

# **Állatorvostudományi Egyetem**

Állattenyésztési, Takarmányozási és Laborállat-tudományi Tanszék

## **Tenyészkanca meddőségének klinikopatológiai vizsgálata**

TDK-dolgozat

Készítette: Angyal Eszter V. évf. hallgató

Témavezetők:

Dr. Vincze Boglárka tanszéki állatorvos  
Állattenyésztési, Takarmányozási és Laborállat-tudományi Tanszék

Dr. Baska Ferenc egyetemi docens  
Patológiai Tanszék

Budapest, 2016

## TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	3
2. IRODALMI ÖSSZEFOGLALÓ.....	4
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	21
4. EREDMÉNYEK.....	25
5. MEGBESZÉLÉS.....	30
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	35
7. SUMMARY.....	36
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	37
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	39

## Rövidítések jegyzéke

WBC	white blood cell count (fehérvérsejt-szám)
RBC	red blood cell count (vörösvértest-szám)
HGB	hemoglobin (hemoglobin)
HCT	hematocrit (hematokrit)
MCV	mean corpuscular volume (átlagos vörösvértest térfogat)
MCH	mean corpuscular hematocrit (átlagos vörösvértest hematokrit)
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration (átlagos vörösvértest hemoglobin koncentrációja)
PLT	platelet (trombocita szám)
NEU%	neutrofil granulocita %
LYM%	limfocita %
MON%	monocita %
EOS%	eozinofil granulocita %
BAS%	basofil granulocita %

# 1. Bevezetés

A lótenyésztés gazdaságosságát alapjaiban határozza meg a nem vemhesíthető kancák kiszűrése, hiszen a lovak tartása és takarmányozása drága.

A meddőség egyik leggyakoribb oka, az endometrium megbetegedése, tenyészkancákban a termékenységi potenciál jelentős csökkenését eredményezi. A pontos diagnózis a kezelés és a sikeres menedzsment előfeltétele. A precíz kórmeghatározásban nyújt segítséget az endometrium biopszia vizsgálata, hiszen segítségével értelmezhetőek az endometrium szövettani, illetve kórszövettani jellegzetességei.

Az endometrium biopszia több mint 35 éve alapvető eszköz a kancák szaporodásbiológiai vizsgálata terén, melynek segítségével elemezhető a méh egészségi állapota. Az elmúlt két évtizedben számos új diagnosztikai módszert fejlesztettek ki. Ennek ellenére még mindig a haematoxylin-eosin festésre alapozott kórszövettani vizsgálat használatos elsődleges metódusként az endometrium vizsgálatával kapcsolatban. Fontos megjegyezni, hogy ugyan az endometrium biopszia elsősorban a diagnózis felállításában nyújt segítséget, hasznos információt nyújthat kórjóslati szempontból is. Ez azt jelenti, hogy előre megbecsülhető, hogy milyen eséllyel lesz képes a kanca termékenyülni, a vemhességet fenntartani, és élettani időben életképes csikót a világra hozni. A biopsziás vizsgálat fő indikációi között szerepel még a meddő kancák, a tenyésztési szempontból problémás kancák, illetve azoknak az anyaállatoknak a vizsgálata, melyek kórtörténetében szerepel a vetélés. E módszer fontos szerephez juthat még az adásvételi vizsgálatok során is.

Tehát az endometrium biopszia egy hatékony és biztonságos módszernek tekinthető, amely segítséget nyújt az állatorvosnak, hogy a lehető legracionálisabb terápiás módszert válassza. Azonban lényeges szem előtt tartani azt, hogy a többi módszerhez hasonlóan a biopszia sem tud választ adni az összes kérdésre és érdemes más diagnosztikai technikákkal együtt alkalmazni a differenciál diagnózis kialakítása érdekében.

## 2. Irodalmi összefoglaló

Az endometrium biopszia egyike a legfontosabb kiegészítő vizsgálatoknak, melyekkel a kancák méhének egészsége vizsgálható. Ugyan az ultrahang, a transzrektális tapintás és más technikák is hasznos információkkal szolgálhatnak, az endometrium biopszia révén nyert szövetminta kórszövettani vizsgálata maradt az endometrium elemzésének fő kiindulási pontja.

Az endometrium biopszia révén nyert szövettani minták elemzéséhez elengedhetetlen a méh szerkezetének szövettani ismerete (SNIDER et al., 2011). A méh tulajdonképpen fala 6 egymással összefüggésben levő komponensből épül fel:

- endometriális *epithelium*
- superficiális stroma (*stratum compactum*)
- mirigyek és a mirigyek epitheliuma
- stroma (középső és mély endometrium)
- erek (artériák, vénák és nyirokerek)
- myometrium és nagy erek

A luminális epithelium az a funkcionális felület, mely a méhet elhatárolja a külvilágtól. A vemhesség kezdetekor ez a felszín közvetlenül hozzákapcsolódik microvillusok segítségével a placentális *trophoblast* sejtekhez (SCHLAFER, 2007). A *stratum compactum* közvetlenül az epitheliális réteg alatt helyezkedik el (CARLETON, 2006). Ezt a réteget *superficialis interstitiumnak* is nevezik és erősen vaszkularizált, következésképpen az exocytosis és a gyulladós sejtek felhalmozódásának fontos helyszíne (SCHLAFER, 2007). Ennél a rétegnél mélyebben található a *stratum spongiosum*, itt lelhetőek fel a mirigyek ágai (CARLETON, 2006). A luminális hámmal együtt a mirigyek hámrétege összetett biológiai váladékot termel és szekretál (ez a méhben levő folyadék, *histotroph*). Ezek termelése függ a ciklus szakaszától és a vemhességi státusztól. Az endometriális *stroma* feladata a parenchymalis elemek (mirigyek, erek) támogatása az endometrium középső szintjeitől a legmélyebb rétegekig. Gyakran összefüggésbe hozzák a fibrotikus elváltozásokkal, mely hatással lehet a mirigyek működésére és a termékenységre (SCHLAFER, 2007). Az endometrium tápanyagokkal való ellátását a vérerek rendszere biztosítja. Ez különösen

fontos az embrió fejlődésének szempontjából. Doppler ultrahangos vizsgálat segítségével megállapították, hogy a méh vérellátása kancákban nem csak a vemhesség alatt, hanem az ösztrusz és diösztrusz során is változik (OTZEN et al., 2016). Az előbb leírtaknak megfelelően az endometriumot különböző méretű artériák, vénák és nyirokerek szövik át. A luminális epithelium alatt terjedelmes kapilláris-hálózat található. A myometrium két réteg simaizomból, idegekből, nagy artériákból, vénákból, nyirokerekből áll és vékony savóshártya réteg borítja. A biopsziás mintákban általában csak kis mennyiségű myometrium szövet található, de ettől függetlenül fontos szerepe van a megfelelő vérellátás biztosításában és a vér, valamint a nyirok hatékony elvezetésében (SCHLAFER, 2007).

### 2.1. A biopsziás műszer használata, a mintavétel módja és a minta feldolgozása

A kezdeti időkben Brandt az úgynevezett Tobler-féle műszert vagy a fiberoszkópos vizsgálatot részesítette előnyben. Az előbbit a szakemberek manapság már nem ajánlják, míg az utóbbi egyértelműen a flexibilis endoszkópok előfutára volt. Yeoman rektális biopsziás fogója több, mint 40 évvel azelőtt jelent meg, hogy a kezdeti sikerek a kancák endometrium biopsziája terén megszülettek volna. Ricketts ezt a biopsziás fogót részesítette előnyben. Hosszúsága 40 cm, valamivel rövidebb az optimálisnál, viszont a célnak megfelelő szöveti mintát biztosít, mely körülbelül 2 cm x 1 cm méretű (RICKETTS, 1975). Ennek a felépítése nagyon hasonló a Jackson-féle biopsziás fogóéhoz, mely manapság használatos (SNIDER et al., 2011). Ennek hosszúsága 60 cm. Ricketts szerint azonban ez a műszer gyengébb minőségű szövettani mintát biztosít (RICKETTS, 1975).

A kancát a művelet elvégzéséhez megfélekezve kell tartani csakúgy, mint egy általános rektális vizsgálatnál. Ezután következik a végbélben levő bélsár kézzel való eltávolítása, majd az állat farkát be kell pólyálni és el kell tartani az útból. Legelőször el kell végezni az állat fizikális vizsgálatát, majd a belső nemi szervek ellenőrzése következik transzrektális tapintás révén. Meg kell bizonyosodni arról, hogy nincs-e a méhben tapintható elváltozás. Ezt követően a külső nemi szervek alapos mosása szükséges, melyet háromszor kell megismételni, majd ezt a tájékot le kell öblíteni meleg vízzel. A vizsgáló a következőkben steril gumikesztyűvel a kezén vizsgálja a nemi szerveket. Első lépésben tamponmintát vesz az endometriumról a tenyésztéshez. A

biopsziás fogó végét zárt helyzetben kell tartani, majd ilyen módon közelíteni vele a méhnyak külső szájához és az ujjak segítségével tovább kell irányítani a méhnyakon keresztül. A továbbiakban érdemes a cervixet enyhén hátrahúzni, majd csak ezután továbbtolni a műszert mélyebben a méhbe. Ezután a vizsgáló kezét a vaginából kihúzza, majd a rectumba helyezi, amelyen keresztül tapintható a műszer és a kívánt helyzetbe mozdítható. Az eszközt úgy kell pozicionálni a mintavétel előtt, hogy az a nyitott végével párhuzamosan helyezkedjen az endometrium redőivel. Helytelen használat esetén az eszközzel lehetséges a méhből teljes vastagságú mintát venni, ami kontraindikált. A mintavétel helyét tekintve a szakértők véleménye megoszlik. Egyesek szerint, ha tapintással helyi rendellenesség nem észlelhető, akkor az a legjobb hely a mintavételre, ahol a méhszarvak kapcsolódnak a méhtesthez (SNIDER et al., 2011). Ricketts és Kenney szerint viszont érdemesebb az egyik méhszaru felénél végezni a minta gyűjtését, ez az esetek többségében reprezentatív az egész endometriumra nézve (RICKETTS, 1975). Általában dorzálisan történik a mintaszerzés, de ettől függetlenül a ventrális mintagyűjtés is teljesen megfelelő. A régebbi tanulmányokban azt olvashatjuk, hogy egy szövettani minta reprezentálja az egész méh egészségi állapotát (OVERBECK et al., 2013). Egy kísérletben a méh 6 különböző helyéről gyűjtöttek biopsziás mintát és azt találták, hogy egyetlen minta általánosan reprezentatív a méh egészére nézve, ha az endometriumban bekövetkező fő elváltozásokat (gyulladás, fibrózis) tekintjük (CARD et al., 2010). Figyelemre méltó az a tény, hogy egyetlen biopsziás minta az endometrium teljes felületének 0,1 vagy esetleg 0,2%-át reprezentálja (SNIDER et al., 2011).

A mintagyűjtés után a szövetdarabot finoman el kell távolítani a biopsziás fogóból egy steril tű segítségével, majd vagy Bouin-féle oldatba vagy 10%-os pufferelt formalinba kell helyezni (CARLETON, 2006). Ez azért fontos, hogy a biopsziás minta kórszövettanilag feldolgozható legyen. A legkorábbi leírásokban általános fixálóként a 10%-os pufferelt formalin szerepel. Ezzel a szerrel kapcsolatban ma megoszlik a szakemberek véleménye. Kenney a koncentrációjának és só-összetételének változékonysága miatt kritizálta a formalint. Ezt azzal indokolta, hogy ezek az eltérések hátrányosan befolyásolhatják a minta értékelését. A legtöbb szakember a Bouin-féle fixálószer ajánlja, mely pikrinsavat tartalmaz. Ez megkeményíti a szöveteket és jobban megőrzi a sejtes elemeket. A Bouin-féle módszer esetén 24 órán belül meg kell történnie a szövet eltávolításának, valamint vagy 70%-os alkoholba vagy 10%-os formalinba kell helyezni, azért, hogy meg lehessen előzni a szövetek túlkeményedését.

