

MARIA KATKIEWICZ, SYLWESTER ZAJĄC*, ZDZISŁAW BORYCZKO*

Biopsja błony śluzowej macicy klaczy – metoda diagnostyczna w patologii rozrodu

Katedra Patologii, *Katedra Rozrodu Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

Endometrial biopsy in mares – a diagnostic method in the pathology of reproduction

Endometrial samples were taken by means of biopsy from 28 infertile mares. In 15 mares lesions typical for *endometrosis* were found. Fibrosis was observed in stroma and blood vessel walls as well as changes in glandular structure and function caused by cysts and glandular nest formations. It seems that the changes observed were not only of an inflammatory origin, but reflected hormonal and immunological disorders located in other organs of the body.

Celem pracy było przedstawienie walorów diagnostycznych biopsji błony śluzowej macicy w diagnostyce niepłodności klaczy. Problem niepłodności klaczy, pomimo ogromnego postępu wiedzy w zakresie endokrynologii, metod diagnostycznych oraz terapii nie został do końca rozwiązany. Pierwsze informacje na temat wykorzystania biopsji błony śluzowej macicy w diagnostyce schorzeń układu rozrodczego klaczy ukazały się w 1941 r. W polskim piśmiennictwie fachowym pisali na ten temat Preibisch (7), Żebracki (15) i ostatnio Tischner (13), który spopularyzował powszechnie stosowaną na świecie klasyfikację stopnia uszkodzenia *endometrium* klaczy, przedstawioną przez Kenneya (4).

Według tej klasyfikacji, podstawowym kryterium w ocenie preparatów biopsyjnych jest włóknienie zrębu oraz powstawanie skupisk gruczołów, które ulegają ogniskowej hyperplazji, z następowym tworzeniem się torbieli. Kenney wyróżnia 3 kategorie zmian, z których trzecia stanowi najwyższy stopień uszkodzenia *endometrium*. Dla poszczególnych stopni nasilenia zmian zwyrodnieniowych w *endometrium*, autorzy podają w procentach prawdopodobieństwo zażrebiecia i donoszenia ciąży. Doig (1)

zmodyfikował klasyfikację podaną przez Kenneya i podzielił zmiany w *endometrium* na 4 kategorie (tab. 1).

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań biopsji błony śluzowej klaczy, które nie zażrebiły się z nieznanymi przyczynami, co najmniej przez okres jednego sezonu.

Materiał i metody

Badanie wykonano u 28 nie zażrebiających się klaczy, w wieku od 4 do 26 lat, 11 rasy arabskiej, 12 półkrwi angloarabskiej oraz 5 klaczy w typie pogrubionym, pochodzących ze Stadnin Państwowych, a także będących własnością prywatną.

Klaczki wprowadzono do poskromu, wywiązywano ogon i po opróżnieniu prostnicy z kału przeprowadzono badanie palpacyjne i ultrasonograficzne układu rodowego. W badaniu posługiwano się aparatem USG firmy Aloka 200. Następnie okolicę odbytu i sromu przemywano dokładnie 2% roztworem Biowalu i spłukiwano bieżącą wodą. Biopsję błony śluzowej wykonano kleszczami do pobierania wycinków, typu Aligator, firmy Chifa – Eskulap, według techniki opisanej przez Kenneya i Tischnera (4, 13). Klaczki na ogół akceptowały wymienione czynności i tylko w kilku przypadkach konieczne było założenie dutki nosowej. Wycinki po pobraniu utrwalano w 4% buforowanej fosforanami formalinie, a następnie zatapiano w parafinie i barwiono metodą przeglądową hematoksyliną i eozyną oraz AB/PAS wg Mowry.

W histologicznej ocenie *endometrium* brano pod uwagę aktualną fazę cyklu płciowego klaczy. Zasadą jest, że oceny dokonuje się w fazie *diestrus*, zdarza się jednak, że zachodzi konieczność wykonania badania w innej fazie cyklu i wówczas uwzględnia się zmiany w *endometrium*, charakterystyczne dla danej fazy cyklu.

