد 15 و30 يوم من العملية.

5-7: الفحص النسجي المرضي

في الدراسة الحالية أظهرت نتائج الفحص النسجي المرضي تغيرات في منطقة عملية التئام عيب المثانة البولية لدى الحيوانات التجريبية في كلا المجموعتين وأظهرت النتائج ان عملية الالتئام تميزت بحدوث تفاعل التهابي في حيوانات المجموعتين وكان الالتهاب أكثر شدة في المجموعة الأولى وقد يعزى سبب ذلك الى استعمال الـ PRF الذي عمل على تقليل الالتهاب، وهذا يتوافق مع (Muhammad *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2022; Raffea and Allawi, 2022; Vasudev *et al.*, 2023) الذين اشاروا بان الـ PRF مادة مضادة لالتهابات.

لقد لوحظ من خلال الفحص النسجي المرضي ان هنالك تقدم في عملية الالتئام مع تقدم المدة الزمنية حيث لوحظ زيادة في تكوين النسيج الحبيبي وزيادة في تكوين الكولاجين وتكون اوعية الدموية الحديثة وتكون انسجة رابطة بين الرقعة النسجية ونسيج المثانة مع قلة في ارتشاح الخلايا التهابية وخاصة في مدة الـ 45 يوما بعد العملية خاصة في المجموعة الثانية المعاملة بالليفين الغني بالصفائح الدموية والتامور البكري اللاخلوي مقارنة بالمجموعة الأولى. ان سبب ذلك يعزى الى اولاً: ان التامور القربي اللاخلوي نسيج حيوي يتكون بشكل اساسي من الكولاجين وان هذا الكولاجين قد ساهم في تكوين البنية النسجية لنسيج المثانة الجديد وعمل كسقالة لالتصاق الخلايا المتراكمة من نسيج المثانة الاصلي وتكون جسور تربط بين الرقعة ونسيج المثانة الاصلي وبالتالي الاندماج مع النسيج الاصلي للمثانة. وهذا يتوافق مع (Gonçalves *et al.*, 2005; Albahrawy *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2011) ويتطابق ايضاً مع (Oswal *et al.*, 2007; Ramadhan *et al.*, 2024; Garcia *et al.*, 2024) الذي اشار بان جروح الأطراف المعالجة برفع التامور البكري اللاخلوي في الحمير كان شفاؤها أسرع شفاء الجروح في مجموعة السيطرة التي لم يستعمل فيها رقعة التامور البكري اللاخلوي. ثانياً: إن إضافة الـ PRF الى رقعة التامور البكري اللاخلوي المغروس أدى الى تحسين عملية شفاء عيب المثانة البولية من خلال زيادة تكاثر الأنسجة الحبيبية وتكونها وتكون اوعية الدموية وتقليل الالتهاب وتحفيز الخلايا التهابية على المساعدة في عملية الالتئام والتسرع من تحل رقعة التامور واندماج مكوناتها مع نسيج المثانة الاصلي وهذه النتيجة مشابهة لما حصل عليه (Dohan *et al.*, 2006; Raffea and Allawi, 2022) وتتفق هذه النتيجة مع (essential fibroblast growth factor (bFGF) وعامل النمو وعامل نمو الخلايا الليفية الأساسية (VEGF) وعامل النمو بطانة اوعية الدموية (VEGF).

المشابه للأنسولين (IGF-1) وعامل النمو المحول Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) وعامل النمو المشتق من الصفائح الدموية transforming growth factor-1 (TGF-1) والحركيات الخلوية والكيميائية المهمة في تسريع وتحسين عملية الالتئام خاصة خلال الـ 7 أيام الاولى من استعماله والتي قد تستمر لـ 28. وقد اشار (Nica *et al.*, 2019; Narayanaswamy *et al.*, 2023) يمثل أحد أهم المواد الحيوية المستخدمة في العلاج التجديدي وذلك بسبب بأنه ذاتي المصدر، اذ يتم الحصول عليه من المريض نفسه، فضلاً عن تكلفته المنخفضة ويعتبر على عناصر بوتينية وعوامل نمو لها دور ايجابي كبير في اصلاح الانسجة التالفة تجدها، بالإضافة الى ذلك ليس اي تأثيرات سلبية على صحة الجسم سواء في الانسان او الحيوان. ان استعمال الليفين الغني بالصفائح الدموية مع الرقع النسجية قد تم استعماله من قبل اخرين والذين توصلوا الى نفس النتيجة التي تم الحصول عليها في دراستنا الحالية. حيث اشار (Easa *et al.*, 2021) بان استعمال البدائل العظمية مع الليفين الغني بالصفائح الدموية في علاج عيوب العظام قد عزز من اندماج الرقع العظمية مع نسيج العظم الاصلي وسرع من تجدد العظم التالف.

5-8: الفحص النسجي الكيميائي المناعي

أظهرت نتائج الفحص النسجي المناعي الكيميائي عن بروتينين الفيمينتين عن تعبير ايجابي خلال مدد الفحص الثلاثة (30، 15، 45) في كلا المجموعتين، ونعتقد ان سبب ذلك هو الاجهاد الذي تعرض له الحيوانات بسبب اجراء العملية الجراحية والتي تم من خلالها احداث عيب في نسيج المثانة وبعد ذلك ترقيعه حيث في حالة الاجهاد والالتهابات يرتفع مستوى هذا البروتين وذلك لأن له دور في النشاط البايولوجي للخلايا عند تعرض الانسجة للأذى والاضطرابات ومنها الالتهابات، وهذا النتيجة تتطابق مع ما اشار اليه (Chen *et al.*, 2023) بان الفيمينتين بروتينين سيتوبلازمي ومع ذلك يوجد أيضاً في المصفوفة خارج الخلية وعلى سطح الخلية ويلعب أدواراً مهمة في العديد من الوظائف الخلوية الأساسية بما في ذلك هجرة الخلايا وتكاثرها وانقسامها. ويتواافق ذلك مع (Pandita *et al.*, 2021) الذي ذكر بان الفيمينتين بروتين وسيط مسؤول عن الحفاظ على سلامة الخلايا ومقاومة الإجهاد ويكون واسع النطاق في العديد من الخلايا الجسم حيث يشكل التركيب الهيكلي لهذه الخلايا. ويلعب الفيمينتين دوراً مهماً في تنظيم العديد من وظائف الخلايا والأنسجة ويتم التعبير عنه بشكل مفرط في الأورام الخبيثة واضطرابات الفم الخبيثة وأمراض المناعة الذاتية مثل التهاب المفاصل الروماتزمي Rheumatoid arthritis وله دور في التئام الجروح ويعد من العلامات المهمة في تشخيص

العديد من الحالات الالتهابية والاضطرابات الخبيثة. لقد اشار (Ramos *et al.*, 2020) ان الفيمنتين يفرز من من الخلايا البلعمية النشطة حيث تعمل على مكافحة العدو من خلال العمل كعامل مضاد للالتهابات، مما يؤدي الى مكافحة الخمج وان الفيمنتين المفرز من قبل الخلايا المصابة يرتبط بسطح خلايا اللحمة المتوسطة وتحولها الى الخلايا الليفية العضلية مما يساعد في التئام الجروح.

اظهر الفحص النسجي المناعي الكيميائي للكشف عن بروتين عامل نمو بطانة الاوعية الدموية في اليوم الخامس عشر بعد الترقيع ان مستوى هذا العامل كان موجب من الدرجة الثالثة في مجموعة الحيوانات المعالجة برقع التامور البقري الالخلوي بينما في مجموعة الحيوانات المعالجة برقع التامور البقري الالخلوي والليفين الغني بالصفائح الدموية كان التعبير عن هذا العامل من النوع الموجب الشديد (الدرجة الرابعة). ان وجود هذا العامل بمستوى موجب في كلا المجموعتين يعزى الى اسباب منها وجود الالتهاب في مكان الترقيع وهذا يتواافق مع ما اشار اليه (Velasquez *et al.*, 2013) بان اثناء حدوث اذى في الانسجة هنالك العديد من الخلايا والانسجة مثل الخلايا البلعمية والخلايا السرطانية والصفائح الدموية فضلاً عن خلايا اللحمة المتوسطة الكلوية Renal mesenchymal cells تقوم بإفراز العديد من عوامل النمو والحركيات الخلوية التي تعمل على تحفيز الخلايا على النمو وتلعب دوراً ايجابياً في اصلاح الانسجة ، حيث تقوم الحركيات الخلوية بجذب الارومات الليفية والخلايا الالتهابية الى مكان جرح والتي تعمل على تحفيز تكوين الاوعية الدموية الحديثة واعدة التجهيز الدموي للنسيج المتضرر فضلاً عن المساهمة في تكاثر الخلايا المهمة في عملية التئام.

ان وجود هذا العامل بمستوى موجب عالي في حيوانات المجموعة الثانية وللمدد 30,35 و 45 مقارنة بالمجموعة الاولى يعزى سببه الى استعمال الليفين الغني بالصفائح الدموية الذي له القدرة على إطلاق عوامل النمو وبكميات كبيرة ومنها عامل نمو بطانة الدموية وعوامل اخرى ولمدة زمنية قد تصل الى 28 يوماً (Ramadhan *et al.*, 2024; Garcia *et al.*, 2024) ولهذا نلاحظ ان مستواه قد كان عاليا في المجموعة الثانية.