Azonban kissé aggasztó az tény, miszerint ennek a fixálószernek egészség-károsító hatása lehet, illetve használat után a veszélyes hulladékokra vonatkozó protokolloknak megfelelően kell eljárni (SNIDER et al., 2011). A fixálást követi a paraffinba való beágyazás, majd a metszés (CARLETON, 2006). Az endometriumból vett szövettani mintákat rutinszerűen hematoxin-eozinnal festik meg. Ez a módszer kellőképpen kontrasztos és részletgazdag képet biztosít a minták túlnyomó részénél. A PAS és az alciankék-festés a mirigyek lumenében és az extracelluláris mátrixban előforduló poliszacharidban gazdag anyagokat emelik ki (SNIDER et al., 2011). Nagyon lényeges a körültekintés a mintavétel és a feldolgozás közben, mert egyébként műtermékek keletkezhetnek. Helytelen kezelés esetén károsodhat a luminális *epithelium*, a mirigyek tubulusai pedig invaginálódhatnak (RICKETTS, 1975).

## 2.2. Indikációk és kontraindikációk

Két fő indikációt érdemes megemlíteni. Az egyik magába foglalja minden olyan kóros elváltozás részletes vizsgálatát, mely érinti az endometriumot vagy az endometrium sérülésének következménye. A másik pedig a termékenységi potenciál meghatározása. Az egyedüli kontraindikáció a vemhesség. Ricketts egyik cikkének konklúziója az, hogy mivel a biopszia egy egyszerű és biztonságos technika, ezért érdemes minden olyan esetben elvégezni a nem vemhes állaton, amikor a méh megbetegedése feltételezhető (RICKETTS, 1975). Ajánlatos elvégezni az endometrium biopsziát genitális műtéteket megelőzően, egészen pontosan rectovaginális hasított sebek és *cervicalis* szakított sebek esetén, hiszen ilyen esetekben az endometrium sérülése is bekövetkezhet. Magzati membránok visszamaradása esetén is érdemes biopsziás mintát gyűjteni. Akkor is célszerű elvégezni ezt a vizsgálatot, ha a kanca nem sárlik a tenyészszezon alatt (CARLETON, 2006).

1978-ban Kenney a kancák endometriális biopsziáit 3 kategóriába sorolta (I, II és III) főként a gyulladás és a fibrózis alapján. Az I-es kategória klinikailag jelentéktelen változásokra utal, míg a III-as fokozatnál nagy mértékű patológiás elváltozás tapasztalható. Kenney osztályozási rendszere függ a gyulladás mintázatától, típusától, kiterjedésétől és súlyosságától, valamint a fibrózistól, ugyanakkor figyelembe vette az ösztrozt, az állatorvos fizikális, mikrobiológiai és endokrinológiai vizsgálatának eredményeit is a minta szövettani értékelése előtt. Ezeknek a faktoroknak és megállapításoknak az összessége az úgynevezett epikrízis. Kenney leírása szerint, míg a



biopsziás minta csak az endometriumra vonatkozik, az epikrízis adatainak segítségével lehetőség nyílik annak megbecslésére, hogy kanca képes-e termékenyülésre és a csikó kihordására.

Manapság a nemzetközileg elfogadott osztályozási séma a módosított Kenney-Doig-féle rendszer (1. táblázat), melyet először 1986-ban publikáltak. Megőrizték benne a Kenney által előzőleg meghatározott I-es és III-as kategóriát, de négy fontos pontban különbözik az általa kialakított sémától. Az egyik fontos eltérés az, hogy a II-es kategóriát felosztották IIA és IIB kategóriákra. Tisztázták a specifikus sérülések additív hatását. Hozzáadták a terméketlen éveket a nem szövettani paraméterekhez, valamint a tenyészszезon alatt bekövetkező endometriális atrófiát belefoglalták a IIA kategória kritériumai közé. A legfőbb változtatásnak a II-es kategória felosztása tekinthető. Feltehetőleg ez Kenney javaslata volt, hiszen az ő 1978-as 3 kategóriás rendszerében széles rés volt a II-es és III-as fokozatok között a kórjósati százalékokat tekintve. Két dolgot érdemes még kiemelni a módosított Kenney-Doig-féle rendszerből. Az egyik az, hogy a kórelőzményben szereplő 2 éves terméketlenség a következő gyengébb kategóriába való besorolást vonja maga után. A másik pedig, hogy az előzőleg felfedezett sérülések javulása eggyel jobb kategóriába sorolást eredményez.

Kategória	Főbb elváltozások	Becsült csikózási arány (%)
I.	egészséges endometrium, gyulladás vagy fibrózis elvértve látható	80-90
IIA	enyhe, disszeminált gyulladás, enyhe fibrózis; endometriális atrófia a kései tenyészszезonban	50-80
IIB	közepesen súlyos disszeminált gyulladás; közepes fibrózis	10-50
III	súlyos, irreverzibilis elváltozások gyulladással és fibrózissal	<10

**1. táblázat** Endometriális biopszia-kategóriák és prognózisok kancákban (Kenney és Doig után, 1986)

### 2.3. A biopszia ivari ciklusra gyakorolt hatása

Annak ellenére, hogy az endometrium biopszia kismértékben invazív és kis sebészeti beavatkozásnak számít, lehetnek következményei, melyek közül az enyhe vérzés a leggyakoribb (SNIDER et al., 2011). Az intrauterin folyadék minta, a citológiai, valamint a tenyésztésre küldendő minta vételét éppen ezért a biopszia elvégzése előtt kell végrehajtani, hogy a biopsziás mintagyűjtés során keletkező vérzés

ne kontaminálja a mintákat (CARD et al., 2010). Figyelemre méltó az a megfigyelés, miszerint a kanca tenyésztését követően elvégzett biopszia nem gyakorol számottevő negatív hatást a szaporodási teljesítményre. A szakirodalmi adatok alapján elmondható, hogy az endometrium biopsziának egy sor komplex endokrin hatása lehet a kancára. A naponként végzett mintavétel ivarzási viselkedés megjelenését eredményezi. Ovariectomián átesett kancák esetében a biopsziát követően szintén az ivarzás jeleit fedezték fel. Ezek a megfigyelések azt támasztják alá, hogy a progeszteron ezekben az esetekben nem petefészek, hanem méh eredetű volt (SNIDER et al., 2011). Az ovulációt követő negyedik napon végzett biopszia akut gyulladós reakciót eredményez, melynek következtében idő előtti *luteolysis* megy végbe. A luteolysist a plazma progeszteron szintjének hirtelen csökkenésén keresztül lehet detektálni, valamint ilyenkor korai ösztrozis is megfigyelhető.

#### 2.4. Az életkor és az ellések számának hatásai

Számos tanulmány alapján párhuzam vonható az előrehaladott életkor és a terméketlenség, valamint az idősebb kor és az endometriális fibrózis között. Gordon és Sartin kutatásai rávilágítanak arra, hogy az idős kor, a kórelőzményben szereplő vetelés, a kedvezőtlen gáttájéki konformáció, illetve a fibrózis mértéke is összefüggésben áll a termékenység csökkenésével. Doig megfigyelései alapján elmondható, hogy a vetelések számának növekedése közvetlenül kapcsolatban áll az endometriális fibrózis súlyosbodásával. Egy másik tanulmány eredményei azt bizonyítják, hogy az életkorhoz köthető változások a korábbi ellések számától függetlenül játszódnak le, valamint a korai vetelés sem hozható összefüggésbe a paritással. Megfigyelések szerint a magzat korai elvesztése kapcsolatban áll a biopsziás minta kategóriájával (SNIDER et al., 2011). Waelchli kísérletei alapján azt a következtetést vontta le, miszerint önmagában az idős kor nem, de az életkorral összefüggésbe hozható endometriális elváltozások felelőssé tehetőek a csökkent termékenységért (WAECHLI, 1990). Az öregedés elmaradhatatlan következménye a mirigyek degeneratív elváltozása és a stromális fibrózis kialakulása. Ezek előbb-utóbb endometriális atrofiahhoz vezetnek (SCHLAFER, 2007). Ricketts szerint az endometrium évek során bekövetkező "elhasználódása" a természetes fedeztetéskor és elléskor a fertőző ágenseknek való ismételt kitételnek köszönhető. Ennek a folyamatnak a következtében alakulnak ki különböző típusú sérülések az endometriumban (WAECHLI, 1990). Az életkornak az endometrium

egészségére és funkciójára gyakorolt hatása jobban megérthető az endometrium érhálózatának vizsgálata révén. Oikawa világított rá arra, hogy az idősebb kancák ereinél szignifikáns változások figyelhetőek meg (SNIDER et al., 2011).

#### 2.5. Az ivarzási ciklus, az évszakok és a gyulladás hatása

Számos tanulmány kihangsúlyozza a normális ivari ciklus és az éves ciklikusság hatását az endometrium szerkezetére. Az 1970-es években jelentős kutatások folytak a ciklus során bekövetkező szövettani változásokkal kapcsolatban. Jól látható különbségek voltak az endometriális sejtek között a ciklus szakaszától függően (SNIDER et al., 2011). Az epitheliális sejtek rétege és a mirigyek szerkezete is visszatükrözi azt, hogy a kanca a ciklus mely szakaszában van, illetve, hogy az év melyik időszakában történt a mintavétel. A luminális epithelium magassága 30-tól 40 mikrométerig terjed az ösztroz korai szakasza során, majd később, a diestrus elején 15-20 mikrométerre csökken. A téli anösztrusz alatt a luminális epithelium atrofizált és kuboid sejtek, valamint egyenes lefutású mirigyek jellemzik (CARLETON, 2006). Habár biopsziás minta bármikor gyűjthető, Ricketts javaslata szerint lehetőség szerint diösztruszban történjen a mintavétel, mivel a normális ösztroz során bekövetkező változások megnehezíthetik a szövettani értelmezést (RICKETTS, 1975). Shideler szerint nagyobb esély van a hibázásra a biopsziás minták elemzésekor, ha a mintavétel nem a tenyészszezon kezdetekor, hanem anoestrus alatt történik (SHIDELER et al., 1982). A téltől tavaszig terjedő átmeneti időszak alatt elkezdődhet a nemi aktivitás növekedése, ám ilyenkor is előfordulhat endometriális atrófia. Ricketts leírásai alapján ezt az állapotot a mirigyek inaktivitása és a periglanduláris mononukleáris sejt infiltráció és fibrózis miatti degeneráció jellemzi (RICKETTS and ROSSDALE, 1978; SCHLAFER, 2007).

Az endometrium biopszia segítségével detektálhatóak azok a mikroszkopikus (akár szubklinikai) endometriális sérülések, melyek a csökkent fertilitással hozhatóak kapcsolatba. Ide tartoznak a gyulladásos és degeneratív elváltozások, csakúgy, mint a mirigyek differenciációjának rendellenességei (KILGENSTEIN et al., 2015).

A méh gyulladásával kapcsolatban beszélhetünk endometritisről, metritisről és pyometráról. Az endometriális biopszia szempontjából az endometritis játszik lényeges szerepet. Egy felmérés során kiderült, hogy az endometritis a három leggyakoribb betegség közé tartozik a felnőtt lovaknál. Az endometriumban zajló gyulladásos

folyamat gyakori okozója az infertilitásnak és a megtermékenyülés kudarcához, az embrió korai elvesztéséhez és megrövidült luteális fázishoz vezethet. Az endometritis igen nagy gazdasági jelentőséggel is bír, hiszen az érintett kancák ösztrusz ciklusa rendszertelen, intenzív klinikai és tenyésztési odafigyelés szükséges, valamint több ciklus is eltelhet, mire a kanca vemhes lesz, így ezek mind járulékos költséget jelentenek a tulajdonos számára. Az endometritis klinikai tünetei a következők lehetnek: intrauterin folyadék felhalmozódása, igen nagymértékű vagy különös mintázatú ödéma, vaginitis, hüvelyi váladék, abnormális ösztrusz ciklus és a méhnyak gyulladása. A klinikai tünetek annak megfelelően változhatnak, hogy milyen súlyos esetről van szó, illetve, hogy milyen baktérium van jelen a folyamat során. Azonban fontos megjegyezni, hogy szubklinikai esetben ezeknek a jeleknek egy része vagy akár az összes tünet hiányozhat (SHIDELER et al., 1982).