Tab. 1. Zależność między stopniem zmian wstecznych w *endometrium* a prawdopodobieństwem zażrebiecia wg Kenneya i Doiga

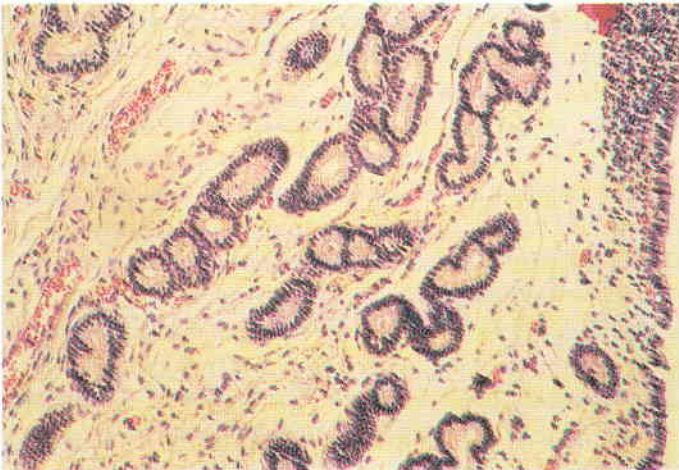
Kategoria wg Kenneya	Kategoria wg Doiga	Stopień włóknienia okołogruczołowego	Odsetek zmienionych gruczołów	Prawdopodobieństwo zażrebiecia i donoszenia ciąży
I	A	brak	< 10	70–90%
II	B	małe (< 2 warstwy włóknienia)	10–35	50–70%
	C	średnie (2–4 warstwy włóknienia)	35–60	10–50%
III	D	duże (> 4 warstwy włóknienia)	> 60	< 10%

Wyniki i omówienie

Biopsja *endometrium* 7 klaczy nie wykazała istotnych zmian strukturalnych, wskazujących na występowanie procesu chorobowego i zostały zakwalifikowane do kategorii I wg Kenneya (ryc. 1).

Wyniki badania mikroskopowego 8 klaczy wykazały obecność zmian zwyrodnieniowych w *endometrium* o stopniu nasilenia odpowiadającym kategorii II wg Kenneya. Zmiany te manifestowały się obecnością gniazd utworzonych przez gruczoły *endometrium*, zarówno w *stratum compactum* jak i *stratum spongiosum*, otoczone 2-4 warstwami utworzonymi z tkanki włóknistej. Nieliczne gruczoły tworzyły torbiele. Zrąb łącznotkankowy ulegał proliferacji małego stopnia z nielicznymi zatokami limfatycznymi (ryc. 2).

U 7 klaczy stwierdzono zmiany w *endometrium* charakterystyczne dla III kategorii wg Kenneya. Gniazda utworzone były przez hyperplastyczne gruczoły, otoczone wieloma warstwami (więcej niż 4) tkanki włóknistej (ryc. 3). Liczne gruczoły ulegały zmianom torbielowatym (ryc. 4). Tkanka łączna zrę-



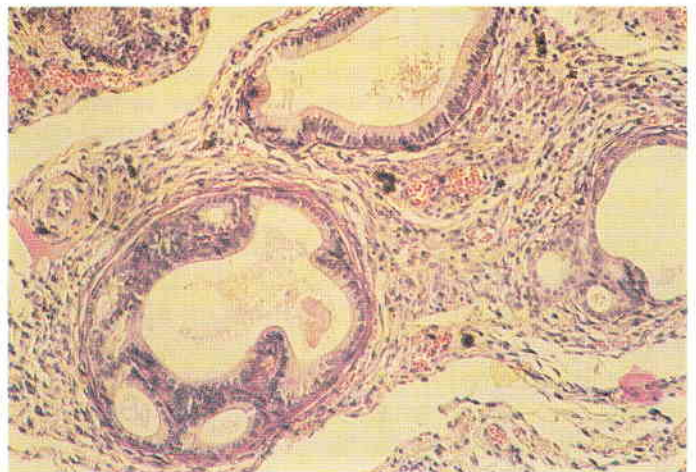
Ryc. 1. Obraz mikroskopowy biopsji *endometrium* klaczy o strukturze prawidłowej (Kenney I). Pod nabłonkiem widoczna grudka chłonna. Barwienie HE, pow. 10×10