لوحظ في الـ 30 يوم بعد عملية الترقيع في حيوانات المجموعة الاولى ان مستوى عامل نمو بطانة الاوعية الدموية قد انخفض مقارنة بالمجموعة الثانية ، ونعتقد ان سبب ذلك هو انخفاض حدة الالتهاب في هذه المدة مقارنة بمنتهى الـ 15 يوم، وهذه النتيجة تتوافق مع (Bao *et al.*, 2009) الذي ذكر بانـ VEGF يفرز من مجموعة مختلفة من الخلايا مثل الخلايا الليفية وخلايا العضلات الملساء والبلعميات والعدلات والصفائح الدموية في حالة تعرض النسيج الى الاصابة الذي يؤدي الى نقص التجهيز الدموي للنسيج المصابة وكذلك يفرز في حالة الالتهاب، اذ يؤدي

افرازه إلى هجرة العديد من الخلايا إلى موقع النسيج المتضرر وانتاج العديد من مواد الجذب الكيميائي التي تساهم في تكاثر الخلايا وتكون الأوعية الدموية الحديثة والأنسجة الحبيبية، وهذه النتيجة تتطابق مع (Johnson and Wilgus, 2014) الذي اشار الى ان مستوى بروتين عامل نمو بطانة الأوعية الدموية يزداد في المرحلة الاولى من تعرض النسيج للجرح ويستمر بهذا المستوى من الارتفاع لمدة اسبوع على الاقل. اما سبب بقاء مستوى هذا العامل مرتفع خلال مدة الـ 30 يوماً بعد العملية مقارنة بالمجموعة الاولى فيعزى الى استعمال الـ PRF مع رق العائمor الذي عمل على بقاء مستوى هذا العامل مرتفع مقارنة بالمجموعة الاولى خلال هذه المدة وكذلك مشابه لمستواه في هذه المجموعة مقارنة بمنطقة الـ 15 يوماً بعد عملية الترقيع، ونعتقد ان سبب ذلك هو استمرار اطلاق هذا العامل من قبل الـ PRF، وهذا يتوافق مع (Ramadhan *et al.*, 2024) (Garcia *et al.*, 2024) الذين اشاروا ان اطلاق عامل النمو VEGF يستمر لفترات زمنية مختلفة قد تصل الى 28 يوماً. وهذه النتيجة تتطابق مع (Bao *et al.*, 2009) الذي اشار بان مستوى الـ VEGF يبقى مرتفع في حالة الجروح لحين حدوث الالئام الكامل، ولهذا نلاحظ ان مستوى كان عالي في كلا المجموعتين خلال مدة الـ 45 يوماً بعد العملية.



الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

1-6: الاستنتاجات

1. أن رقعة التامور البكري الالخلوي يمكن الحصول بسهولة اضافة الى سهولة تحضيرها وقلة تكلفتها.
2. ان لرقعة التامور البكري الالخلوي تأثير ايجابي في اصلاح عيب المثانة البولية.
3. إن إضافة الليفين الغني بالصفائح الدموية الى رقعة التامور البكري الالخلوي المستعملة لإصلاح اذى المثانة البولية قد ساعد على اندماج هذه الرقع مع نسيج المثانة وساعد في تسريع وتحسين التئامها مع جرح المثانة وذلك من خلال سرعة تكوين النسيج الحبيبي ونضجه وزيادة تكوين الكوLAGين، فضلاً عن تقليل الالتصاقات.
4. ارتفاع مستوى الــPRF والكرياتينين وبروتين متفاعل ســI بعد عملية احداث اذى المثانة واصلاحه خلال المدد المبكرة بعد الالئام (3 و 7 ايام بعد العملية) وخاصة في المجموعة الغير معاملة بالــPRF.
5. ارتفاع مستوى الفيمنتين في الحيوانات المعالجة بالتامور البكري الالخلوي سواء لوحده او مع الــPRF.
6. ان استعمال الــPRF مع رقعة التامور البكري الالخلوي قد ادى الى ارتفاع في مستوى عامل نمو بطانة الاوعية الدموية خلال المدد 15،30 و 45 يوما بعد عملية ترقيع المثانة بالتامور البكري الالخلوي.

6-2: التوصيات

1. استعمال سقالات أخرى لإصلاح عيوب المثانة البولية مثل مصفوفة المثانة الالكتروية Bio-dermal أو رقع الكولاجين او مصفوفة الأدمة الحيوية Acellular bladder matrix matrix.
2. استعمال مادة بيولوجية أخرى مع رقعة التامور الالكتروية لإصلاح أذى المثانة البولية مثل الخلايا الجذعية ونخاع العظم ومستخلص نبات الصبار والبلازما الغنية بالصفائح الدموية.
3. استعمال الناظور البطني Laparoscopy لإجراء عملية احداث أذى في المثانة وترقيعه، فضلاً عن استعمال الناظور البطني لتشخيص وتقدير عملية اصلاح المثانة.
4. دراسة تقييم عوامل نمو أخرى مصاحبة لعملية اصلاح أذى المثانة مثل TGF، FGF، PDGF و



المصادر

References

المصادر

References

- Abdulmawjood, Y.F. and Thanoon, M.G. (2022). A comparative study of nano magnesium oxide versus platelets rich fibrin to repair the induced radial fracture in dogs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 36(2): 451-458.
- Abet, E.; Drissi, F.; Couëtte, C.; Jean, M.H.; Denimal, F.; Podevin, J.; Duchalais, E. and Meurette, G. (2020). Predictive value of inflammatory markers for postoperative recovery following colorectal surgery. *International journal of colorectal disease*. 35(6): 1125–1131.
- Ahmed, M.F.; Metwally, E.; Mahmoud, Y.K.; Abuzeid, S.M.; El-Daharawy, M.H. and Hashem, M.A. (2022). Augmentation cystoplasty in dogs: A comparative study of different tunica vaginalis grafts. *Veterinary and Animal Science*. 16: 100247.
- Ajalloueian, F.; Lemon, G.; Hilborn, J.; Chronakis, I.S. and Fossum, M. (2018). Bladder biomechanics and the use of scaffolds for regenerative medicine in the urinary bladder. *Nature Reviews Urology*. 15(3): 155-174.
- Akomas, S. and Kene, R. (2005). Postoperative studies following ventral and dorsal cystotomy in mongrel dogs. *Nigerian Veterinary Journal*. 24(2): 52-56.
- Al-Asadi, R.N. and Khwaf, N.B. (2014). A comparative study between inverting and appositional suture patterns for cystotomy closure in dog. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*. 38(1): 40-47.

- Albahrawy, M.; Abouelnasr, K.; Mosbah, E.; Zaghloul, A. and Abass, M. (2023). Acellular bovine pericardium as a biological dressing for treatment of cutaneous wounds of the distal limb in donkeys (*Equus Asinus*). *Veterinary Research Communications*. 47(2): 587-597.
- AL-Bayati, A.H. and Hameed, F.M. (2018). Effect of acellular bovine pericardium and dermal matrixes on cutaneous wounds healing in male rabbits: Histopathological evaluation. *Journal of entomology and zoology studies*. 6: 1976-1986.
- Alhamdany, M. and Alkattan, L. (2019). Laparoscopic and hand-assisted cystorrhaphy strengthened with omental pedicle in dogs: Radiographic and ultrasonographic study. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 33(2): 347-352.
- Al-Hamed, F.S., Mahri, M., Al-Waeli, H., Torres, J., Badran, Z. & Tamimi, F. (2019) Regenerative Effect of Platelet Concentrates in Oral and Craniofacial Regeneration. *Front. Cardiovasc. Med.* 6:126.
- Al-Hyani, O. and Al-Hasan, A.A.H. (2019). A comparison between two different biomaterials for treatment of tracheal defect in dogs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 33(2): 317-327.
- Alizadeh, M.; Rezakhani, L.; Soleimannejad, M.; Sharifi, E.; Anjomshoa, M. and Alizadeh, A. (2019). Evaluation of vacuum washing in the removal of SDS from decellularized bovine pericardium: method and device description. *Heliyon*. 5(8).
- Alkattan, L.M. (2014). Using of omentum pedicels for supporting ruptured urinary bladder wall in dogs. *International Journal of Enhanced Research in Science Technology & Engineering*. 3(3): 178-183.

- Allawi, A.H. and Saeed, M.G. (2023). Effect of homologous platelet rich fibrin matrix and injectable platelet rich fibrin on full thickness skin autograft healing in dogs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 37: 55-64.
- Al-Saiegh, A.M.; Al-Hyani, O.H. and Alheyali, K.W. (2024). Using lyophilized bovine pericardium and acellular ovine esophageal mucosa to repair cerebral dura mater defect in dogs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 38(2): 379-389.
- Alsaif, S.H.; Rogers, A.C.; Pua, P.; Casey, P.T.; Aherne, G.G.; Brannigan, A.E.; Mulsow, J.J.; Shields, C.J. and Cahill, R.A. (2021). Preoperative C-reactive protein and other inflammatory markers as predictors of postoperative complications in patients with colorectal neoplasia. *World Journal of Surgical Oncology*. 19: 1-9.
- Amer, A.H.; Osman, S.M. and Foad, L.N. (2017). Comparison of bone healing around nano topography dental implant versus conventional implant. *Alexandria Dental Journal*. 42(2): 162-169.
- Andersen, A.V.; Granlund, P.; Schultz, A.; Talseth, T.; Hedlund, H. and Frich, L. (2012). Long-term experience with surgical treatment of selected patients with bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Scandinavian journal of urology and nephrology*. 46(4): 284-289.
- Atala, A. (2011). Tissue engineering of human bladder. *British medical bulletin*. 97(1): 81-104.
- Atalan, G.; Cihan, M.; Sozmen, M. and Ozaydin, I. (2005). Repair of urethral defects using fascia lata autografts in dogs. *Veterinary Surgery*. 34(5): 514-518.