A gyulladást értékelhetjük az idő alapján (akut/krónikus), súlyosság alapján (enyhe/közepes/súlyos), sejt típus alapján (lymphocyták, neutrophil granulocyták). Az osztályozás történhet egyéb szempontok szerint is, pl. a gyulladás lehet multifokális vagy diffúz, perivascularis vagy interstitialis. Ezeknek a faktoroknak a kombinációja támpontot ad az állatorvos számára a kórjóslat meghatározásához. A neutrophil sejtek az akut gyulladós reakció jelzői, míg a lymphocyták, monocyták és plazma sejtek a krónikus gyulladás indikátorainak tekinthetők (SNIDER et al., 2011). A neutrophilek jelenléte alapján tehát gyulladós folyamatra lehet következtetni, azonban az ösztrusz során neutrophil granulocyták az egészséges endometriumban is előfordulhatnak az erekben, valamint az endometrium felszínén (SUMMERFIELD and WATSON, 1998). Egyes macrophagok vas melléktermékeket tartalmaznak (hemosziderin), ezeket nevezik siderocytáknak. Jelenlétük előzetesen bekövetkezett vérzésre utalhat és még az ellés után 7 hónappal is megfigyelhetőek. Plasma sejtek az egészséges endometriumban nem fordulnak elő. Megjelenésük azt jelzi, hogy krónikus folyamat zajlik, valamint specifikus immunoglobulin termelésére következtethetünk. Az eosinophil granulocyták specifikus gyulladós folyamatok esetén fordulnak elő. Ezek a sejtek elsősorban bármilyen gombák okozta betegségnél jelennek meg. Eosinophil infiltráció tapasztalható pneumovagina esetében is (BLANCHARD et al., 1987).

A lovak méhgyulladásával kapcsolatban említést kell tenni a lovak fertőző méhgyulladásáról, melyet az angol szakirodalomban CEM-nek (*Contagious Equine Metritis*) rövidíténe. Ricketts vizsgálatai alapján körvonalazódtak azok a különös kórszövettani elváltozások a biopsziás mintában, melyek csak és kizárólag CEM esetén

figyelhetőek meg. A fertőzött állatokból származó biopsziás mintákban az egyik furcsa jellegzetesség az volt, hogy az epithelium felszínén kristályos struktúrák voltak jelen. A kórokozók folyamatos jelenlétének ellenére az akut endometritis gyorsan oldódott és ezt követően krónikus infiltratív endometritis alakult ki és sok plazmasejt jelent meg. Ebben a kísérletben a biopszia hasznos diagnosztikai eszköznek bizonyult azoknál a kancáknál, melyek gyanús tüneteket mutattak. Előnyös volt, hogy a biopszia hasznos támpontokat adott a méhgyulladásal kapcsolatban a megerősítő bakteriológiai vizsgálat előtt (RICKETTS and ROSSDALE, 1978).

A legfontosabb degeneratív elváltozás a periglanduláris fibrózis, mely az érintett mirigyek funkcionális és morfológiai változásával jár. Ezt az elváltozást kezdetben krónikus degeneratív endometritisként diagnosztizálták. Később ezt egy elsődlegesen nem gyulladásos eredetű betegségnek tekintették és krónikus degeneratív endometriális betegségnek vagy endometrosisnak nevezték. Az endometrosis kifejezést Kenney vezette be 1992-ben. Eredetileg ezt összefoglaló szakkifejezésként használták a különböző degeneratív endometriális elváltozások diagnózisánál (KILGENSTEIN et al., 2015). A mai definíció szerint az endometrosis egy olyan súlyos, progresszív endometriumot érintő betegség, melyet irreverzibilis fibrotikus elváltozások jellemeznek (REISWIG et al., 1993). A periglanduláris fibrózis érinthet csupán egy mirigy ágat, de akár számos ágat is. A destruktív formára utaló jelek az epitheliális sejtek degenerációja és az érintett mirigyek nekrozisa (KILGENSTEIN et al., 2015). A strómális kollagén normális esetben nem veszi körül az endometriális mirigyek ágait. Ám a lamina propriában levő strómális sejtek sérülés vagy inger hatására termelhetnek kollagént. Két fontos terület van a strómális fibrózis vizsgálatának szempontjából: a periglanduláris részek és a luminális epithelium alap membránja. A mirigy ágak jellegzetes fészkes elrendeződése utalhat kóros folyamatra. Ilyen esetben a fészkes elrendeződésű mirigyek fibrotikus mátrixba vannak beágyazva. Azonban nem patológiás fészkes helyeződés anosztrusz alatt is megfigyelhető egyes esetekben. A fibrózis okai lehetnek gyulladásos és nem gyulladásos eredetűek. Gyulladást követően biztosan ki fog alakulni fibrózis, főleg, ha a gyulladás ismételten bekövetkezik. Nem gyulladásos jellegű az a folyamat, amikor a mirigyek cisztózus kitágulását követően alakul ki fibrózis. A fibrózis súlyossága a mirigyeket körülvevő rétegek száma alapján ítéltető meg (RICKETTS and ALONSO, 1991a). Megkülönböztetünk enyhe, közepes és súlyos eseteket, 1-3, 4-10, illetve 11 sejtsornál nagyobb vastagság esetén. A fibrózis és annak súlyosságának felismerése nagyon lényeges az állatorvos szempontjából,

hiszen ez egy maradandó állapot. A kutatók feltételezik, hogy fibrózis esetén lecsökken a kanca ellenálló képessége a baktériumokkal szemben a tenyésztés ideje alatt, így ez is közrejátszik a terméketlenség kialakulásában (BLANCHARD et al., 1987).

Súlyos esetben a mirigyek elvesztik funkciójukat. A mirigyek funkcióvesztése összefüggésbe hozható azzal, hogy ezek a kancák általában nem képesek a vemhességüket fenntartani az első néhány hónapnál tovább. A tudomány jelenlegi állása szerint nincs olyan kezelési mód, mellyel lehetséges lenne a fibrózis mértékének csökkentése (RICKETTS and ALONSO, 1991a). Tehát a kiterjedt endometriális fibrózis, főleg, ha periglanduláris, csökkenti a csíko kihordásának esélyét (CARD et al., 2010).

A degeneratív és gyulladásos elváltozásokkal ellentétben a mirigyek differenciációjának rendellenességeit a szezon figyelembe vételével kell értékelni (KILGENSTEIN et al., 2015).

## 2.6. Fertőző ágensek detektálása endometrium biopszia segítségével

Számos tanulmány foglalkozik az endometritis és/vagy a vetelés gombás és bakteriális okaival. Az endometriális biopszia elvégzése után ezek szövettani metszetekben vizsgálhatóak. Az *Escherichia coli*-n kívül a többi baktériumról és néhány élesztőgombáról, valamint gombáról elmondható, hogy biofilmet képeznek, ezáltal folyamatosan fennálló, krónikus fertőzést eredményeznek (SHIDELER et al., 1982). A kórokozók morfológiája kiemelhető és megkülönböztethető speciális festések segítségével: Gram-festéssel a baktériumok, a Gömöri-féle meténamin ezüst festéssel pedig a gombák mutathatóak ki. Egy kísérletben az izolált baktériumok közül a *Bacillus* volt a leggyakoribb, melyet nem tekintenek patogénnek. A szakemberek megfigyelték, hogy nem patogén baktériumok nagyon sűrűn kerülnek izolálásra a kancák méhéből. Ezeknek a méhben betöltött szerepe még ismeretlen, bár néhány tanulmány szerint összefüggés lehet a jelenlétük és a csökkent vemhességi ráták között. A cytobrush-sal és a biopszia révén gyűjtött mintákban is igen nagy számban voltak jelen gombák. Ez nem is olyan meglepő, hiszen azok a kancák, melyeknél gombák jelenlétét tapasztalták, gyakran ismételt antibiotikus méhinfúziós kezelésben részesültek a megelőző tenyészszezonban. Más tanulmányokhoz hasonlóan, a leggyakoribb kórokozó baktérium a  $\beta$ -hemolitikus *Streptococcus* volt mindkét módszer esetén (SHIDELER et al., 1982; SNIDER et al., 2011).

A bakteriális vagy gombás eredetű endometritis diagnózisa a kórtörténet, a klinikai tünetek, a fizikális vizsgálat és az ultrahang vizsgálat, a baktérium tenyésztés, a citológia és a biopsziás vizsgálat eredményei alapján történik (DASCANIO and McCUE, 2014). Kancák fertőző endometritise a szaporodásbiológiai problémák jelentős részének okaként említhető. Ilyen esetekben a következő baktériumok tenyészthetők ki a méhből.

A *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* Gram-pozitív baktérium, mely morfológiáját tekintve kokkuszos és láncokat alkot. Szintén Gram-pozitív baktérium a *Staphylococcus aureus*, mely ugyancsak kokkuszos, ám ezek szőlőfürtszerűen rendeződnek el. Az *Escherichia coli* Gram-negatív, pálcika alakú baktérium. A *Klebsiella pneumoniae* szintén Gram-negatív és pálcika alakú. A *Pseudomonas aeruginosa* ugyancsak Gram-negatív, pálcika alakú. Tripton-szója agaron lapos, fémesen kék színű telepeket hoz létre. Véres agaron jellegzetes szőlő szaga van. A *Candida albicans* tripton-szója agaron puha, krémes, fénylő kolóniákat képez és sörszerű szaga van (DASCANIO and McCUE, 2014).

Sajnos a sztenderd tenyésztési módszerekkel nem mindig detektálhatók azok a baktériumok és gombák, melyek az endometritises kanca méhében valójában jelen vannak. Problémát jelenthet ilyen szempontból a baktériumok lassú növekedése, a baktériumok igényes volta és az anaerob baktériumok tenyésztésének nehézsége. PCR-rel azonban a nukleotid szekvenciák nagyon kis mennyiségei is detektálhatók, így ez a módszer át tudja hidalni az előbb felsorolt gondokat (DASCANIO and McCUE, 2014).

## 2.7. Prognózis felállítása a tenyésztéssel és a csikó kihordásával kapcsolatban

Bár az endometrium biopszia diagnosztikai értékét soha nem vonták kétségbe, az 1970-es és 1980-as években néhány kutató elkezdte vizsgálni a módszer prognosztikai alkalmasságát. Először Ricketts vont le pontos és kvantitatív kórjóslati következtetéseket az endometrium biopszia alapján a kanca termékenységgel kapcsolatban. Számos kutató leírta, hogy a III-as kategóriába sorolt kancák, melyek endometriumában súlyos kóros elváltozások figyelhetők meg, sokszor megtermékenyülnek, de gyakran következik be az embrió korai elpusztulása. A csikózási ráták a következőképpen alakultak Kenney 1978-as rendszere alapján: az I-es kategóriánál 70-92%, a II-esnél 50-67%, a III-asnál pedig 10%. Egy idő után azonban

rájöttek arra, hogy a Kenney által megalkotott II-es kategória túl tág volt és hogy 10-től 50%-ig terjedő 'rész' volt a II-es és III-as kategória között. Ezért Kenney Doig segítségével átszervezte az osztályozási rendszerét. Ez az új rendszer jobban összhangban volt a várható csikózási rátával. A módosított Kenney-Doig-féle rendszerben a várható csikózási százalékok a következők: I-es kategóriánál 80-90%, IIA kategória 50-80%, IIB kategória 10-50%, III-as kategória <10% (lásd 1. táblázat). Kenney kutatásai során magasabb százalékokat kapott azokban az esetekben, amikor a tenyésztési menedzsment jobb volt. Ennek az volt az oka, hogy a kancák szaporodási teljesítménye nem csak a szaporodás szervrendszerének, főleg a méhnek az egészségétől, hanem számos menedzsmenti tényezőtől is függ, melyek igen heterogének lehetnek. Különbözhetnek az istállózásban, a tenyésztés szezonális jellegében, a próbáltatás módszerében, a vemhességi vizsgálatban. Fontos szempont még az állatorvosi ellátás és a termékenyítés módja is. A csikózási ráta azoknál a mesterségesen termékenyített kancáknál, melyeket szigorú állatorvosi felügyelet alatt tartottak és melyek esetében gentamicint tartalmazó sperma tartósítót használtak, jóval magasabb volt, mint azoknál a kancáknál, melyeket hagyományosan fedezették és átlagos menedzsmenti körülmények között tartottak (BLANCHARD et al., 1987).