Ryc. 2. Ogniskowa proliferacja gruczołów *endometrium* klaczy, otoczona >4 warstwami włókien łącznotkankowych (Kenney II). Barwienie PAS/AB, pow. 10×20



Ryc. 3. „Gniazdo” gruczołów *endometrium* klaczy, otoczone torebką włókien łącznotkankowych (Kenney III); w zrębie widoczne brunatne złogi hemosyderyny. Barwienie PAS/AB, pow. 10×10



Ryc. 4. Zmiany torbielowate w gruczołach *endometrium* w zaawansowanym włóknieniu zrębu, pojedyncze rozsiadane komórki monojądrzaste w zrębie oraz dwie zatoki limfatyczne. Barwienie HE, pow. 10×20

bu ulegała rozrostowi, a ponadto stwierdzano obecność licznych zatok limfatycznych (ryc. 4). Sporadycznie występowały skupiska komórek monojądrzastych, niekiedy wokół gniazd gruczołowych, a czasami okołonaczyniowo. Ściany naczyń krwionośnych *endometrium* wykazywały cechy szkliwienia.

W dwóch przypadkach w badaniu klinicznym obserwowano zmiany typowe dla śluzomacicza (ryc. 5). W tych przypadkach *endometrium* wykazywało cechy polipowatego rozrostu ze znacznego stopnia obrzękiem tkanki łącznej zrębu. W zrębie można także dostrzec liczne zatoki limfatyczne.

U 4 klaczy, liczba komórek nacieku zapalnego w tkance łącznej *endometrium* wskazywała na obecność zapalenia. W nacieku zapalnym przeważały komórki monojądrzaste.

W tab. 2 zestawiono wyniki badania wycinków *endometrium* i klasyfikację zmian w błonie śluzowej u badanych klaczy.

Badanie kliniczne wykazało zmiany u 7 klaczy. Macice klaczy, u których w badaniu histopatologicznym stwierdzono śluzomaciczne, wykazywały znaczne powiększenie rogów (do 9 cm średnicy) oraz

Tab. 2. Wyniki badania histopatologicznego biopsji *endometrium* klaczy wykazujących zaburzenia w rozrodzie (n = 28)

Liczba klaczy	Klasyfikacja zmian	<i>Endometrium</i>				Uwagi
		gruczoły S.C.	gruczoły S.S.	zrąb	naczynia	
7	I	torbiele i gniazda nieobecne, 1-2 warstwy włókniste	torbiele i gniazda nieobecne, 1-2 warstwy włókniste	brak zmian	brak zmian	-
8	II	nieliczne torbiele, nieliczne małe gniazda, 2-4 warstwy włókniste	nieliczne torbiele, nieliczne małe gniazda, 2-4 warstwy włókniste	włóknienie nieznacznego stopnia	nieznaczone włóknienie	-
7	III	liczne torbiele, liczne gniazda, <5 warstw włóknistych	liczne torbiele, liczne gniazda, <5 warstw włóknistych	włóknienie dużego stopnia	włóknienie, nieregularna <i>intima</i>	-
2	mukometra	małe nieliczne	torbiele	obrzęk dużego stopnia	włóknienie, nieregularna <i>intima</i>	rozrost polipowaty <i>endometrium</i>
4	<i>endometritis</i>	pojedyncze torbiele	pojedyncze torbiele	rozsiane, liczne komórki zapalne monojądrzaste	przekrwienie	-

zawartość płynu. Natomiast zmiany u pozostałych klaczy manifestowały się niewielkim powiększeniem rogów macicy (do 5 cm średnicy), z małą zawartością płynu (u dwóch klaczy w badaniu histopatologicznym obserwowano zmiany charakterystyczne dla III kategorii wg Kenneya, a u trzech stwierdzono *endometritis*). W trzech przypadkach w badaniu USG obserwowano torbiele ściany macicy o wielkości do 5 mm (klacze należały do III kategorii).