- Atiyah, A.G.; Alkattan, L.M. and Shareef, A.M. (2024). The radiological study of using fabricated calcium hydroxide from quail eggshell and plasma-rich fibrin for reconstitution of a mandibular bone gap in dogs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 38(1): 55-62.
- Ayyildiz, A.; Çelebi, B.; Akgül, K.T.; Nuhoğlu, B.; Caydere, M. and Germiyanoğlu, C. (2006). A comparison of free skin graft, fascia lata, allograft, bovine pericardium and primary repair in urethrocutaneous fistulas without diversion: an experimental study. *Pediatric surgery international*. 22: 809-814.
- Baker, B.M.; Nerurkar, N.L.; Burdick, J.A.; Elliott, D.M. and Mauck, R.L. (2009). Fabrication and Modeling of Dynamic Multipolymer Nanofibrous Scaffolds. *Journal of Biomechanical Engineering*. 131(10).
- Bakhtiari, J.; Saberi-Afshar, F.; Noorbala, H.; Gharagozlo, M.J. and Veshkini, A. (2000). Urinary bladder reconstruction using fresh and formalin-preserved bovine amnion in dogs. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*. 14(3): 277-282.
- Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M., Golinko, M.S., Ehrlich, H.P. & Brem, H. (2009) The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *J Surg Res*. 153(2):347–58.
- Benigni, L.; Lamb, C.R.; Corzo-Menendez, N.U.; Holloway, A. and Eastwood, J.M. (2006). Lymphoma affecting the urinary bladder in three dogs and a cat. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 47(6): 592-596.
- Brading, A.F. (1999). The physiology of the mammalian urinary outflow tract. *Experimental physiology*. 84(1): 215-221.

- Bray, C.; Bell, L.N.; Liang, H.; Haykal, R.; Kaiksow, F.; Mazza, J.J. and Yale, S.H. (2016). Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements and their relevance in clinical medicine. *World Medical Journal.* 115(6): 317-21.
- Brehmer, B.; Rohrmann, D.; Becker, C.; Rau, G. and Jakse, G. (2007). Different types of scaffolds for reconstruction of the urinary tract by tissue engineering. *Urologia Internationalis.* 78(1): 23-29.
- Broussy, S. (2024). Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and VEGF Receptor Inhibitors in Health and Disease. *Pharmaceuticals.* 17: 959.
- Buerke, M.; Sheriff, A. and Garlichs, C.D. (2022). CRP apheresis in acute myocardial infarction and COVID-19. *Medizinische Klinik, Intensivmedizin und Notfallmedizin.* 117(3): 191-199.
- Byl, K.M.; Kruger, J.M.; Kinns, J.; Nelson, N.C.; Hauptman, J.G. and Johnson, C.A. (2010). In vitro comparison of plain radiography, double-contrast cystography, ultrasonography, and computed tomography for estimation of cystolith size. *American journal of veterinary research.* 71(3): 374-380.
- Cabeen, M.T. and Jacobs-Wagner, C. (2010). The bacterial cytoskeleton. *Annual review of genetics.* 44(1): 365-392.
- Chan, B.P. and Leong, K.W. (2008). Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European spine journal.* 17: 467-479.
- Chang, Y.; Tsai, C.; Liang, H.; Sung, H. (2002). In vivo evaluation of cellular and acellular bovine pericardia fixed with a naturally occurring crosslinking agent (genipin). *Biomaterials.* 23;12: 2447-2457.

- Chang, Y.C. and Zhao, J.H. (2011). Effects of platelet-rich fibrin on human periodontal ligament fibroblasts and application for periodontal infrabony defects. *Australian dental journal*. 56(4): 365-371.
- Chen, B.; Chen, X.; Wang, W.; Shen, J.; Song, Z.; Ji, H.; Zhang, F.; Wu, J.; Na, J. and Li, S. (2021). Tissue-engineered autologous peritoneal grafts for bladder reconstruction in a porcine model. *Journal of Tissue Engineering*. 12: 2041731420986796.
- Chen, F.M.; Zhang, M. and Wu, Z.F. (2010). Toward delivery of multiple growth factors in tissue engineering. *Biomaterials*. 31(24): 6279-6308.
- Chen, K.Z.; Liu, S.X.; Li, YW.; He, T.; Zhao, J.; Wang, T.; Qiu, XX.; Wu, H.F. (2023). Vimentin as a potential target for diverse nervous system diseases. *Neural Regen Res*. 18(5):969-975.
- Choukroun, J.; Diss, A.; Simonpieri, A.; Girard, M.O.; Schoeffler, C.; Dohan, S.L.; Dohan, A.J.; Mouhyi, J. and Dohan, D.M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 101(3): e56-e60.
- Chuang, Y.; Tyagi, V.; Liu, RT.; Chancellor, MB.; Tyagi, P (2010). Urine and Serum C-Reactive Protein Levels as Potential Biomarkers of Lower Urinary Tract Symptoms, *Urological Science*. 21(3): 132-136.
- Cornell, K.K. (2000). Cystotomy, partial cystectomy, and tube cystostomy. *Clinical techniques in small animal practice*. 15(1): 11-16.

- Crapo, P.M.; Gilbert, T.W. and Badylak, S.F. (2011). An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 32(12): 3233-3243.
- Davis, D.R. and Stewart, D.J. (2011). Autologous cell therapy for cardiac repair. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 11(4): 489-508.
- de Rezende Pinna, B.; Stavale, J.N.; de Lima Pontes, P.A. and do Brasil, O.D.O.C. (2011). Histological analysis of autologous fascia graft implantation into the rabbit voice muscle. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 77(2): 185-190.
- Disa, J.J.; Klein, M.H. and Goldberg, N.H. (1996). Advantages of autologous fascia versus synthetic patch abdominal reconstruction in experimental animal defects. *Plastic and reconstructive surgery*. 97(4): 801-806.
- Dohan, D.M.; Choukroun, J.; Diss, A.; Dohan, S.L.; Dohan, A.J.; Mouhyi, J. and Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 101(3): e37–e44.
- dos Santos, V.; Brandalise, R.N. and Savaris, M. (2017). *Biomaterials: Characteristics and Properties*. In: dos Santos, V.; Brandalise, R.N. and Savaris, M. (Eds.). *Engineering of Biomaterials. Topics in Mining, Metallurgy and Materials Engineering*. Switzerland, Springer, Cham. Pp:45.
- Drinkwater, S.L.; Smith, A.; Sawyer, B.M. and Burnand, K.G. (2002). Effect of venous ulcer exudates on angiogenesis in vitro. *Journal of British Surgery*. 89(6): 709-713.

- Duarte, M.S.M. (2019). New strategies for the decellularization of biological tissues. Thesis presented to *Escola Superior de Biotecnologia* of the *Universidade Católica Portuguesa* to fulfill the requirements of Master of Science degree in Biomedical Engineering. 12-46.
- Dyce, K.M.; Sack, W.O. and Wensing, C.L.G. (2010). The skeleton of hind limb. In: Dyce, K.M.; Sack, W.O. and Wensing, C.L.G. (Eds.). Textbook of veterinary anatomy. 4th Edition. St. Louis, Missouri, USA, Saunders / Elsevier. pp. 490-500.
- Easa, M.S.; Alkhawas, M.A.; Gobran, H.G. and Islam, T.M. (2021). Evaluation of the Efficacy of PRF as a Bone Substitute Material Alternative to Xenograft in Critical-Sized Bone Defects in Periradicular Surgery: an Animal Study. International Journal of Medical Science and Dental Research. 4(3): 8-17.
- Ehrenfest, D.M.D.; Rasmusson, L. and Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in biotechnology. 27(3): 158-167.
- Ekder, E.S. and Mahdi, A.K. (2021). Augmentation Cystoplasty Using Autograft of Thigh Fascia Lata: Experimental Study in Canine Model. Annals of the Romanian Society for Cell Biology. 25(3): 3029–3039.
- Elbahnasy, A.M.; Shalhav, A.; Hoenig, D.M.; Figenshau, R. and Clayman, R.V. (1998). Bladder wall substitution with synthetic and non-intestinal organic materials. The Journal of urology. 159(3): 628-637.