Ricketts és Alonso javaslata az, hogy az első endometrium biopszia elsődlegesen diagnosztikai segítségként szolgáljon. Ez alapján el kell dönteni, hogy indokolt-e a specifikus kezelés előírása. Tehát az első biopsziás vizsgálat alapján bölcs döntés óvatos prognózist felállítani. A legtöbb kanca esetében érdemes elvégezni egy második biopsziát is a kezelése és a pihenő után. A kórszöveti elváltozások tükrözni fogják a kanca válaszkészségét a kezelésre vagy éppen ennek hiánya lesz tapasztalható (RICKETTS and ALONSO, 1991b).

## 2.8. A biopszia előnyei, hátrányai, összehasonlítása más módszerekkel

Az endometrium biopszia, az aerob kultúra és az endometriális citológia mind-mind fontos diagnosztikai módszerek a kancák szaporodásbiológiai vizsgálatának terén. Ezért érthető, hogy számos tanulmány foglalkozik ezek összehasonlításával. Az egyik kísérletben a bakteriális endometritis diagnosztizálásának szempontjából vizsgálták a fent említett módszereket (CARLETON, 2006). Ez azért lényeges, mert a méh bakteriális fertőzését tekintik a szaporodás sikertelenségének egyik fő okának (RICKETTS, 1975).



A biopsziával és a citológiával bizonyítható a gyulladós folyamat megléte és a terápia szükségessége a kanca fedeztetése előtt, még az aerob kultúra negatív tenyésztési eredményei esetén is. Amellett, hogy az endometrium biopszia lehetőséget nyújt a gyulladás észlelésére, megbízható prognózist is nyújt a termékenységgel kapcsolatban (CARLETON, 2006). A citológia előnye, hogy gyorsan észlelhető a folyamat, így azonnal meghozható a döntés a kanca termékenyítésével kapcsolatban (OVERBECK et al., 2013). Miután a gyulladós folyamat klinikai vagy laboratóriumi bizonyítása megtörtént, nélkülözhetetlen szerepe van az aerob kultúrának a bakteriális endometritis etiológiai diagnózisának felállításában. A kísérlet konklúziójaként elmondható, hogy a biopszia és a citológia a kísérletek során ugyanolyan alkalmasnak bizonyult a bakteriális endometritis következtében kialakult akut gyulladós válaszreakciók kimutatására. Ám a citológiával nem lehetett észlelni a krónikus gyulladós elváltozásokat és a fibrózist sem, melyek a kórszövettani vizsgálat segítségével viszont napvilágra hozhatóak (REISWIG et al., 1993). Egy másik kutatás eredményei alapján a mikrobiológiai vizsgálatok szenzitivitása növelhető azáltal, ha az endometriális tampon minta helyett biopsziával szerzett mintát részesítenek előnyben. A tampon mintákból nyert bakteriális kultúrákat a méh fertőzések diagnosztizálására a múlt század eleje óta használják. Az eljárás az évek során sokat fejlődött és ma már ez a módszer a mindennapos gyakorlat része. Azonban fontos tudni, hogy amellett, hogy ez a módszer igen egyszerű és nem invazív, számolni kell a fals negatív eredményekkel. Későbbi kutatások során beszámoltak olyan eredményekről, miszerint a negatív kultúrák ellenére szabad folyadék volt a méhben, mely endometritisre utal. A biopsziánál a minta begyűjtése után könnyen felkenhető agar táptalajra. Ezt követően a szerző szerint nincs is szükség tamponmintára (NIELSEN, 2005).

Az endometritis egyike a terméketlenség fő okozóinak a kancában. Ennélfogva ennek a betegségnek a diagnózisa nagyon lényeges az állatorvoslásban. A diagnózis lehetséges módszerei a klinikai vizsgálat, transzrektális tapintás, a szaporodás szervrendszerének ultrahangos vizsgálata, hüvelytükrözéses vizsgálat, bakteriológiai tenyésztés, citológia és az endometriális biopszia. Szubklinikai endometritis esetén azonban a kancák nem mutatják az endometritis tipikus tüneteit. E probléma úgy definiálható, hogy ilyenkor a méh gyulladása folyadék felhalmozódás nélkül jön létre. Az exszudatív formái az endometritisnek, melyek folyadék akkumulációjával járnak, diagnosztikai módszerekkel jóval könnyebben felismerhetőek. Manapság a szubklinikai endometritist a szubfertilitás egyik okának tartják. A szubklinikai endometritis

lefolysását a kórokozó típusa és a kanca immunválasza befolyásolja (BUCZKOWSKA et al., 2014). A gyakorlatban az állatorvosok azt tapasztalták, hogy az endometritis diagnosztizálásánál a tenyésztési vizsgálatok gyakran fals pozitív és fals negatív eredményekhez vezettek. Számos kísérlet során bebizonyosodott, hogy a citológia megbízhatóbb módszer a klinikai és szubklinikai endometritis detektálásánál, mint a tenyésztés. Így hát lényeges kihangsúlyozni, hogy abban az esetben, ha baktériumok mutathatók ki tenyésztéssel, az még nem jelenti azt, hogy endometritiszes a kanca (OVERBECK et al., 2013). Az endometrium biopszia egy biztonságos és hasznos, ám nem kifejezetten praktikus technika egyes állatorvosok szerint. Sok ideig kell várni az eredményre és speciális eszközök szükségesek a mintavételhez. Más kutatók szerint viszont egyes esetekben csak a biopszia eredményére lehet biztonsággal hagyatkozni. Schoon és társai leírták, hogy a nem gennyes endometritis és a degeneratív elváltozások (endometrosis, angiopátiák, endometriális atrófia) fontos szerepet játszanak a termékenyüléssel kapcsolatos problémák kialakulásában és hogy ezeket csak az endometrium biopszia minta szövettani vizsgálatával lehet alaposan kiértékelni. Több tanulmány során is bebizonyosodott, hogy a citológiával nem érhetőek el olyan pontos eredmények, mint amilyeneket az endometrium biopszia biztosít. Ez még akkor is igaz, ha a méh azonos helyéről történik a kétféle mintavétel. Továbbá érdemes kihangsúlyozni, hogy a biopsziás minta kórszövettani vizsgálatával a gyulladás minden formája detektálható, azaz gennyes és nem purulens formák egyaránt (OVERBECK et al., 2013).

A biopsziában rejlő lehetőségekkel kapcsolatban említést érdemel az az ötlet, miszerint biopsziás mintavétel végezhető hiszteroszkópos vezetéssel (CARD et al., 2010).

## 2.9. A biopsziás vizsgálat korlátai

A kancák endometrium biopsziájának fejlődésében döntő tényező volt az, hogy azok, akik az úttörő munkát végezték alapos háttértudással rendelkeztek mind a patológia, mind a lovak szaporodásbiológiájának terén. Tehát a kulcsszereplők abban a kivételes helyzetben voltak, hogy értékelni tudták azokat a mikroszkópikus elváltozásokat, melyeket ők észleltek a biopsziás mintában. A minta tanulmányozását a klinikai státusz és az addigi szaporodási teljesítmény egyidejű elemzésével együtt végezték. Manapság azok a klinikai állatorvosok, akik elsődlegesen nem

tenyészkancákkal foglalkoznak, a kórszöveti minták értelmezésénél olyan patológusokra hagyatkoznak, akik állami vagy magán laboratóriumokban dolgoznak. A mai világban meglehetősen nehéz a legtöbb állatorvos és patológus számára megfelelő jártasságra szert tenni a biopszia minták értelmezése terén, hacsak nincs elég magas esetszámuk. Ez elkerülhetetlenül határt szab az endometrium biopszia hasznosságának és igényt támaszt a specializáltabb laboratóriumok alapítására (SCHLAFER, 2007).

Kétségek merültek fel az osztályozási rendszer hasznosságával kapcsolatban sportlovak esetében. Az állatorvosok gyakran tapasztalják azt, hogy azoknál a sportlovaknál, melyek hosszú ideig részt vettek a versenysportban, a kezdeti tenyésztési eredmények elég gyengék. Érdeemes megemlíteni, hogy abban az esetben, ha egy versenyzéstől visszavonult sportló végül vemhesül, a következő alkalommal nagy valószínűséggel nehézségek nélkül meg fog termékenyülni. Egy kísérlet során 189 versenyzéstől visszavonult sportló méhének endometriumában bekövetkezett elváltozásokat vizsgálták biopsziával. A cél az volt, hogy olyan endometriális sérüléseket keressenek, melyek magyarázatul szolgálhatnak a klinikailag megfigyelt termékenyülési problémákra. A kísérletben részt vevő kancákat három csoportra osztották: a nem tenyésztett kancák, a sikertelenül tenyésztett és a vemhesült és ellett kancák csoportjára. A sport karrierük vége és a biopsziás minta vétele közötti időintervallum az első csoportnál <1 év, a második kategóriánál körülbelül egy év, a harmadik csoportnál  $\geq 2$  év volt. Azt tapasztalták, hogy az endometriumban a periglanduláris fibrózis előfordulása jóval gyakoribb idősebb kancákban, ám ez független a paritástól. Egyáltalán nem valószínű, hogy az endometrosis a szubfertilitás fő okozója sportlovakban, hiszen ez sokkal gyakrabban fordul elő azoknál a visszavonult kancáknál, melyek csikóztak, mint azoknál a visszavonult kancáknál, melyeket nem tenyésztettek vagy a tenyésztésük nem volt sikeres. Ámbár a sportlovak szubfertilitása gyakran csak időlegesen figyelhető meg közvetlenül a sporttól való visszavonulásukat követően. E kísérlet során azt figyelték meg, hogy a sporttól visszavonult, nem tenyésztett kancák némileg jobb biopsziás kategóriába kerültek, mint a másik két csoportba tartozó kancák. A kutatók ebből arra következtettek, hogy ez az osztályozási rendszer nem bizonyult megfelelő eszköznek a sportlovak esetében a fertilitási problémák előrejelzésében. Ez azzal indokolható, hogy a klinikai megfigyelések alapján a termékenységi problémák a nemrégiben visszavonult kancáknál a legsúlyosabbak, ám e kísérlet során a legrövidebb visszavonulási idővel rendelkező, nem tenyésztett kancák jobb kategóriába kerültek, mint a másik két

csoportba tartozó társaik. Ez a megfigyelés azt sugallja, hogy a Kenney és Doig által kidolgozott osztályozási rendszer nem foglalja magába azokat a tényezőket, melyek a visszavonult sportlovaknál a szubfertilitás fő okai lehetnek. Az angiopátiák, a rossz irányba haladó endometriális differenciáció és a kanca életkora mind olyan szempontok, melyek összefüggésben állnak a szubfertilitással, ám az előbb említett kategorizációs rendszernél ezeket nem veszik figyelembe (KILGENSTEIN et al., 2015).

Másrészt annak ellenére, hogy Kenney eredeti és módosított osztályozási rendszerét is hosszú évek óta folyamatosan használják, az aktuális Kenney-Doig rendszer retrospektív értékelése eddig csak egyszer történt meg. Noha a technika és az osztályozási séma is elfogadott manapság, egyetlen felülvizsgálat nem tűnik elégségesnek.