Znane są zespoły zmian chorobowych w błonie śluzowej macicy, które możliwe są do zdiagnozowania wyłącznie przy użyciu biopsji. Występowaniu tych zmian nie towarzyszą bowiem objawy kliniczne, które możnaby stwierdzić przy użyciu obecnie stosowanych metod diagnostycznych (badania: USG, cytologiczne, bakteriologiczne), a jedynym objawem jest nie zażrebienie się klaczy.

Przewaga zmian wstecznych w opisywanym typie schorzenia błony śluzowej klaczy stanowiła podstawę do wprowadzenia nowego mianownictwa okre-

ślającego to schorzenie. W miejsce dawniej stosowanego określenia *endometritis chronica degenerativa* (przewlekłe zwyrodniające zapalenie błony śluzowej macicy) wprowadzono termin *endometrosis* (3). Termin ten jest w pełni uzasadniony, gdyż nawet w zaawansowanych stanach włóknienia błony śluzowej, nie stwierdza się komórek nacieku zapalnego lub są one nieliczne. *Endometrosis* występuje jako zmiana gerontologiczna, obserwowana u starych 15-, 17-letnich klaczy w procesie starzenia, natomiast stwierdzenie tego typu zmian u młodszych klaczy jest wyrazem schorzenia macicy.

W obszernym piśmiennictwie dotyczącym problemu *endometrosis* u klaczy (2, 3, 5, 11) nie podano etiopatogenezy tego schorzenia. Niewątpliwie *endometrosis* może być następstwem przebytego zapalenia błony śluzowej macicy, lecz może także rozwinąć się jako skutek działania bliżej nie określonych czynników chorobowych. Hormony płciowe modulują aktywność macicy działając za pośrednictwem swoistych receptorów obecnych w komórkach błony śluzowej i warstwy mięśniowej (14). Obserwowane w badaniach własnych zmiany mogą więc mieć podłoże hormonalne. Włóknienie zrębu oraz ścian naczyń krwionośnych, a także zmiany w strukturze i funkcji gruczołów przy endometrozie, można porównać do analogicznych zmian obserwowanych w innych narządach, podlegających również modulacji przez hormony płciowe, takich jak np. prostata czy gruczoł mlekowy. W obu tych gruczołach, w odpowiedzi na określone zaburzenia hormonalne można obserwować proces włóknienia zrębu oraz zmiany w budowie gruczołowej (10).

Z obserwacji klinicznych Kenneya oraz innych autorów (2, 8, 12) wiadomo, że należy z dużą ostrożnością rokować o całkowitej niepłodności klaczy, wyłącznie na podstawie wyników badania histo-

Ryc. 5. Mukometra *endometrium* klaczy. Barwienie PAS/AB, pow. 10×10

patologicznego biopsji *endometrium*. Dowodem na to, że zmiany zwyrodnieniowe w *endometrium* mogą być w pewnym stopniu odwracalne, stanowią rezultaty terapii uzyskane po zastosowaniu złuszczenia błony śluzowej wykonanej różnymi metodami (5, 6, 9). Pozytywne skutki terapii z zastosowaniem kuretażu mogą dowodzić, iż bodziec chorobowy, który wywołał zmiany zwyrodnieniowe w *endometrium* działał okresowo i był przemijający.

W celu wyjaśnienia istoty patogenezy *endometrosis* klaczy konieczne są dalsze badania kompleksowe, które uwzględniałyby występowanie okresowych zaburzeń hormonalnych.

Piśmiennictwo

1. Doig P. A., McKnight J. D., Miller R. B.: Can. Vet. J. 22, 72, 1981.
2. Held J. P., Rohrbach B.: J. Rep. Fert. Suppl. no. 44, 698, 1991.