- Enocsson, H.; Karlsson, J.; Li, H.Y.; Wu, Y.; Kushner, I.; Wetterö, J. and Sjöwall, C. (2021). The complex role of C-reactive protein in systemic lupus erythematosus. *Journal of Clinical Medicine*. 10(24): 5837.
- Eriksson, J.E.; Dechat, T.; Grin, B.; Helfand, B.; Mendez, M.; Pallari, H.M. and Goldman, R.D. (2009). Introducing intermediate filaments: from discovery to disease. *The Journal of clinical investigation*. 119(7): 1763-1771.
- Eryilmaz, R.; Sahin, M. and Tekelioglu, M.H. (2006). Which repair in umbilical hernia of adults: primary or mesh?. *International surgery*. 91(5): 258-261.
- Evans, H.E. and de Lahunta, A. (2013). The skeleton. In: Evans, H.E. and de Lahunta, A. (eds.). *Miller's, Anatomy of the dog*. 4th Edition. Missouri, USA, Elsevier. pp. 80-151.
- Fossum, T.W.; Hedlund, C.S.; Hulse, D.A.; Johnson, A.L.; Seims, H. and Willard, M.D. (2002). *Small animal surgery*. St. Louis, Missouri, USA, Mosby. pp:789.
- Francisco, J.C.; Cunha, R.C.; Cardoso, M.A.; Simeoni, R.B.; Mogharbel, B.F.; Picharski, G.L.; Dziedzic, D.S.M.; Guarita-Souza, L.C. and Carvalho, K.A.T. (2016). Decellularized amniotic membrane scaffold as a pericardial substitute: an in vivo study. *Transplantation proceedings*. 48(8): 2845-2849.
- Freytes, D.O.; Badylak, S.F.; Webster, T.J.; Geddes, L.A. and Rundell, A.E. (2004). Biaxial strength of multilaminated extracellular matrix scaffolds. *Biomaterials*. 25(12): 2353-2361.
- Gallatti, L.B. and Iwasaki, M. (2004). Comparison of ultrasonography and positive contrast cystography for detection of urinary bladder disorders in dogs. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 41: 40-46.

- Gamba, P.; Conconi, M.; Lo Piccolo, R.; Zara, G.; Spinazzi, R. and Parnigotto, P.I.E.R. (2002). Experimental abdominal wall defect repaired with acellular matrix. *Pediatric surgery international*. 18: 327-331.
- Gammon, J.M. and Jewell, C.M. (2019). Engineering immune tolerance with biomaterials. *Advanced healthcare materials*. 8(4): 1801419.
- Garcia, P., Bergantim, M., Queiroz, T.P. & Leticia Santos, P. (2024) Platelet-rich fibrin in the treatment of skin avulsion. *J. Oral and Maxillofacial Surg. Med. and Path.* 36(3): 328-332.
- Gilbert, T.W.; Sellaro, T.L. and Badylak, S.F. (2006). Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*, 27(19): 3675-3683.
- Gilbert, T.W.; Stewart-Akers, A.M.; Simmons-Byrd, A. and Badylak, S.F. (2007). Degradation and remodeling of small intestinal submucosa in canine Achilles tendon repair. *The Journal of Bone & Joint Surgery*. 89(3): 621-630.
- Goissis, G.; de Fátima Giglioti, A. and Braile, D.M. (2011). Preparation and characterization of an acellular bovine pericardium intended for manufacture of valve bioprostheses. *Artificial organs*. 35(5): 484-489.
- Goldman, R.D.; Khuon, S.; Chou, Y.H.; Opal, P. and Steinert, P.M. (1996). The function of intermediate filaments in cell shape and cytoskeletal integrity. *The Journal of cell biology*. 134(4): 971-983.
- Gonçalves, A.C.; Griffiths, L.G.; Anthony, R.V. and Orton, E.C. (2005). Decellularization of bovine pericardium for tissue-engineering by targeted removal of xenoantigens. *The Journal of heart valve disease*. 14(2): 212–217.

- Granger, N.; Olby, N.J.; Nout-Lomas, Y.S. and Canine Spinal Cord Injury Consortium (CANSORT-SCI). (2020). Bladder and bowel management in dogs with spinal cord injury. *Frontiers in veterinary science*. 7: 58342.
- Greenwell, T.J.; Venn, S.N. and Mundy, A.R. (2001). Augmentation cystoplasty. *BJU international*. 88(6): 511-525.
- Gupta, V.; Bains, V.K.; Singh, G.P.; Mathur, A. and Bains, R. (2011). Regenerative potential of platelet rich fibrin in dentistry: Literature review. *Asian Journal of Oral Health and Allied Sciences*. 1(1): 23-31.
- Hafeez, Y.M.; Zuki, A.B.Z.; Loqman, M.Y.; Noordin, M.M. and Norimah, Y. (2005). Comparative evaluations of the processed bovine tunica vaginalis implant in a rat model. *Anatomical Science International*. 80: 181-188.
- Hellebrekers, B.W. and Kooistra, T. (2011). Pathogenesis of postoperative adhesion formation. *The British journal of surgery*. 98(11): 1503–1516.
- Higuchi, T.T.; Granberg, C.F.; Fox, J.A. and Husmann, D.A. (2010). Augmentation cystoplasty and risk of neoplasia: fact, fiction and controversy. *The Journal of urology*. 184(6): 2492-2497.
- Hildebrandt, I.; Culp, W.T.N. and Griffin, M.A. (2023). A Systematic Review of Canine Cystectomy: Indications, Techniques, and Outcomes. *Animals*. 13(18): 2896.
- Hjelmesæth, J.; Røislien, J.; Nordstrand, N.; Hofsø, D.; Hager, H. and Hartmann, A. (2010). Low serum creatinine is associated with type 2 diabetes in morbidly obese women and men: a cross-sectional study. *BMC endocrine disorders*. 10: 1-6.

- Hu, J.; Tzeng, H.; Lee.; Li.; Chuang, Y. (2024). Promising Experimental Treatment in Animal Models and Human Studies of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome, International Journal of Molecular Sciences. 25(15): 8015.
- Hua, X.; Chen, J.; Xu, Y. and Li, B. (2019). Combined dorsal plus ventral double tunica vaginalis graft urethroplasty: an experimental study in rabbits. Urology. 126: 209-216.
- Jednak, R. (2014). The evolution of bladder augmentation: from creating a reservoir to reconstituting an organ. Frontiers in pediatrics. 2: 10.
- Johnson, K.E. and Wilgus,T.A. (2014)Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. Advances in wound care. 3(10):647-661.
- Johnston, G.R.; Osborne, C.A.; Jessen, C.R. and Feeney, D.A. (1986). Effects of urinary bladder distention on location of the urinary bladder and urethra of healthy dogs and cats. American journal of veterinary research. 47(2): 404-415.
- Karisma, I.N.A.; Sasono, W. and Fatmariyanti, S. (2023). The role of Platelet Rich Fibrin (PRF) membrane and conjunctival autograft on TGF- β and collagen type 1 expression in conjunctival wound healing: a literature review. Bali Medical Journal. 12(2): 1612-1621.
- Katsumoto, T.; Mitsushima, A. and Kurimura, T. (1990). The role of the vimentin intermediate filaments in rat 3Y1 cells elucidated by immunoelectron microscopy and computer-graphic reconstruction. Biology of the Cell. 68(1-3): 139-146.

- Kim, T.H.; Kim, S.H.; Sándor, G.K. and Kim, Y.D. (2014). Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Archives of oral biology*. 59(5): 550-558.
- Kroese, M.; Zimmern, R.L. and Pinder, S.E. (2007). HER2 status in breast cancer—an example of pharmacogenetic testing. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 100(7): 326-329.
- Kropp, B.P.; Rippy, M.K.; Badylak, S.F.; Adams, M.C.; Keating, M.A.; Rink, R.C. and Thor, K.B. (1996). Regenerative urinary bladder augmentation using small intestinal submucosa: urodynamic and histopathologic assessment in long-term canine bladder augmentations. *The Journal of urology*. 155(6): 2098-2104.
- Kumar, V.; Kumar, N.; Mathew, D.D.; Gangwar, A.K.; Saxena, A.C. and Remya, V. (2013). Repair of abdominal wall hernias using acellular dermal matrix in goats. *Journal of applied animal research*. 41(1): 117-120.
- Kuo, H.-C. (2014). Potential urine and serum biomarkers for patients with bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Int. J. Urol.* 21 (Suppl. S1): 34–41.
- Kupelian, V.; McVary, KT; Barry, MJ; Link, CL; Rosen, RC; Aiyer, LP; Mollon, P; McKinlay, JB.(2009). Association of C-reactive protein and lower urinary tract symptoms in men and women: results from Boston Area Community Health survey. *Urology*. 73(5):950-7.
- Langer, R. and Vacanti, J.P. (1993). Tissue engineering. *Science*. 260(5110): 920–926.