Bár az endometrium biopszia sok hasznos információval szolgálhat, számos hiányossága is van. A tüszők növekedéséről és a méh tónusáról nem kapunk adatokat, ezek transzrektális tapintással vizsgálhatók. Nem kapunk információt az esetleges folyadék mennyiségéről és a nagyméretű ciszták jelenlétéről, ezeket ultrahanggal érdemes megfigyelni. A patogének pontos azonosítása sem lehetséges biopszia alapján, erre a mikrobiológiai eljárások alkalmasak. A sárlásról és a szexuális receptivitásról a tenyésztésért felelős szakemberek szolgálhatnak hasznos információkkal, a biopszia nem. A hormonok koncentrációjáról az endokrin vizsgálatok segítségével informálódhatunk. Tehát sajnos a biopszia sem tud az összes felmerülő kérdésre válasszal szolgálni. Figyelembe kell venni azt is, hogy az endometrium megbetegedésén kívüli egyéb okok is vezethetnek a vemhesülés kudarcához. Így lehetséges az is, hogy egy kanca méhe egészségesnek nyilvánítható a biopsziás vizsgálat alapján, ám mégsem tud vemhesülni. Ennek számos oka lehet, például az, ha a ciklus valódi szakaszát rosszul határozták meg. De problémát okozhat a petevezető elzáródása és az endokrin problémák is. Összefoglalva tehát, az endometrium biopszia lényeges információkat nyújt, ám ahogy ezt Kenney is kihangsúlyozta, más diagnosztikai eszközökkel együtt kell használni (SNIDER et al., 2011).

## 2.10. Az endometrium biopsziával kapcsolatos jövőbeli lehetőségek

Habár az alapvető módszer valószínűleg továbbra is a klasszikus kórszövetteni vizsgálat marad, a kiegészítő hisztokémiai és immunhisztokémiai vizsgálatok minden bizonnyal értékes információval szolgálnának a jövőben. Néhány új diagnosztikai

módszer potenciálisan nagy teljesítményre képes és automatizálható. A számítógép alapú morfometria, RT-PCR, ELISA és a genetikai analízis olyan technikák, melyeket már használnak, ám a jövőre nézve szép reményekkel kecsegtetnek. A speciális felszerelés és szakértelem szükségessége limitálja ezeknek az összetett diagnosztikai eszközöknek a hozzáférhetőségét, ám a jövőben előreláthatólag gyakrabban lesz lehetőség használatukra a specializált laboratóriumokban.

A molekuláris technikák által azonosíthatóak a mikrobiális ágensek. Ezen a téren hatalmas előrelépések történtek az elmúlt években. Ide tartozó módszerek az in situ hibridizáció, a fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH), stb. FISH segítségével a baktériumok szövettani metszetben történő azonosítása a megfelelő próbák (jelölt szekvenciák) alkalmazásával lenne lehetséges, ám ezeket a technikákat biopsziás mintával még nem használták. További, molekuláris technikákra alapozott tesztek elvégzésével lehetőség nyílna vírusok és gombák azonosítására, gyulladásos mediátorok (citokinek) vagy az endometriális fibrózissal összefüggésbe hozott növekedési faktorok detektálására. Az újabb kutatások segítségével lehetséges lesz a hormon receptorok változásainak észlelése. Sőt, a különböző gének expressziójának változása is nyomon követhető lesz a jövőben, ami alapján igazolni lehet, hogy a kanca az ivarzási ciklus mely stádiumában van éppen. Tehát összefoglalva az endometrium biopszia értéke a járulékos tesztekkel kiterjesztett használata révén jelentősen megnőne (SCHLAFER, 2007).

#### 2.11. Célkitűzések

Saját vizsgálataink célja az volt, hogy:

- kidolgozzunk egy klinikopatológiai vizsgálati protokollt a vemhesülési problémákkal küzdő kancák számára
- összehasonlítsuk a formalinos ill. Bouin-oldatos fixálószer alkalmazhatóságát és a kórszövettani metszetek minőségét, értékelhetőségét
- összevessük, hogy az endometrium biopsziákban látható elváltozások és széles körben használt ún. grade rendszer mennyire áll összhangban a későbbi vemhesüléssel
- kiderítsük, hogy a 8 vizsgált egyedben mi okozhatja a csökkent termékenyülő-képességet

## **3. Anyag és módszer**

### **3.1. Az 1. vizsgálat**

Az első vizsgálat során a szakirodalom áttanulmányozása után 26 kanca adatait és vizsgálati leleteit gyűjtöttük össze, és elemeztük. Ezeknél az állatoknál limitált mennyiségű adat állt rendelkezésünkre, legtöbbször a kórelőzmény és a biopszia lelet (Állatorvosi Egyetem, Lipcse). Ami viszont nagyon fontos volt számunkra, az a biopszia levétele utáni szexuális sikere, amely ezeknél az állatoknál már ismert. Az összes kanca melegvérű, sportló típusú volt, többségükben már lezárt sikeres sportkarrierrel a kórelőzményben. Közös jellemzőjük volt továbbá, hogy mindannyian legalább 1 tenyészszezoron keresztül nem vemhesültek. Mindet fagyasztott, import onóval termékenyítették a vizsgálati év szexuális időszakában, azonos helyen, egy szaporodásbiológiára specializálódott magánpraxisban. A kancák adatait (kanca neve, kora, kórelőzmény, biopszia-lelet és későbbi vemhesülési adatok) a praxisvezető állatorvos bocsátotta rendelkezésünkre. Ezek az állatok 8-24 (átlagosan 11 év  $\pm$  3) éves kor közöttiek voltak a mintavételek időpontjában.

Ezekből a kancákból ugyanolyan mintavevővel vették a biopsziákat, mint amit mi használtunk (Kruuse equine endometrial biopsy forceps, Kruuse Ltd., Németország). A mintavétel időzítése a sárlás (ösztusz) idejére esett.

### **3.2. A 2. vizsgálat**

A második vizsgálatban 2016. szeptember 23. és október 6. közötti időszakban vizsgált, összesen 8 állat szerepelt. Ezt a vizsgálati protokollt témavezetőimmal együtt terveztük, és a következő elemekből állt:

- a kórelőzmény felvétele a tulajdonos és a kezelő állatorvostól
- a kanca fizikális vizsgálata, bódítása
- rektális tapintásos és ultrahang-vizsgálat (ivarszervek)
- vérvétel hematológiai vizsgálat céljából
- mikrobiológiai mintavétel
- endometriális biopszia gyűjtés

### 3.2.1. A vizsgált állatok

A vizsgált kancák magántulajdonban voltak, és fajtájukat tekintve 4 magyar sportló, és 4 lipicai volt közöttük. Az állatokat konvencionális higiéniai státuszú, privát istállóban tartják, a nap egy részét karámban, legelőn töltik, könnyű munkával. Takarmányozásukban vannak eltérő elemek, többségük abrakot (zab) és szénát kap naponta kétszer, nyalósót és vizet ad libitum etetnek velük. Vizsgálataink a tulajdonosok kérésére történtek, és azokat engedéllyel rendelkező állatorvos hajtotta végre, így nem volt szükségünk NÉBIH által kiadott kísérleti engedélyre.

### 3.2.2. A kórelőzmény felvétele, a fizikális vizsgálat, laboratóriumi vérvizsgálat

Mind a 8 kanca esetében a kórelőzményben csökkent termékenyülő-képesség szerepelt, és minimum egy éve nem ellettek csikót. Három kancánál embrió-felszívódás volt gyanítható, mert a 15-18. nap között magánállatorvos által végzett vemhesség-vizsgálat után a 3 hónapos kontroll vizsgálaton már nem voltak élő magzatok. Egy kanca kórelőzményében magzatburok-visszatartás is szerepelt egy korábbi (2014) elléshez kapcsolódóan.

A mintavételek előtt minden állaton ellenőriztük, hogy nem lázasak-e, és a pulzusszám, légzésszám, kapilláris újratelődési idő, valamint a bélhangok mind a négy kvadránsban (hasüreg) hallhatók-e.

Ezt követően jött az ivarszervi vizsgálat, amely során a genitális konformációt, az ivarszervek (péaaajkak, csecsek) épségét, sértetlenségét jegyeztük fel. Az esetleges hüvelyi kifolyást is feljegyeztük. Hüvelytükörrel (spekulum) való vizsgálatot nem végeztünk.

Ezt követően a vena jugularisból vért vettünk, EDTA-véralvadásgátlót tartalmazó és szérumos vérvételi csövekbe 21-es méretű egyszer használatos tűvel (Vacutainer sampling tubes, California, USA).

A vérmintákat a gyűjtésük után 1 órán belül 5 °C-ra, hűtőbe tettük, és másnap reggel szállítottuk az ÁTE Kórélettani és Onkológiai Tanszék Laboratóriumába, ahol még aznap feldolgozták, és egy rutin hematológiai vizsgálatot végeztek.

### 3.2.3. A helyszíni rektális tapintásos és ultrahang-vizsgálat

A helyszínen végzett rektális vizsgálatot minden esetben témavezetőm, Dr. Vincze Boglárka állatorvos végezte, az én asszisztenciámmal. Először tapintással vizsgálta a kanca ivarszerveit, a méhnyakat, méhtestet, méhszarvakat, és a petefészkeket. Bármilyen rendellenességet feljegyeztünk.

Ez után ultrahang-készülék segítségével vizsgálta az ivarszerveket a fent említett sorrendben. Ehhez egy hordozható, Mindray M5-Vet (Mindray Ltd., Peking, Kína) multifrekvenciás ultrahangot és vizsgálófejet használva (5-8 MHz, rektális fej). A vizsgálatok alatt a méh és a petefészkek nagyságát, a rajtuk található képleteket (tüszők, sárgatestek, egyéb) lejegyeztük és a képeket elmentettük. A méhet részletesen vizsgáltuk vemhességre és folyadékra, mivel a biopszia-vétel vemhesség esetén kontraindikált.

### 3.2.4. A helyszíni mikrobiológiai mintavétel, mikrobiológiai laboratórium

A mikrobiológiai mintavételt a rektális vizsgálatot követően, a kanca bódítása után végeztük. A kancák a vizsgálatához 0,5-0,9 ml Detonervin Inj. A.U.V. (detomidin-hidroklorid)-t kaptak intravénásan. A mintavételhez egy steril, egyszer használatos ló-endometrium mintavevő duplán fedett tamponot használtunk (Kruuse Ltd., Németország). A mikrobiológiai mintát a szakma szabályai szerint a méh üregének felszínéről vette az állatorvos, és a mintavétel után közvetlenül transzport táptalajba helyeztük, és feliratoztuk (kanca neve, dátum, minta száma). A mintát ez után hűtve szállítottuk/küldtük a DUO-BAKT Kft. Laboratóriumába (Váci út 174., Budapest) dr. Lajos Zoltán mikrobiológus szakállatorvoshoz, ahol a mintákból izolálták a patogén kórokozókat (aerob és anaerob tenyésztés, gomba-tenyésztés, rezisztencia, izolálás).



### 3.2.5. Az endometriális biopszia gyűjtése, fixálószeres, kórszövettani feldolgozás

A mikrobiológiai mintavételt követően, amely során a hüvely és méhszáj vizsgálatát is elvégezte az állatorvos, következett a bioptátum gyűjtése. A biopszia vételhez egy erre speciálisan gyártott mintavevőt (Kruuse equine biopsy forceps 62 cm, Kruuse Ltd., Németország) használt az állatorvos. Minden mintavétel előtt a fém eszközt csapvíz és alkohol segítségével fertőtlenítettük.

A biopszia szövetdarabjait két egyenlő részre vágtuk, majd az egyik darabot 8 %-os pufferolt formaldehidben, míg a másikat BOUIN-oldatban rögzítettük egy napig, majd víztelenítést és xilolos impregnálást követően PARAPLAST-ba ágyasztuk. A metszés során készített 4-5 µm vastagságú metszeteket hematoxilin-eozin-, Azan- és PAS-festésekkel készítettük elő fénymikroszkópos vizsgálatra.

A mikroszkópos diagnózis felállítása során tekintettel voltunk az endometrium hámrétegének állapotára, a kompakt és spongiózus réteg elváltozásaira, de értékeltük a két alkalmazott fixálási módszer előnyeit-hátrányait az endometrium biopszia kórszövettani vizsgálatában.