3. Kenney R. M.: Eq. Vet. J. 25, 184, 1993.
4. Kenney R. M.: J. Am. Vet. Med. Ass. 172, 241, 1978.
5. Ley W. B.: Vet. Med. 648, 1994.
6. Ley W. B., Bowen J. M., Sponenberg D. P., Lessard P. N.: Theriogenology 32, 262, 1989.
7. Preibisch J.: Medycyna Wet. 17, 257, 1961.
8. Ricketts S. W.: Equine Vet. J. 7, 102, 1976.
9. Ricketts S. W.: Equine Vet. J. 17, 324, 1985.
10. Robbins C. K.: Pathologic Basis of Disease. W. B. Sanders Company Philadelphia 1989, 1186-1188.
11. Schoon H. A., Schoon D., Klug E.: Pferdeheilkunde 8, 355, 1992.
12. Slusher S. H.: Am. Ass. Eq. Pract. 31, 171, 1985.
13. Tischner M., Mijares F. G.: Medycyna Wet. 29, 129, 1983.
14. Watson E. D., Skolnik S. B., Zanecovsky H. G.: Theriogenology 38, 575, 1992.
15. Zembracki A.: Medycyna Wet. 19, 464, 1963.

Adres autora: prof. dr hab. Maria Katkiewicz, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

WANDA BORZEMSKA, EWA KARPIŃSKA, EWA ŚWIERCZEWSKA***,
GRAŻYNA KOSOWSKA, PIOTR SZELESZCZUK, HENRYK MALEC****,
ELŻBIETA MALICKA*, MARIAN BINEK**, JERZY NIEDZIÓŁKA*****

Wpływ dimeru lizozymu (Lydium KLP) na zarodki kurze

Zakład Chorób Drobiu Katedry Epizootiologii, *Katedra Patologii,

**Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

***Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt Wydziału Zootechnicznego SGGW, ul. Przejazd 4, 05-840 Brwinów

****Zakład Consultingu i Usług Drobiarskich, ul. Mikołajczyka 11/14, 03-984 Warszawa

*****Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska Wiejskiego Wydziału Zootechnicznego AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Summary

The influence of the lysozyme dimmer (Lydium KLP) on chick embryos

After administration of the preparation (Lydium KLP) to the egg white of six-day-old embryos, its influence on the following parameters was studied: time of death and pathological picture of the embryo, brooding and hatching diagram, percentage of hatched chicks and biochemical indicators, the pathomorphological picture and immunological reactivity after hatching.

The preparation was found to be not harmful; it caused neither pathological disturbances nor was it teratogenic. The fact that dead embryos did not use the egg white ($p \leq 0.001$) and that the time from the pipping of the shell to hatching was minimally extended could have been the result of the embryos classifying the preparation as heterospecific. A positive influence was determined on the postnatal immunologic reactivity.

Lizozym (muramidaza) zawarty w białku jaja jest naturalnym, wysoko aktywnym składnikiem prze-

znaczonym do ochrony zarodka w trakcie embriogenezy. Jego wielorakie funkcje biologiczne, z których najlepiej poznano działanie bakteriobójcze (3), zostały szeroko omówione przez Trziszkę (10) oraz przez Trziszkę i wsp. (11). Natomiast wprowadzenie dimeru lizozymu pod nazwą handlową Lydium KLP (NIKA) do lecznictwa weterynaryjnego (5) rozpoczęło nowy etap zastosowania naturalnie ukierunkowanej immunomodulacji u zwierząt. Równocześnie preparat ten znajduje zastosowanie u ptaków jako specyfik poprawiający efekty produkcyjne w wychowie kurcząt (7) a także wspomagający w terapii pasterelozy indycząt (6). Z obserwacji własnych jak i obserwacji terenowych wiadomo, że stosowanie go w iniekcji u kogutów z przewlekłym, gronkowcowym zapaleniem stawów przyniosło pozytywne wyniki. Wykazano także jego działanie immunomodulacyjne u kurcząt w stosunku do odporności humoralnej (8) i komórkowej (9), co może tłumaczyć powyższe sukcesy terapeutyczne. Lizozym w stosunku do zarodka jest substancją homologiczną. Jak dotąd przeprowadzano na embrionach jedynie prace genetyczne mające na celu wzmożenie jego wydzie-