- Lau, D.C.; Dhillon, B.; Yan, H.; Szmitko, P.E. and Verma, S. (2005). Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 288(5): H2031-H2041.
- Li, R.; Guo, W.; Yang, B.; Guo, L.; Sheng, L.; Chen, G.; Li, Y.; Zou, Q.; Xie, D.; An, X.; Chen, Y. and Tian, W. (2011). Human treated dentin matrix as a natural scaffold for complete human dentin tissue regeneration. *Biomaterials*. 32(20): 4525–4538.
- Liang, J.; Li, X.; Zhang, H.; Wang, D.; Feng, X.; Wang, H.; Hua, B.; Liu, B. and Sun, L. (2012). Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in patients with refractory RA. *Clinical rheumatology*. 31: 157-161.
- Liao, J.; Yang, L.; Grashow, J. and Sacks, M.S. (2005). Molecular orientation of collagen in intact planar connective tissues under biaxial stretch. *Acta biomaterialia*. 1(1): 45-54.
- Liu, M.; Li, M.; Liu, J.; Wang, H.; Zhong, D.; Zhou, H.; Yang, B. (2016). Elevated urinary urea by high-protein diet could be one of the inducements of bladder disorders. *J Transl Med*. 16(14):53.
- Maksymowicz, K.; Marycz, K.; Szotek, S.; Kaliński, K.; Serwa, E.; Łukomski, R. and Czogała, J. (2012). Chemical composition of human and canine fascia lata. *Acta Biochimica Polonica*. 59(4): 531-535.
- Martinez, I.; Mattoon, J.S.; Eaton, K.A.; Chew, D.J. and DiBartola, S.P. (2003). Polypoid cystitis in 17 dogs (1978–2001). *Journal of veterinary internal medicine*. 17(4): 499-509.
- Matoka, D.J. and Cheng, E.Y. (2009). Tissue engineering in urology. *Canadian Urological Association Journal*. 3(5): 403.

- McFetridge, P.S.; Daniel, J.W.; Bodamyali, T.; Horrocks, M. and Chaudhuri, J.B. (2004). Preparation of porcine carotid arteries for vascular tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 70(2): 224-234.
- Mendoza-Novelo, B.; Avila, E.E.; Cauich-Rodríguez, J.V.; Jorge-Herrero, E.; Rojo, F.J.; Guinea, G.V. and Mata-Mata, J.L. (2011). Decellularization of pericardial tissue and its impact on tensile viscoelasticity and glycosaminoglycan content. *Acta biomaterialia*. 7(3): 1241-1248.
- Messias, B.A.; Botelho, R.V.; Saad, S.S.; Mocchetti, E.R.; Turke, K.C. and Waisberg, J. (2020). Serum C-reactive protein is a useful marker to exclude anastomotic leakage after colorectal surgery. *Scientific reports*. 10(1): 1687.
- Mondalek, F.G.; Lawrence, B.J.; Kropp, B.P.; Grady, B.P.; Fung, K.M.; Madihally, S.V. and Lin, H.K. (2008). The incorporation of poly(lactic-co-glycolic) acid nanoparticles into porcine small intestinal submucosa biomaterials. *Biomaterials*. 29(9): 1159–1166.
- Montinaro, A.; Gianfreda, C.D. and Proto, P. (2007). Equine pericardium for dural grafts: clinical results in 200 patients. *Journal of neurosurgical sciences*. 51(1): 17–19.
- Mufti, S.; Dadawala, S.M.; Patel, P.; Shah, M. and Dave, D.H. (2017). Comparative evaluation of platelet-rich fibrin with connective tissue grafts in the treatment of miller's class i gingival recessions. *Contemporary clinical dentistry*. 8(4): 531-537.

- Muhammad, M.J.; Naeem, R.M. and Ibrahim, R.M. (2022). Clinical and biochemical (PH level) effects of platelet-rich fibrin on skin pedicle graft healing. *NeuroQuantology*. 20(7): p.1269.
- Naik, B.; Karunakar, P.; Jayadev, M. and Marshal, V.R. (2013). Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. *Journal of Conservative Dentistry and Endodontics*. 16(4): 284-293.
- Narayanaswamy, R.; Patro, B.P.; Jeyaraman, N.; Gangadaran, P.; Rajendran, R.L.; NallakumaraSamy, A.; Jeyaraman, M.; Ramani, P. and Ahn, B.C. (2023). Evolution and clinical advances of platelet-rich fibrin in musculoskeletal regeneration. *Bioengineering*. 10(1): 58.
- Nayak, M.T.; Singh, A.; Desai, R.S; Vanaki, S.S.(2013). Immunohistochemical analysis of vimentin in oral submucous fibrosis. *J Cancer Epidemiol*. 11;2013:549041.
- Nguyen, M.T.N. and Tran, H.L.B. (2019). Effect of modified bovine pericardium on human gingival fibroblasts in vitro. *Cells Tissues Organs*. 206(6): 296-307.
- Nica, O.; Popa, D.G.; Grecu, A.F.; Ciucă, E.M. and Ciurea, M.E. (2019). Effects of platelet rich fibrin on full thickness skin grafts in the rat model-planimetry results. *Current Health Sciences Journal*. 45(3): 278.
- Nickel, R.F. and Venker van Haagen, A.J. (1999). Functional anatomy and neural regulation of the lower urinary tract in female dogs: a review. *Veterinary quarterly*. 21(3): 83-85.
- Ntourakis, D.; Katsimpoulas, M.; Tanoglidi, A.; Barbatis, C.; Karayannacos, PE.; Sergentanis, TN.; Kostomitsopoulos, N.; Machairas, A.(2015). Adhesions and healing of intestinal anastomoses: The effect of anti-adhesion barriers surgical innovation. *Surg Innovat*. 23(3):1-11.

- Oswal, D.; Korossis, S.; Mirsadraee, S.; Wilcox, H.; Watterson, K.; Fisher, J. and Ingham, E. (2007). Biomechanical characterization of decellularized and cross-linked bovine pericardium. *Journal of Heart Valve Disease*. 16(2): 165.
- Pandita, V.; Ajila,.; Babu, S.; Hegde, S.; Asan, MF.(2021). Vimentin and its role as a biomarker in health and disease. *Gulhane Med J*. 63:232-237.
- Parsons, C.L. and Hurst, R.E.(1990). Decreased Urinary Uronic Acid Levels in Individuals with Interstitial Cystitis. *The Journal of Urology*. 143(4):690-693.
- Pavletic M.M. (2007). Reconstruction of the urethra by use of an inverse tubed bipedicled flap in a dog with hypospadias. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 231(1): 71–73.
- Pavlovic, V., Ceric, M., Jovanovic, V., Trandafilovic, M. & Stojanovic, P. (2021) Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications. *Open Medicine*. 16: 446–454.
- Peacock, E.E. (1984). Healing and repair of peritoneum and viscera. In: Peacock, E.E. (Ed.). *Wound repair*. 3rd Edition. Philadelphia: WB Saunders Co., pp. 476-478.
- Pepys, M.B. and Hirschfield, G.M. (2003). C-reactive protein: a critical update. *The Journal of clinical investigation*. 111(12): 1805-1812.
- Petrie, A. and Watson, P. (2013). Hypothesis tests the F-test. In: Petrie, A. and Watson, P. (eds.). *Statistics for veterinary and animal science* 3rd Edition. USA, Wiley-Blackwell. pp. 105-111.

- Pokrywczynska, M.; Jundzill, A.; Adamowicz, J.; Kowalczyk, T.; Warda, K.; Rasmus, M.; Buchholz, L.; Krzyzanowska, S.; Nakielski, P.; Chmielewski, T. and Bodnar, M. (2014). Is the poly (L-Lactide-Co-Caprolactone) nanofibrous membrane suitable for urinary bladder regeneration?. *PLoS One*. 9(8): 105295.
- Pokrywczynska, M.; Jundzill, A.; Tworkiewicz, J.; Buhl, M.; Balcerczyk, D.; Adamowicz, J.; Kłoskowski, T.; Rasmus, M.; Mecinska-Jundzill, K.; Kasinski, D. and Frontczak-Baniewicz, M. (2022). Urinary bladder augmentation with acellular biologic scaffold—A preclinical study in a large animal model. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 110(2): 438-449.
- Pokrywczynska, M.; Rasmus, M.; Jundzill, A.; Balcerczyk, D.; Adamowicz, J.; Warda, K.; Buchholz, L. and Drewa, T. (2019). Mesenchymal stromal cells modulate the molecular pattern of healing process in tissue-engineered urinary bladder: the microarray data. *Stem Cell Research & Therapy*. 10: 1-17.
- Pratummintara, K.; Chuthatep, S.; Banlunara, W. and Kalpravidh, M. (2013). Perineal hernia repair using an autologous tunica vaginalis communis in nine intact male dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*. 75(3): 337-341.
- Raffea, N.M. and Allawi, A.H. (2022). Effect of autologous peritoneum and platelet-rich fibrin graft on healing of intestinal anastomosis in dogs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 36(2): 459-470.

- Ramadhan, A. , Agustini, L., Hermawan, D. , Zuhria, I. , Prastyani, R. , Notobroto, H.B. & Legowo, D. (2024) Effect of Platelet Rich Fibrin Membrane (PRF) or Conjunctival Autograft on VEGF Expression and Microvascular Density Post Conjunctival Excision. *J Med. and Chem. Sci.* 7: 374-382.
- Ramos , I.; Stamatakis , K.; Oeste, C.L.; Pérez-Sala, D.(2020). Vimentin as a Multifaceted Player and Potential Therapeutic Target in Viral Infections. *Int. J. Mol. Sci.* ; 21, 4675.
- Rémi, E.; Khelil, N.; Di Centa, I.; Roques, C.; Ba, M.; Medjahed-Hamidi, F.; Chaubet, F.; Letourneur, D.; Lansac, E. and Meddahi-Pellé, A. (2011). Pericardial processing: challenges, outcomes and future prospects. In: Pignatello, R. (ed.). *Biomaterials science and engineering*. London, UK, IntechOpen..pp:67.
- Rieder, E.; Kasimir, M.T.; Silberhumer, G.; Seebacher, G.; Wolner, E.; Simon, P. and Weigel, G. (2004). Decellularization protocols of porcine heart valves differ importantly in efficiency of cell removal and susceptibility of the matrix to recellularization with human vascular cells. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 127(2): 399-405.
- Rubel, I.F.; Schwarzbard, I.; Leonard, A. and Cece, D. (2004). Anatomic location of the peroneal nerve at the level of the proximal aspect of the tibia: Gerdy's safe zone. *The Journal of Bone & Joint Surgery*. 86(8). 1625-1628.
- Sabeel, O.M.; Al-Hyani, O.H.; Al-Hasan, A.M. and Yehea, K.H. (2024). The effect of omental pedicle flap with platelets-rich fibrin on reconstruction of induced-urinary bladder defect in dogs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 38(3): 543-554.