### 3.2.6. Adatfeldolgozás, kiértékelés

A 8 saját magunk által gyűjtött mintánál a kiértékelés és a leletek klinikai jelentőségének elbírálásánál a közös kiértékelés és megbeszélés volt a módszer, mivel a szakirodalom is azt találta a legmegfelelőbbnek, ha a patológus és a klinikus szakember, aki szaporodásbiológiai gondozásban jártas, együtt beszél meg a leleteket és azok értékelését.

A metszetek kiértékelésénél az elváltozások jellege, és a kötőszöveti rostok (Azan-festés) aránya szerint a szakirodalomból (KENNEY és DOIG, 1986) ismert „gradelés” volt a követett módszer (1. tábl.), amely a konkrét diagnózis mellett a tulajdonosokat inkább érdeklő fertilitási prognózist is tartalmazza, meghatározza.

## 4. Eredmények

### **4.1. Az első vizsgálatban 26, rendelkezésünkre bocsátott kanca adatainak elemzése**

A 2010-2016 között a szaporodásbiológus által vizsgált kancák kórelőzményeinek feldolgozása alapján elmondható, hogy mindannyian legalább egy teljes szezonon keresztül nem voltak képesek vemhességüket létrehozni/fenntartani. Mindegyiket fagyasztott spermával termékenyítették legalább háromszor az adott szezonban. A kancákat kezelő állatorvos elmondása szerint az ultrahang-vizsgálattal rendellenesség nem volt látható a petefészkeiken, illetve a méhükben. A kórszövetteni leletekből kiderült, hogy mindegyik állat endometriumában találtak elváltozást a következő arányban: Grade I. - 1 db (3,8%); Grade IIA – 8 db (30,7%); Grade IIB – 5 db (19,2%) és Grade III – 12 db (46,3%). Leggyakoribb tehát a legsúlyosabb elbírálási kategória volt, a III-as.

A kancák közül a későbbiekben összesen 5 ellett csikót, 2 kanca azután, hogy friss spermával termékenyítették. Huszonegy kancát végül kivontak a tenyésztésből.

### **4.2. A második vizsgálat eredményei**

#### 4.2.1 Kórelőzményi adatok értékelése

Mind a 8 kanca a 2016-os évben üresen maradt. Három közülük (1., 7., 8.) vemhesült ugyan, de az embrió felszívódott belőlük. A kancák közül egyet (1.) fagyasztott import spermával termékenyítettek, hét állatot pedig friss, hűtött spermával, a spermavételt követően néhány órával. A kancák többségénél szisztémás betegség ebben az évben nem jelentkezett, kezelést ezért nem kaptak. Egy kancának (8.) viszont a bal petefészkén egy növekvő, gyermekfej nagyságú daganatot diagnosztizáltak néhány héttel a mintavétel előtt. Ikerovulációt nem figyeltek meg egyik kancánál sem. A tulajdonosok elmondása szerint a kancák mindegyike diösztruszban volt.

#### 4.2.2. Fizikális vizsgálat eredményei

Az állatok a mintavétel idején nem voltak lázasok, a légzésszám, szívverésszám, bélmotilitás, kapilláris újratelődési idő a normális határok között volt. Az ivarszervek

vizsgálatakor látható volt, hogy a lovak felében (2., 6., 7., 8.) a vulva konformációja rossz volt, ami azt jelenti, hogy a végbél a vulvához képest besüllyedt. Csecsbimbók tájékán elváltozás nem volt látható. Kifolyás a hüvelyből nem volt látható.

#### 4.2.3. Rektális tapintás és ultrahang-vizsgálat

Rektális tapintással, az ivarszervekkel kapcsolatban rendellenesség vagy vemhesség nem volt tapintható a legtöbb kancában (7/8), viszont a 8. sz. kanca bal petefészkén valóban volt egy kb. gyermekfej nagyságú, tömött tapintatú képlet, amely nagyjából 10\*15 cm nagyságú. Ultrahang vizsgálattal a képlet egy tömlős szerkezetű, erekkel átszőtt, daganatszerű képletként tűnt fel (1. kép.). Ugyanezen kanca méhének bázisában egy 0,73 cm átmérőjű ciszta-szerű képlet volt látható. Ultrahang-vizsgálattal egyik állat sem bizonyult vemhesnek, petefészkeiken (1.-7.) rendellenes képlet nem volt látható, viszont az látszott, hogy 4 esetben szexuális idősorban voltak a kancák, tehát a petefészkeiken több kisebb tüsző volt, sárgatest pedig elvértve. Egy esetben (1.) a kanca kezdődő sárlást mutatott az ultrahang-lelet alapján (bal petefészken 4,1 cm átmérőjű tüszővel, a méhben kifejezett (++) ödémával. Ez a kanca a vizsgálat alatt villogtatott is (sárlási viselkedés). Egyik kanca méhében sem volt folyadék látható.



**1.kép** A 8. sz. kanca petefészkén látható képlet részletének ultrahangos képe (5 MHz, rektális ultrahangfejjel készült)

#### 4.2.4. Hematológia

A második táblázatban a vérminták hematológiai vizsgálatának eredményei láthatók, ahol 13 paramétert (2. táblázat) vizsgáltunk. Ezt a kiegészítő vizsgálatot az állatok általános állapota miatt, illetve az esetleges endometritisz miatt végeztettük.

Ló száma/Paraméter	WBC *10 <sup>3</sup>	RBC *10 <sup>6</sup>	HGB g/dl	HCT %	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl
<b>Normál-értékek</b>	4,3-14,8	7,2-12,0	116-189	0,31-0,50	35,7-53,9	11,9-20,3	350-382
<b>1</b>	6,8	*7,0	120	0,33	47,3	17,2	364
<b>2</b>	5,5	*6,37	*111	0,32	49,6	17,4	350
<b>3</b>	7,0	*6,07	116	0,31	51,6	19,0	369
<b>4</b>	6,4	*6,34	124	0,33	52,4	19,6	375
<b>5</b>	6,3	*6,88	120	0,32	46,9	17,4	372
<b>6</b>	6,7	*6,48	124	0,34	51,8	19,2	370
<b>7</b>	6,7	8,03	147	0,41	51,2	18,3	358
<b>8</b>	6,4	*6,52	*108	*0,29	45,0	16,6	369
Ló száma/Paraméter	PLT *10 <sup>3</sup>	NEUT (%)	LYMP (%)	MON (%)	EOS (%)	BASO (%)	
<b>Normál-értékek</b>	69,9-250,8	28,0-82,8	19,8-58,9	1,4-10,5	0-8,7	0-2,0	
<b>1</b>	141	53,4	36,7	2,7	5,9	0,8	
<b>2</b>	99	*25,9	67,6	1,4	3,5	1,2	
<b>3</b>	156	56,9	38,4	1,4	2,6	0,5	
<b>4</b>	123	65,3	30,2	*1,3	2,7	0,2	
<b>5</b>	133	47,7	43,3	2,3	6,0	0,3	
<b>6</b>	130	57,2	32,9	*1,2	7,7	0,5	
<b>7</b>	*43	61,8	28,1	4,7	4,0	0,8	
<b>8</b>	113	65,8	27,5	2,4	3,5	0,5	

**2. táblázat** A hematológiai vizsgálat eredményei (\*-gal jelzett érték: alacsonyabb, szürke háttérű érték magasabb értéket jelöl a laboratórium referenciájához képest)

#### 4.2.5. Mikrobiológiai vizsgálat

A mikrobiológiai laboratórium vizsgálat eredményei a 3. táblázatban láthatók.

Ló azonosítója	Kitenyészett mikroba	Megjegyzés
1.	Kis számban vegyes Gram- negatív flóra tenyésztett ki.	Kórokozó baktérium, anaerob baktérium nem tenyésztett ki.
2.	<i>Escherichia coli</i>	Gram-negatív; aerob, fakultatív anaerob
3.	<i>Eubacterium sp.</i>	Gram-pozitív; anaerob
4.	<i>Prevotella spp.</i>	Gram-negatív; anaerob
5.	Baktérium nem tenyésztett ki.	-
6.	<i>Arcanobacterium haemolyticum;</i> <i>Peptostreptococcus spp.</i>	Gram-pozitív, aerob Gram-pozitív; anaerob
7.	<i>Bacteroides fragilis</i>	Gram-negatív; anaerob
8.	<i>Streptococcus equi ssp.</i> <i>zooepidemicus; Bacteriodes fragilis</i>	Gram-pozitív; aerob Gram-negatív anaerob

3. táblázat A mikrobiológiai vizsgálat eredményei

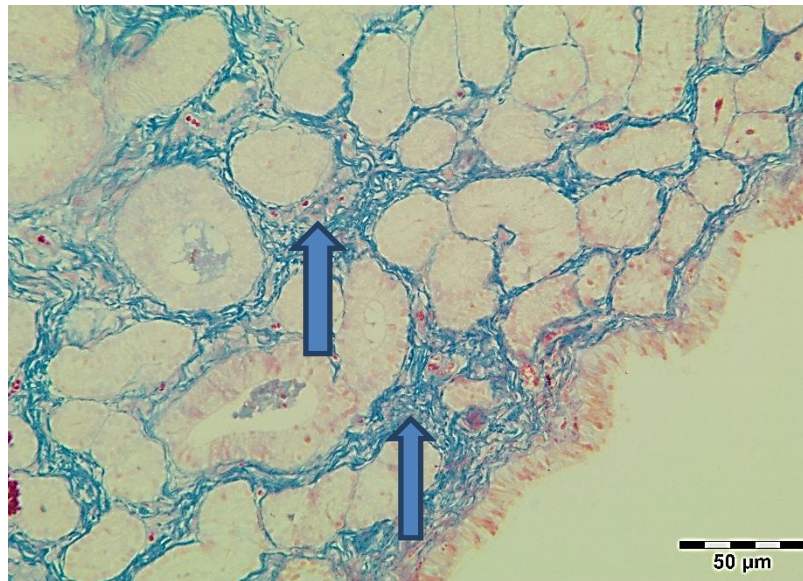
#### 4.2.6. Kórszövetteni eredmények, Grade-besorolás

A Kenney és Doig-szerinti besorolás alapján a 8 vizsgált mintában I. kategóriájú minta nem volt (0%), IIA-ban 3 db volt (37,5%), IIB-ben 2 db volt (25%), és a legsúlyosabb, III-as kategóriában 3 db (37,5%) volt. A kancák szerinti eredmények a 4. táblázatban láthatók.

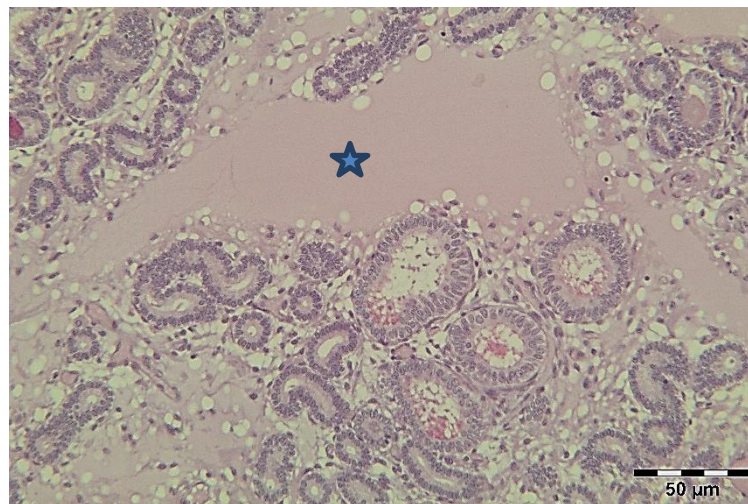
Kanca azonosítója	Kórszövetteni besorolás (Grade)
1.	IIA
2.	III
3.	III
4.	IIB
5.	IIA
6.	IIB
7.	IIA
8.	III

4. táblázat A kórszövetteni vizsgálat eredményei

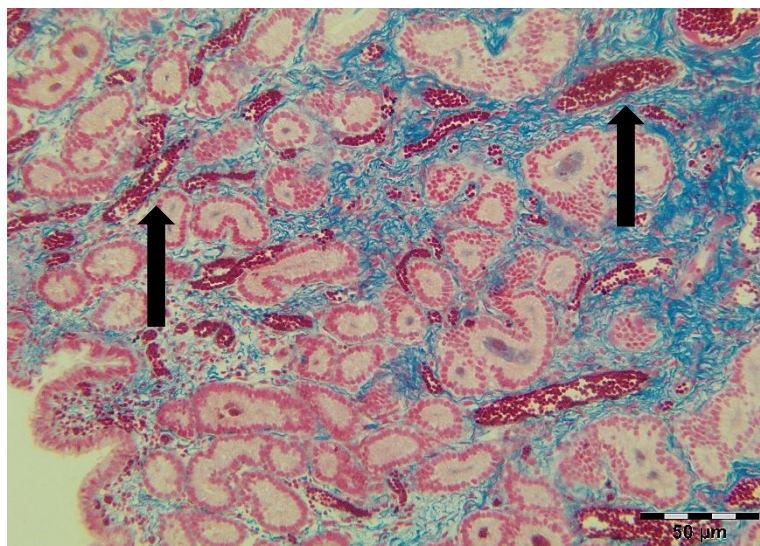
Néhány jellegzetes elváltozás kórszövetteni képe látható az alábbiakban.



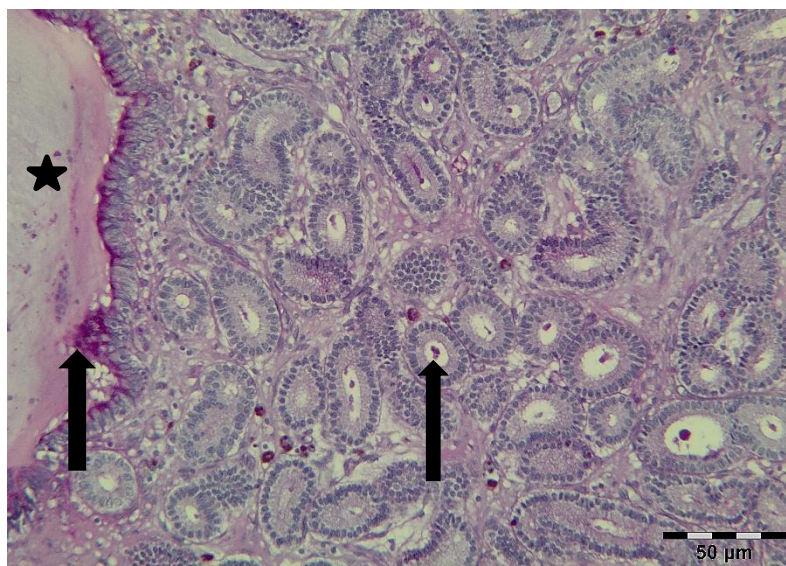
**2. kép:** Azan festést alkalmazva a mirigyes állomány szövetközi fibrózisa tűnik elő (nyíl)



**3. kép** Gyulladásos vizenyó (\*) a spongiózus rétegben (HE)



**4. kép** Kifejezett gyulladással bővítés (nyilak) a spongiosus rétegben (Azan)



**5.kép** A lument (\*) szegélyező nyálkaréteg és a mirigyhám bélelte végkamrák nyálka tartalmának PAS pozitív festődése (nyilak).

## 5. Megbeszélés

Az endometriális biopszia, mint kiegészítő vizsgálómódszer, az elmúlt 40 évben egyre nagyobb jelentőségűvé vált a vemhesülési problémákkal küzdő kancák diagnosztikája és terápiája területén. Alkalmazásának létjogosultságát az adja, hogy bizonyos krónikus elváltozásoknak (idült/subklinikai endometritisz, endometrózis) semmilyen más tünete nincs kancákban, mint a vemhesülés vagy az embrió beágyazódásának elmaradása.

Hazánkban valamiért a praxisban dolgozó állatorvosok nem szívesen alkalmazzák ezt a vizsgáló módszert, ennek oka lehet részben az, hogy maga a mintavevő eszköz

drága, illetve kevés az olyan szakember, aki a kórszövetteni mintát a patológus szemén túl a klinikus/szaporodásbiológus szemén át is képes látni, és így a kiértékelést hatékonyan elvégezni.

Vizsgálataink során igyekeztünk minél nagyobb számú mintát elemezni. Huszonhat esetről csak a kórelőzmény, a biopszia-lelet és a későbbi vemhesülési adat állt minden kancánál rendelkezésünkre, azonban így is meg tudtuk állapítani, hogy az 1. vizsgálatban az esetek közel felében (46%) súlyos, irreverzibilis elváltozások voltak jellemzőek az endometriumban. A második leggyakoribb kórszövetteni kategória a IIA volt (30,7%). A második, teljes egészében általunk levezényelt mintagyűjtésben is hasonló eredményre jutottunk, vagyis a 8 állatban leggyakrabban a IIA és III kategóriájú endometriumok fordultak elő. A biopszia eredményeinek visszafogott értékelésére hívja fel a figyelmet az, hogy az első vizsgálatban Grade III-at kapott kancák között voltak olyanok, amelyek a későbbiekben vemhesültek. Mivel a 26 egyedből mindet fagyasztott spermával termékenyítették, és így maradtak üresen, majd belőlük hárman később vemhesíthetők voltak friss spermával, elgondolkodtató, hogy a fagyasztott spermánál használt tojásfehérje tartalmú ún. krioprotektív anyagok vagy az ott alkalmazott spermahigító lehetett-e oka a vemhesülés elmaradásának. Ugyanis a gyakorlatban megfigyelték, hogy a fagyasztott sperma használata után a kancák többségének ún. termékenyítés utáni endometritise alakult ki (Dr. Janina Rau személyes közlés, nem publikált). Ez a jelenség elkerülhető, ha a termékenyítést követően másnap fiziológiás sóoldattal kiöblítik a kanca méhét (Dr. Janina Rau személyes közlés, nem publikált). Az első vizsgálatban a mintákat gyűjtő állatorvos elmondta, hogy azért ellentmondásos a kapott kórszövetteni eredmény, mert 6/26 esetben nincs összhangban a kanca endometriumának állapota és a későbbi vemhesülési eredmény (súlyos elváltozás-későbbi csikó vagy éppen enyhe elváltozás-később sem született csikó).

Fontos megjegyezni, hogy a vemhesülés sikerének csak egyik alkotóeleme a kanca és annak endometriumának állapota. Ezeken kívül sok körülmény van még, amelyek szintén megghiúsíthatják az egészséges utód világra jöttét (pl. nem megfelelő időben végzett termékenyítés, a sperma minősége rossz, iatrogén hibák, fertőzések, takarmány minőség, stb.).

Második, saját magunk által tervezett és kivitelezett vizsgálatunkban igyekeztünk a lehető legtöbb vizsgálati módszert elvégezni a szakma szabályai szerint, ezért kértünk laborvizsgálatokat nemcsak hematológiára, hanem mikrobiológiára is, hiszen az



esetleges kezelés ezeknek függvényében hajtható végre. A lovak kórelőzményét tekintve mindenhol megállapítható volt, hogy hónapok óta sikertelenül termékenyítették azokat. Több lónál a 15. nap körül végzett vemhesség vizsgálat pozitív volt, de később az embrió felszívódott. Az endometrium épsége elsősorban a mirigyek funkciója szempontjából nagyon fontos, hiszen a vemhesség elején ez táplálja az embriót; idült kötőszövetes elváltozások esetén a mirigyek nem képesek ellátni funkciójukat (endometrózis).

A hematológiai eredményeket tekintve a legtöbb mintában a vörösvértestek száma alacsonyabb volt a laboratóriumi referenciához képest; elképzelhető, hogy ezt a mintavétel-szállítás során kialakult hemolízis okozta, így mesterségesen csökkentve az ép vörösvértestek számát. A legtöbb paraméter azonban a fiziológiás határokon belül maradt, kiéve a 2-es, 7-es és 8-as kancát, ahol enyhe elmozdulások voltak megfigyelhetők.

A mikrobiológiai vizsgálat azonban szembetűnő eredményeket hozott. Hat kanca esetében tenyésztettek ki aerob vagy anaerob baktériumokat (2. táblázat). E mikrobák többsége megtalálható az endometritiszben szenvedő kancák flórájában (DASCANIO and MCCUE, 2014), más részük viszont vagy a bélsárban, vagy a környezetben található (pl. *Bacteroides* sp.). A *Bacteroides* fajokat úgy említik, mint amelyek nem okoznak endometritist (DASCANIO and MCCUE, 2014). Fontos megjegyezni, hogy a 2., 6., 7., és 8. kancákban a rossz genitális konformáció miatt a végbélnyílás jelentősen besüllyedt, így a trágya viszonylag könnyen bejuthat a hüvelybe, és onnan a méhbe is, főleg, ha lágyabb bélsárról van szó. Kiemelkedően rossz konformációjú volt a 2. sz. kanca, amelynek a vizsgálat során a péraajkai olyan gyengén kapcsolódtak össze, hogy a mintavétel előtt a péraajkak széthúzásakor azok között hangosan beszívódott a levegő (pozitív „Windsucker” teszt). Ebben az esetben *E. coli* volt kitenyészthető a tamponmintából, továbbá a kórszöveti mintája is mutatott gyulladásra utaló jeleket (pl. kifejezett bővérűség). Az ilyen kancák esetében a Caslick-féle vulvoplasztika jöhet szóba, mint terápiás lehetőség, természetesen a bakteriális fertőzés kezelése után. A perineális konformáció jelentőségét támogatja az is, hogy mind a 4 rossz perineális konformációjú kancában kitenyészthető volt valamilyen kórokozó.

A 8. sz. kanca leleteit elemezve kiderült, hogy egy potenciális szisztémásan betegséget okozó baktérium is kitenyészett, a mirigykór kórokozója, a *S. equi ssp. zooepidemicus*. Ennek a kancának a bal petefészken található egy daganat-szerű képlet, amely kinézete, tapintása és ultrahang-lelete alapján a kancák egyik leggyakoribb

daganatának tűnik, ún. granulosa-sejtes daganatnak. Pontos diagnózist természetesen csak szövettannal lehetne mondani, de a biopsziás lelet (grade III, súlyos elváltozások), a daganat és a vemhesülés sikertelensége összességében jelentősen befolyásolni fogja a tulajdonos döntését és az állat sorsát. A mirigykór kórokozója miatt a 8-as kancával együtt tartott állomány felmérése és kezelése vált szükségessé.

A kórszövettani minták feldolgozásakor megállapíthattuk, hogy az Európában leggyakrabban használt fixálószer (formalin) és a tengerentúlon előszeretettel használt Bouin-oldat is alkalmas volt a szövetek megfelelő fixálására. A gyakorlati alkalmazást tekintve viszont a formalin sokkal jobb volt, mivel a készítés ideje és a hőmérséklet nem befolyásolja a hatékonyságát, szemben a Bouin-oldattal, amely pikrinsavat tartalmaz, és minden nap frissen kell készíteni, valamint hűtve tárolni. A Bouin-oldatot alkohollal kell kimosni a szövetből, így naponta kell lecserélni az alkoholos mosó oldatot, így sok időbe telik, mire a biopátum metszésre alkalmas lesz; a diagnózis felállítása ezért több hetet vesz igénybe. A kórszövettani metszetek minősége azonban, illetve a festések értékelhetősége jobb volt a Bouin-es oldatnál, összességében szebb képeket kaptunk.

A 8 kanca esetében látható volt, hogy a speciális szaporodásbiológiai vizsgálat minden esetben magyarázatot adott arra, hogy a kancák miért nem voltak képesek egészséges utód kihordására. Összehasonlítva ezt a prokollt az átlagos, kinti lovas praxisban elvégzett vizsgálatokkal (tapintás és ultrahang-vizsgálat), elmondható, hogy sokkal információ gazdagabb a lelet, és sok esetben valódi diagnózishoz lehet jutni. Összességében egy ilyen protokoll elvégzése nem olcsó a tulajdonosok számára, viszont, ha kiszámoljuk a spermarendelés-termékenyítés-ultrahang-vizsgálat költségeit (több százezer Forint/szezon), érdemes a nem vemhesülő kancákat speciális vizsgálati protokollal egyszer rendesen megvizsgáltatni. Egy ilyen protokoll elvégzése munkadíjjal együtt kb. 50-60 ezer Ft-ba kerül, de mégsem több százezer Forint.