- Sacks, M.S. (2003). Incorporation of experimentally-derived fiber orientation into a structural constitutive model for planar collagenous tissues. *Journal of Biomechanical Engineering*. 125(2): 280-287.
- Salehipour, M.; Mohammadian, R.; Malekhamadi, A.; Hosseinzadeh, M.; Yadollahi, M.; Natami, M. and Mohammadian, M. (2016). Renal capsule for augmentation cystoplasty in canine model: A favorable biomaterial?. *International Brazilian Journal of Urology*. 42(02): 383-388.
- Saluja, H.; Dehane, V. and Mahindra, U. (2011). Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. *Annals of maxillofacial surgery*. 1(1): 53-57.
- Schenk, S. and Quaranta, V. (2003). Tales from the crypt [ic] sites of the extracellular matrix. *Trends in cell biology*. 13(7): 366-375.
- Schmidt, C.E. and Baier, J.M. (2000). Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials*. 21(22): 2215-2231.
- Sheta, E.; Elzomor, S.; Eltookhy, O.; Abd Elkader, N.A. and Ahmed, K.A. (2014). Structural and functional renovation of urinary bladders after amniotic membrane implantation in dogs. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 2(1): 57-66.
- Shiezadeh, F.; Taher, M.; Shooshtari, Z.; Arab, H. and Shafieian, R. (2023). Using platelet-rich fibrin in combination with allograft bone particles can induce bone formation in maxillary sinus augmentation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 81(7): 904-912.

- Singh, S.; Kumar, J. and Prakash, A. (2021). Imaging Techniques and Radiological Anatomy of the Upper Urinary Tract. In: Khandelwal, N.; Chowdhury, V. and Gupta, A.K. (Eds.). Comprehensive Textbook of Diagnostic Radiology: Four Volume Set. New Delhi, India, Jaypee Brothers Medical Publisher. p. 3.
- Slatter, D.H. (2003). Textbook of small animal surgery. Philadelphia, USA, Elsevier health sciencespp: 2311.
- Spiliopoulos, K.; Markakis, C.; Tomos, P.; Gakiopoulou, H.; Nikolopoulos, I.; Spartalis, E.; Kontzoglou, K.; Safioleas, M.(2015).Repair of gastric defect with an equine pericardial patch. *Surgery today*.45:83-90..
- Sutherland, R.S.; Baskin, L.S.; Hayward, S.W. and Cunha, G.R. (1996). Regeneration of bladder urothelium, smooth muscle, blood vessels and nerves into an acellular tissue matrix. *The Journal of urology*. 156(2S): 571-577.
- Suvarna, R.; Suryakanth, V.B.; Bakthavatchalam, P.; Kalthur, G.; Nayak, D.; Prabhu, M.M.; Hadapad, B.S. and Shenoy, R.P. (2023). Acute and sub-chronic toxicity of Liberin, an anti-diabetic polyherbal formulation in rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 14(6): 100804.
- Tabibian N, Swehli E, Boyd A, Umbreen A, Tabibian JH.(2017). Abdominal adhesions: A practical review of an often overlooked entity. *Ann Med Surg (Lond)*. 31;15:9-13.
- Tanan Karaca, G., Duygu, G.; Er, N. & Ozgun, E. (2023) Comparative Investigation of Anti-Inflammatory Effect of Platelet-Rich Fibrin after Mandibular Wisdom Tooth Surgery: A Randomized Controlled Study. *J. Clin. Med.*12 (13):4250.

- Taub, P.J.; Silver, L. and Weinberg, H. (2000). Plastic surgical perspectives on vascular endothelial growth factor as gene therapy for angiogenesis. *Plastic and reconstructive surgery*. 105(3): 1034-1042.
- Thompson, D.; Pepys, M.B. and Wood, S.P. (1999). The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure*. 7(2): 169-177.
- Tobias, K.M. and Johnston, S.A. (2013). *Veterinary surgery: small animal*. 2-volume set. St. Louis, Missouri, USA, Elsevier Health Sciences. pp. 1978-1992.
- Ugurlu, K.; Hüthüt, I.; Özçelik, D.; Özer, K.; Sakz, D.; Yldz, K. and Bas, L. (2004). Epithelialization process of free fascial flaps used in reconstruction of oral cavity mucosa defects in dogs. *Plastic and reconstructive surgery*. 113(3): 915-923.
- Vasudev, D., Vasudeva, D., Garg, A. & Rani, M. (2023) Platelet rich fibrin (PRF) and its application in oral surgery: A literature review. *J Oral Med Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol* .9(1):14-17.
- Westney, O.L. (2010). The neurogenic bladder and incontinent urinary diversion. *Urologic Clinics*. 37(4): 581-592.
- Westropp, J.L.; Delgado, M. and Buffington, C.A.T. (2019). Chronic Lower Urinary Tract Signs in Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 49(2): 187–209.
- Wongsetthachai, P.; Pramatwinai, C.; Banlunara, W. and Kalpravidh, M. (2011). Urinary bladder wall substitution using autologous tunica vaginalis in male dogs. *Research in veterinary science*. 90(1): 156-159.
- Wu, A.H. (2006). *Tietz Clinical Guide to Laboratory*. St. Louis, Missouri, USA, Elsevier Health Sciences.

- Wu, C.L.; Lee, S.S.; Tsai, C.H.; Lu, K.H.; Zhao, J.H. and Chang, Y.C. (2012). Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Australian dental journal*. 57(2): 207-212.
- Wu, Q.Y.; Zhang, Q.; Fang, F. and Bu, W.B. (2022). Clinical Application of Platelet-Rich Fibrin in Dermatology. *International Journal of Dermatology and Venereology*. 5(03): 160-165.
- Xiao, D.; Wang, Q.; Yan, H.; Qin, A.; Lv, X.; Zhao, Y.; Zhang, M.; Zhou, Z.; Xu, J.; Hu, Q. and Lu, M. (2017). Comparison of morphological and functional restoration between asymmetric bilayer chitosan and bladder acellular matrix graft for bladder augmentation in a rat model. *RSC Advances*. 7(67): 42579–42589.
- Yonez, M.K.; Atalan, G.; Karayigit, M.O. and Alpman, U. (2019). Use of fascia lata autograft for repair of urinary bladder defect in rabbits. *Acta Veterinaria Brno*. 88(1): 57-63.
- Yoo, J.J.; Meng, J.; Oberpenning, F. and Atala, A. (1998). Bladder augmentation using allogenic bladder submucosa seeded with cells. *Urology*. 51(2): 221-225.
- Zhao Y, Peng H, Sun L, Tong J, Cui C, Bai Z, Yan J, Qin D, Liu Y, Wang J, Wu X, Li B.(2024). The application of small intestinal submucosa in tissue regeneration. *Mater Today Bio*. Mar 18;26:101032.
- Zhao, L.T.; Liu, L.; Meng, P.P.; Wang, Y.H.; Li, M.; Yang, J.; Gu, T.X. and Ma, C.Y. (2020). Effect of pericardial incision on left ventricular morphology and systolic function in patients during coronary artery bypass grafting. *Cardiovascular Ultrasound*. 18: 1-10.

- Zhou, J.; Fritze, O.; Schleicher, M.; Wendel, H.P.; Schenke-Layland, K.; Harasztosi, C.; Hu, S. and Stock, U.A. (2010). Impact of heart valve decellularization on 3-D ultrastructure, immunogenicity and thrombogenicity. *Biomaterials*. 31(9): 2549-2554.
- Zouhair, S.; Dal Sasso, E.; Tuladhar, S.R.; Fidalgo, C.; Vedovelli, L.; Filippi, A.; Borile, G.; Bagno, A.; Marchesan, M.; De Rossi, G. and Gregori, D. (2020). A comprehensive comparison of bovine and porcine decellularized pericardia: new insights for surgical applications. *Biomolecules*. 10(3): 371.



الملاحق

Appendices

الملاحق

Appendices

الملحق 1: اختبار قياس مستوى الكرياتينين من شركة BIOLABO الفرنسية رقم الكاتالوج 80107

• الهدف من هذا الاختبار

هذا الكاشف مخصص للاستخدام المهني في المختبر (الطريقة اليدوية أو الآلية)، إذ يستخدم لقياس كمية الكرياتينين في مصل الدم أو البلازما أو البول. بصورة عامة يُعد التحويل المتبادل بين الفوسفوكرياتين والكرياتين سمة خاصة لعمليات التمثيل الغذائي لانقباض العضلات. يتحول الكرياتين والفوسفوكرياتين جزئياً إلى الكرياتينين، وبالتالي فإن كمية الكرياتينين المنتجة كل يوم ترتبط بكتلة العضلات (وزن الجسم) والعمر والجنس والنظام الغذائي أو التمارين الرياضية ولا تختلف كثيراً من يوم لآخر.

• مبدأ الاختبار

التفاعل اللوني (تفاعل جافي) للكرياتينين مع البيكرات القلوية المقاسة حركيًا عند 490 نانومتر (510-490)، دون أي خطوة معالجة مسبقة. تم تحسين هذا التفاعل (الخصوصية والسرعة والقدرة على التكيف) من خلال تطوير طريقة المعدل الأولى.

• تركيب الكواشف

1 الكرياتينين الكاشف R1

- فوسفات ثنائي الصوديوم 6.4 مليمول/لتر
- هيدروكسيد الصوديوم 150 مليمول/لتر

2 الكرياتينين الكاشف R2

- كبريتات دوديسيل الصوديوم 0.75 مليمول/لتر
- حمض البكريك 4.0 مليمول/لتر
- درجة الحموضة 4.0
- وفقاً للائحة 1272/2008، لا يتم تصنيف هذا الكاشف على أنه خطير.

3 الكرياتينين الكاشف R3

- المعيار 177 ميكرومول/لتر (2 مجم/ديسيلتر)

- EUH210: ورقة بيانات السلامة (MSDS) متوفرة عند الطلب وفقاً للوائح

2008/1272، لا يتم تصنيف هذا الكاشف على أنه خطير.

• المعايير القياسية

| مجم / ديسيلتر | ميكرومول / لتر | مصل أو بلازما |
|---------------|----------------|---------------|
| 1.3 إلى 0.9 | 80-115 | الذكور |
| 1.1 إلى 0.6 | 53-97 | الإناث |

| مجم / كجم / 24 ساعة | ميكرومول / كجم / 24 ساعة | البول |
|---------------------|--------------------------|--------|
| 26 إلى 14 | 124-230 | الذكور |
| 20 إلى 11 | 97-177 | الإناث |

| مل في الدقيقة | معدل الترشيح الكبيبي (GFR) |
|---|----------------------------|
| البالغون > 120 (100 - 140) | 40 سنة |
| يُنخفضٌ فسيولوجياً بنسبة 1% تقريباً كل عام. | البالغون > 40 سنة |

• طريقة العمل

- تم وضع الكاشف والعينات في درجة حرارة الغرفة.
- الكاشف العامل 1000 (R1+R2) ميكرولتر
- العينة (مصل، بلازما، بول مخفف (19-1) في ماء متزوع المعادن وماء (نقطة الصفر)) 100 ميكرولتر
- تم الخلط جيداً. ثم تم إجراء اختبارات حركية عند 37 درجة مئوية.
- بعد 30 ثانية، تم قراءة الامتصاصية A1 وبعد 120 ثانية بالضبط تم قراءة الامتصاصية A2 عند 490 نانومتر (510-490) مقابل الماء المقطر. أنبوب اختبار بأنبوب مع الماء، وجهاز معايرة، وضوابط ثم تحليلات كعينة.

• طريقة الحساب:

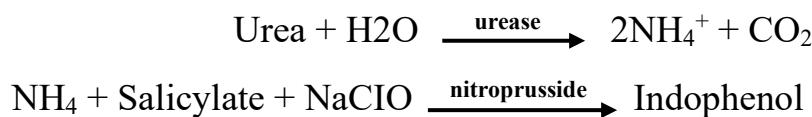
$$\text{النتيجة} = \frac{\text{العينة} - (\text{A1}-\text{A2})}{(\text{A1}-\text{A2})} \text{ الفارغ} \times \text{Blank} \times \text{ التركيز القياسي}$$

$$\text{النتيجة} = \frac{\text{العينة} - (\text{A1}-\text{A2})}{(\text{A1}-\text{A2})} \text{ الفارغ}$$

الملحق 2: اختبار قياس مستوى اليوريا من شركة Biosystems الاسانية رقم الكتالوج COD 11536, COD 11537

• مبدأ الاختبار:

ت تكون اليوريا في العينة عن طريق التفاعل المنسوخ الموصوف أدناه، وهو مركب ملون يمكن قياسه باستخدام مطيافية الضوء.



• المكونات:

A1: الكاشف الأول: سالبيسليات الصوديوم 62 مليمول/لتر، نتروبوروسيد الصوديوم 3.4 مليمول/لتر، محلول فوسفات منظم 20 مليمول/لتر، درجة الحموضة 6.9

A2: الكاشف الثاني: اليورياز > 500 وحدة / مل.

B: الكاشف هيبوكلوريت الصوديوم 7 مليمول/لتر، هيدروكسيد الصوديوم 150 مليمول/لتر.

S: معيار الجلوكوز/اليوريا/الكرياتينين: جلوكوز 100 ملغم/ديسيلتر، يوريا 50 ملغم/ديسيلتر (8.3 مليمول/لتر، 23.3 ملغم/ديسيلتر)، كرياتينين 2 ملغم/ديسيلتر، معيار أولي مائي.

• طريقة العمل:

1. تم وضع الكاشف والعينات في درجة حرارة الغرفة.

2. تم استخدام الماصة في أنابيب اختبار معلمة كالاتي:

| العينة | المعيار القياسي Standard | الفارغ Blank | |
|-------------|--------------------------|--------------|-------------------|
| ---- | 10 ميكرولتر | ---- | معيار اليوريا (S) |
| 10 ميكرولتر | ---- | ---- | العينة |
| 1.0 ملليلتر | 1.0 ملليلتر | 1.0 ملليلتر | الكاشف (A) |

3. تم المزج جيداً وتم تحضير الأنابيب لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة (25-16

درجة مئوية) أو لمدة 5 دقائق في درجة حرارة 37 درجة مئوية.

4. استخدم الماصة:

| الكاشف (B) | 1.0 ملليلتر | 1.0 ملليلتر | 1.0 ملليلتر |
|------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | |

5. تم المزج جيداً وتم تحضير لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة.

6. تمت قراءة الامتصاص (A) للمعيار والعينة عند 600 نانومتر مقابل الفارغ Blank.

يظل اللون ثابتاً لمدة ساعتين على الأقل.

• طريقة الحساب:

يتم حساب تركيز اليوريا في العينة باستخدام المعادلة التالية:

$$\text{تركيز اليوريا} = \frac{\text{العينة (A)}}{\text{المعيار (A)}} \times \text{عامل تخفيف العينة} = \frac{\text{العينة (C)}}{\text{المعيار (A)}}$$

الملحق 3: اختبار CRP (بروتين سي التفاعلي) للكلاب من شركة ELK ELK9107 الصينية رقم الكتالوج Biotechnology

• مكونات عدة القياس:

| ظروف التخزين | الكمية | | الكاشف |
|------------------------------|-----------------|----------------|--------------------------------|
| | 96 حفرة | 48 حفرة | |
| 4°C/-20°C | 12 شريط x 8 حفر | 6 شريط x 8 حفر | Pre-Coated Microplate |
| 4°C/-20°C | 2 قنينة | 1 قنينة | Standard (Lyophilized) |
| 4°C/-20°C | 120 μL | 60 μL | Biotinylated Antibody (100X) |
| 4°C/-20°C | 120 μL | 60 μL | Streptavidin-HRP (100×) |
| 4°C/-20°C | 20 mL | 10 mL | Standard/Sample Diluent Buffer |
| 4°C/-20°C | 12 mL | 6 mL | Biotinylated Antibody Diluent |
| 4°C/-20°C | 12 mL | 6 mL | HRP Diluent |
| 4°C/-20°C | 20 mL | 10 mL | Wash Buffer (25X) |
| 4°C/-20°C (يُخزن في الظل) | 10 mL | 6 mL | TMB Substrate Solution |
| 4°C/-20°C | 6 mL | 3 mL | Stop Reagent |
| درجة حرارة الغرفة | 2 قطعة | 1 قطعة | Plate Covers |

• مبدأ الاختبار:

مبدأ الاختبار هو اختبار المناعة الإنزيمي الساندوينش. تم طلاء صفيحة الميكروتيلتر المقدمة في هذه المجموعة مسبقاً بجسم مضاد خاص بـ Dog CRP إذ تتم إضافة المعايير أو العينات إلى حفر الصفيحة الدقيقة المناسبة، ثم جسم مضاد مقترن باليوبيوتين خاص بـ Dog CRP بعد ذلك، تتم إضافة أفيدين المقترن ببيروكسيداز الفجل (HRP) إلى كل حفر الصفيحة الدقيقة

وتم تحضينها. بعد إضافة محلول ركيزة TMB، ستظهر فقط الحفر التي تحتوي على Dog CRP والجسم المضاد المقتربن بالبيوتين وأفیدین المقتربن بالإنزيم تغييراً في اللون. يتم إنتهاء تفاعل ركيزة الإنزيم بإضافة محلول حمض الكبريتيك، ويتم قياس تغير اللون باستخدام مطياف ضوئي بطول موجة 450 نانومتر \pm 10 نانومتر. يتم بعد ذلك تحديد تركيز Dog CRP في العينات عن طريق مقارنة درجة العتمامة OD للعينات بالمنحنى القياسي.