További előnye a kiegészítő vizsgálatoknak az, hogy diagnosztizálni lehet még a szubklinikai fertőzéseket is, és a célzott terápia így lehetővé válik. Jelen tudomásunk szerint a fibrotikus elváltozások irreverzibilisek, a folyamatok visszafordítása nem lehetséges, de a szubklinikai endometritisz miatt vagy endometrózis miatt nem vemhesülő állatok kiszűrhetők, és így kevesebb lehet a feleslegesen elvégzett termékenyítés, ezáltal az anyagi veszteségek is csökkenthetők.

Összességében elmondhatjuk, hogy a kialakított protokoll hasznos volt, és nemcsak a klinikán dolgozó állatorvosok tudják majd a jövőben alkalmazni, hanem a kinti praxisban is lehetőség nyílik az átmenetileg vagy tartósan meddő kancák

kiszűrésére. A Kenney és Doig-féle grade rendszer pedig, bár alapos, valószínűleg a jövőben még finomítani kell, mert nem mindig állt összhangban a későbbi vemhesülési adatokkal. Ezt a finomítást további paraméterek beszámításával tudjuk elképzelni.

A végső következtetésünk az, hogy a legalaposabb állatorvosi vizsgálat, mintavétel, kiértékelés és szakértelem ellenére sem mellékes a lovak érzelmi értéke, tehát a lovak sorsáról hozott döntések meghozatala nem képzelhető el a tulajdonos és az állatorvos érzelmi és szakmai megfontolásai nélkül.

## 6. Összefoglalás

A klinikai tüneteket nem mutató, de bármely okból nem vemhesülő kancák jelentős veszteséget okoznak a lótenyésztőknek, mivel az állatorvosi költségek és a kedvelt vérvonalú tenyészménekkkel való fedeztetés/termékenyítés drága.

A csökkent termékenyülő-képességnek kancákban számos oka lehet. A rutin fizikális és ultrahang-vizsgálaton túl lehetőség van kiegészítő módszerek (mikrobiológiai vizsgálat, endometrium biopszia) alkalmazására. Az endometrium gyulladásszerű és degeneratív elváltozásainak vizsgálatára az 1960-as évek óta használják az endometrium biopsziájának szövettani vizsgálatát, de a mintavétel idejéről, és az alkalmazott fixálószer típusáról megoszlanak a vélemények.

Ebben a vizsgálatban összesen 34 magántulajdonban lévő, legalább egy éven keresztül nem vemhesült kancától gyűjtöttünk mintákat. Huszonhat esetben a sárlás ideje alatt, és formalinban fixálva, 8 esetben pedig diosztruszban, Bouin-, illetve formalin fixálószerrel is használva gyűjtöttünk endometriális biopszia mintákat. Nyolc kanca esetében lehetőségünk volt a kancákból mikrobiológiai vizsgálatot is végeztetni.

A legtöbb esetben a helyszínen végzett fizikális és ultrahang-vizsgálat nem mutatott ki elváltozást a kancák ivarszerveiben. A mikrobiológiai vizsgálatokban aerob és anaerob kórokozókat is kitenyésztettek. A kórszövettani vizsgálatok heveny és idült elváltozásokat is kimutattak, amelyek viszont nem mindig voltak összhangban sem a kórelőzménnyel, sem pedig a későbbi vemhesülési aránnyal (ahol ez ismert volt).

Eredményeink alapján azt a következtetést tudtuk levonni, hogy a jelentős gazdasági értékkel bíró tenyészkancák vemhesülésének hiányában mindenképp javasoljuk a kiegészítő vizsgálatok elvégzését, mert az esetek többségében szubklinikai betegségekre is fényt deríthet; viszont egyszeri vizsgálati lelet alapján semmiképpen sem javasolt egy-egy tenyészkanca további sorsáról dönteni.

## 7. Summary

### **Cím angolul: Clinicopathological investigation of subfertility in broodmares**

Non-pregnant, subfertile broodmares cause a significant expense in horse breeding, because of the increased veterinary outgoings and the additional charges of the favourable sire's semen. There are numerous causes of decreased fertility in mares. Beyond the routine physical and sonographic examination, advanced techniques are available for diagnosing subfertility (microbiology, endometrial biopsy) in mares. For detecting inflammatory and degenerative changes of the endometrium, from the 1960s, histopathologic studies have been investigated the most reliable fixation method and the optimal time for the sampling, but the authors not always agree in these issues.

In this study, a total of 34 privately owned mares with at least 1 year infertility in their history have been evaluated. In 26 cases, samples were collected during estrus, and were fixated in 8% buffered formalin; in 8 cases, diestrous samples have been collected, and beside formalin, a Bouin-solution has also been used as a fixative. In those 8 cases, an additional microbiological sampling has also been made.

In most cases, the physical and sonographic examinations could not detect abnormalities in the mares' genital tracts. During the analysis of the microbiology samples, aerobic as well as anaerobic microbial organisms could have been cultured. Histopathological investigation detected acute and chronic changes in the endometrial tissue, however, these findings were not always concordant with the history and the later conception rate (if this data is known).

According to our results, in case of infertility/subfertility of broodmares of high value, the use of advanced examination techniques is suggested in order to detect subclinical diseases; however, a single examination is not sufficiently enough to estimate the fertility of the broodmare.

## 8. Irodalomjegyzék

- 1) BLANCHARD, T. L. – GARCIA, M. C. et al.: Investigation of the representativeness of a single endometrial sample and the use of trichrome staining to aid in the detection of endometrial fibrosis in the mare. *Theriogenology*, 1987. Vol. 28 No. 4. 445-450.
- 2) BUCZKOWSKA, J. – KOZDROWSKI, R. et al.: Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. *Reproductive Biology and Endocrinology*
- 3) CARD, C. E. – EATON, S. et al.: How to Perform a Hysteroscopically Assisted Endometrial Biopsy and Foreign Body Retrieval in Mares. *Theriogenology*, 2010. 56. 328-330.
- 4) CARLETON, C. L.: Clinical Examination of the Nonpregnant Equine Female Reproductive Tract. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology: Second Edition*, 2006. 74-90.
- 5) DASCANIO, J. J. – MCCUE, P., 2014: *Equine reproductive procedures*. Oxford, John Wiley and Sons. 46-53.
- 6) KENNEY, R. M. – DOIG, P.A.: Equine endometrial biopsy, *Current therapy in theriogenology 2*. Philadelphia: WB Saunders, 1986. 723-729.
- 7) KILGENSTEIN, H. J. – SCHÖNIGER, S. et al.: Microscopic examination of endometrial biopsies of retired sports mares: An explanation for the clinically observed subfertility? *Research in Veterinary Science*, 2015. 99. 171-179.
- 8) NIELSEN, J. M.: Endometritis in the mare: A diagnosis study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, 2005. 64. 510-518.
- 9) OTZEN, H. – SIEME, H. et al.: Equine endometrial vascular pattern changes during the estrous cycle examined by Narrow Band Imaging hysteroscopy. *Animal Reproduction Science*, 2016. 166. 80-89.
- 10) OVERBECK, W. – JÄGER, K. et al.: Comparison of cytological and histological examinations in different locations of the equine uterus – an in vitro study. *Theriogenology*, 2013. 79. 1262-1268.
- 11) REISWIG, J. D. – THRELFALL, W. R. et al.: A comparison of endometrial biopsy, culture and cytology during oestrus and dioestrus in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 1993. 25. 240-241.
- 12) RICKETTS, S. W. – ALONSO, S.: Assessment of the breeding prognosis of mares using paired endometrial biopsy techniques. *Equine Veterinary Journal*, 1991. 23. 185-188.
- 13) RICKETTS, S. W. – ALONSO, S.: The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. *Equine Veterinary Journal*, 1991. 23. 189-192.

- 14) RICKETTS, S. W. – ROSSDALE, P. D.: Endometrial Biopsy Studies of Mares with Contagious Equine Metritis 1977. *Equine Veterinary Journal*, 1978. 10. 160-166.
- 15) RICKETTS, S. W.: The Technique and Clinical Application of Endometrial Biopsy in the Mare. *Equine Veterinary Journal*, 1975. Vol. 7. No. 2. 102-108.
- 16) SCHLAFER, D. H.: Equine endometrial biopsy: Enhancement of clinical value by more extensive histopathology and application of new diagnostic techniques? *Theriogenology*, 2007. 68. 413-422.
- 17) SHIDELER, R. K. – MCCHESENEY, A. E. et al.: Relationship of endometrial biopsy and other management factors on fertility of broodmares. *Equine Veterinary Science*, 1982. January/February 5-10.
- 18) SNIDER, T. A. – SEPOY, C. et al.: Equine endometrial biopsy reviewed: Observation, interpretation, and application of histopathologic data. *Theriogenology*, 2011. 75. 1567-1581.
- 19) SUMMERFIELD, N. J. – WATSON, E. D.: Endometrial macrophage populations in genitally normal mares at oestrus and dioestrus and in mares susceptible to endometritis. *Equine Veterinary Journal*, 1998. 30. 79-81.
- 20) WAELCHLI, R. O.: Endometrial biopsy in mares under nonuniform breeding management conditions: Prognostic value and relationship with age. *The Canadian Veterinary Journal*, 1990. 31. 379-384.

## 9. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni hálámat témavezetőimnek, dr. Vincze Boglárkának és dr. Baska Ferencnek, a lehetőségért, hogy a tudományos diákköri dolgozatomat elkészíthettem. Köszönöm, hogy mindig készségesen foglalkoztak kérdéseimmel és ötleteikkel a jó irányba terelték munkámat.

Köszönettel tartozom dr. Pénzes Györgynek, dr. Kútvölgyi Gabriellának, dr. Rózsás Jankának, Varga Mártának és Stirminszki Rékának a mintavételekben nyújtott segítségért. Köszönöm dr. Vajdovich Péternek, dr. Lajos Zoltánnak, az ÁTE Kórélettani Labor munkatársainak, Pop Renátának, Lefler Gábornénak és az ÁTE Kórszövetteni Laboratóriumnak a különböző laborvizsgálatok során nyújtott segítségét. Szeretném köszönetemet kifejezni az MTA-SZIE Nagyállatklinikai Kutatócsoportnak és Prof. Szenci Ottónak. Köszönöm a sok támogatást és türelmet barátomnak és családomnak.

A finanszírozás az NKB 2016 15833 kutatási keretből történt.



HuVetA  
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT\*

Név: ... Aggjal Ester .....  
Elérhetőség (e-mail cím): ... ester.a@freemail.hu .....  
A feltöltendő mű címe: ... Tényiskavak medvéisége .....  
Előzetes bibliográfiai vizsgálata .....  
A mű megjelenési adatai: ... 2016 .....  
Az átadott fájlok száma: ... 1 .....

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg **(egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel)**:

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

Budapest, 2016 év ..... hó ..... nap

Angyal Eszter

aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

*A HuVetA Magyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgálta, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

*A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén*

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

Alulírott ..... Dr. Vince Boglárka ..... Igazolom, hogy  
..... Annyal Eszter ..... (a hallgató neve)

„Tenyészaucaék madulóségének klinikopatológiai vizsgálata”  
című szakdolgozatát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2017. november 20. ....

Dr. Vince Boglárka  
.....  
DR. VINCE BOGLÁRKA  
a témavezető neve és aláírása

Állattenyésztési, Takarmányozási és  
Laborállat-tudományi Tanszék

tanszék

## NYILATKOZAT

Alulírott ...*ANGYAL ESZTER*..... nyilatkozom, hogy szakdolgozatom,

melynek címe .....*Tenyészkancaik megalakulásának klinikopatológiai*.....

.....*vizsgálata*.....

tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a ...*2016*.....

évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2017. ...*november 20*.....

.....*Angyal Eszter*.....

a hallgató neve és aláírása