• طريقة العمل:

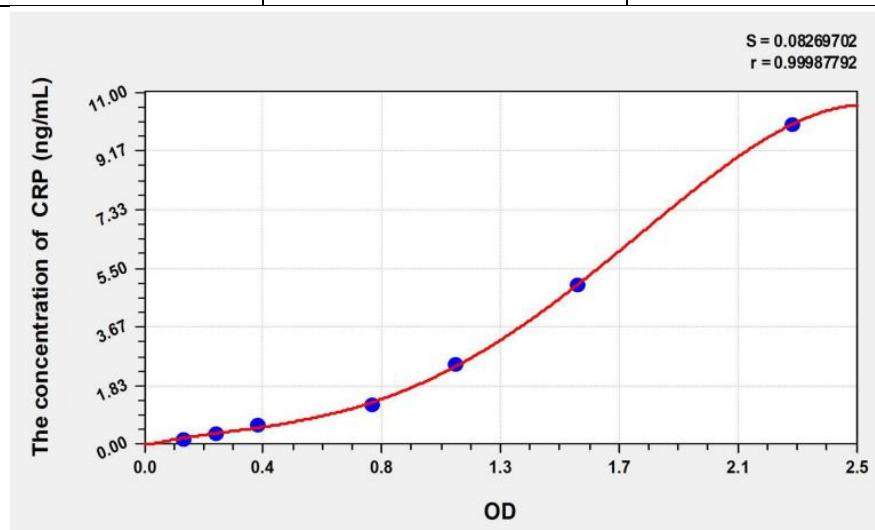
1. تم تحديد الحفر للمحلول القياسي المخفف والعينة الفارغة والعينة. بعدها تم إعداد 7 حفر للمحلول القياسي وحفرة واحدة للعينة الفارغة. بعده تم إضافة 100 ميكرولتر من كل من محلول العمل القياسي، أو 100 ميكرولتر من العينات في الحفر المناسبة. بعدها تم تغطيتها بغطاء اللوحة. ثم تم التحضين لمدة 80 دقيقة عند 37 درجة مئوية.
2. تم سكب السائل من كل حفرة. بعدها تم سحب المحلول وغسله بـ 200 ميكرولتر من محلول الغسيل 1 \times لكل حفرة وتركه لمدة 1-2 دقيقة. ثم تم إزالة السائل المتبقى من جميع الحفر تماماً عن طريق تثبيت اللوحة على ورق ماص. وبعدها تم غسلها بالكامل 3 مرات. بعد الغسلة الأخيرة، تم إزالة أي محلول غسيل متبقى عن طريق الشفط أو التصفية.
3. تم إضافة 100 ميكرولتر من محلول عمل الأجسام المضادة البيوتينية لكل حفرة، وتم تغطية الحفر بغطاء اللوحة وتحضينها لمدة 50 دقيقة عند 37 درجة مئوية.
4. تم تكرار عملية الشفط والغسل 3 مرات إجمالاً كما هو موضح في الخطوة الثانية.
5. تم إضافة 100 ميكرولتر من محلول Streptavidin-HRP العامل إلى كل الحفر، وتم تغطية الحفر بمانع تسرب اللوحة. تم تحضينها لمدة 50 دقيقة عند 37 درجة مئوية.
6. تم تكرار عملية الشفط والغسل 5 مرات إجمالاً كما هو موضح في الخطوة الثانية.
7. تم إضافة 90 ميكرولترًا من محلول ركيزة TMB إلى كل الحفر. وتم تغطيتها بغطاء لوحة جديد. واحتضنها لمدة 20 دقيقة عند 37 درجة مئوية (لا تتجاوز 30 دقيقة) في الظلام. إذ سيتحول السائل إلى اللون الأزرق عند إضافة محلول ركيزة TMB. بعدها تم تسخين قارئ اللوحة الدقيقة لمدة 15 دقيقة تقريرياً قبل قياس درجة العتمامة OD.
8. تم إضافة 50 ميكرولترًا من محلول الإيقاف Stop Reagent إلى كل الحفر. بعدها سيتحول السائل إلى اللون الأصفر بإضافة محلول الإيقاف. ثم تم مزج السائل عن طريق النقر على جانب اللوحة. وإذا لم يظهر تغير اللون بشكل موحد، فيجب أن يكون ترتيب إدخال محلول الإيقاف هو نفسه ترتيب إدخال محلول الركيزة TMB.

9. تم مسح أي قطرة ماء وبصمة إصبع على الجزء السفلي من اللوحة، والتأكد من عدم وجود فقاعات على سطح السائل. ثم تم تشغيل قارئ اللوحة الدقيقة وإجراء القياس عند 450 نانومتر على الفور.

• حساب النتائج:

تم حساب متوسط القراءات المكررة لكل من العينات القياسية والعينات الضابطة والعينات وتم طرح متوسط الكثافة الضوئية القياسية الصفرية. ثم تم إنشاء منحنى قياسياً مع تركيز CRP للكلاب على المحور y والامتصاص على المحور x، وتم رسم منحنى مناسب عبر النقاط على الرسم البياني. وبعدها إذا تم تخفيف العينات، فيجب ضرب التركيز المقصود من المنحنى القياسي بعامل التخفيف. باستخدام بعض برامج الرسم البياني.

| درجة العتمة المصححة | درجة العتمة | التركيز نانوغرام/مل |
|---------------------|-------------|---------------------|
| 2.313 | 2.401 | 10 |
| 1.548 | 1.636 | 5 |
| 1.114 | 1.202 | 2.5 |
| 0.813 | 0.901 | 1.25 |
| 0.408 | 0.496 | 0.63 |
| 0.259 | 0.347 | 0.32 |
| 0.142 | 0.23 | 0.16 |
| 0.000 | 0.088 | 0 |



Abstract

This experiment was designed to study the efficiency of repairing urinary bladder damage with acellular bovine pericardium, either alone or with platelet-rich fibrin either alone or with platelet-rich fibrin. The current study included 18 adult local breed dogs from male animals only, in which a full-thickness circular excisional wound in urinary bladder (3 cm diameter) was made. Then the animals were divided into two equal groups (9 animals for each), the first group of acellular bovine pericardium: in which the bladder was grafted with acellular bovine pericardium graft with a diameter of (4 cm) without any additional treatment, and the second group, acellular bovine pericardium with platelet-rich fibrin: in which the bladder was grafted with acellular bovine pericardial patch with the addition of platelet-rich fibrin.

The healing process of the grafts with the bladder tissue was followed up by conducting a clinical examination of the animals within 45 days after the operation and conducting a biochemical examination to estimate the amount of urea, creatinine and C-reactive protein for the periods zero, 3, 7 and 15 days after the operation, in addition to conducting radiological examination for periods 7, 15, 30 and 45 days after the operation, as well as conducting a macropathological examination of the graft site for periods 15, 30 and 45 days after the operation. Histopathological examination of samples taken from the graft site was also performed, in addition to immunohistochemistry to detect vimentin and vascular endothelial growth factor for periods 15, 30 and 45 after surgery.

The clinical results showed no rejection of the acellular bovine pericardium grafts in both groups and no urine leakage or graft acceptance failure at the graft site. While the biochemical examination showed an increase in the level of urea, creatinine and C-reactive protein during a

period of 3 and 7 days after the operation, especially in the first group. While the radiological examination indicated an improvement in the healing process of pericardial grafts with bladder tissue, this improvement was better in the second group compared to the first group. While the macroscopic pathological examination showed the formation of adhesions in the first group and better fusion of pericardial grafts with the bladder in the animals of the second group, while the histopathological examination showed that the healing process was better in the second group compared to the first group, through the decrease of inflammatory cells infiltration and increase the formation of granulation tissue and the speed of its maturity, and the speed of union of acellular bovine pericardium grafts with the bladder tissue. Immunohistochemistry examination of vimentin and vascular endothelial growth factor showed a high level of this factor during the periods 15, 30 and 45 in both groups, and the vascular endothelium growth factor was higher in the second group compared to the first group.

We conclude from this study that the use of acellular bovine pericardial patches is efficient in grafting the bladder and treating bladder damage, whether alone or with platelet-rich fibers, and that the addition of fibrin to acellular bovine pericardial patches has helped to integrate these patches with the bladder tissue and worked to improve and accelerate the healing process.

Repairing of Urinary Bladder Injury with an Acellular Bovine Pericardium Membrane and Platelet Rich Fibrin in Dogs

A Thesis Submitted
By
Sohaib Mohammad Amer Hamid Abdullah

To
The Council of the College of Veterinary Medicine
University of Mosul
In
Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Master of Science
In
Veterinary Medicine / Veterinary Surgery

Supervised by
Assistant Professor
Dr. Fouad Muyad Mohammed Saied

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



Repairing of Urinary Bladder Injury with an Acellular Bovine Pericardium Membrane and Platelet Rich Fibrin in Dogs

Sohaib Mohammad Amer Hamid Abdullah

MSc/Thesis
Veterinary Medicine / Veterinary Surgery

Supervised by
Assistant Professor
Dr. Fouad Muyad Mohammed Saied