

Endometrial biopsy sampling and interpretation of the findings in the diagnosis of subfertile mares in veterinary practice

Literature review Part 2.

B. Vincze^{1,2*}
E. Angyal³
F. Baska⁴
A. Gáspárdy¹
G. Kútvölgyi⁵
O. Szenci²

1. Állattenyésztési és Genetikai Osztály, Állattenyésztési, Takarmányozási és Laborállat-tudományi Tanszék, ÁTE

*e-mail: Vincze.Boglarka@univet.hu

2. MTA-SZIE
Nagyállatklinikai
Kutatócsoport,
2225 Üllő, Dóra major

3. Szigorló állatorvostan hallgató, ÁTE

4. Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszék, ÁTE

5. Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet, Herceghalom, NAIK

Az endometrium-biopszia szerepe és alkalmazása a nem vemhesülő kancák vizsgálatában az állatorvosi gyakorlatban

Irodalmi összefoglaló II. rész

Vincze Boglárka^{1,2*}, Angyal Eszter³, Baska Ferenc⁴, Gáspárdy András¹, Kútvölgyi Gabriella⁵, Szenci Ottó²

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők, sorozatuk második részében irodalmi adatok és saját vizsgálataik alapján bemutatják az endometrium-biopszia kórszövettani vizsgálatának jelentőségét vemhesülési zavarokkal küzdő kancák esetében. A csökkent termékenylő-képességnek kancákban számos oka lehet. A fizikális és ultrahangvizsgálaton túl lehetőség van kiegészítő módszerek (mikrobiológiai vizsgálat, endometrium-biopszia) alkalmazására. Jelentősek a regresszív elváltozások mellett az endometrium gyulladósos kórképei, amelyek sokszor felderítetlenek maradnak. A biopsziás vizsgálat segítséget nyújthat a fertőzések kórképek diagnózisában is. Nemcsak a kutatók, hanem hamarosan a praktizáló állatorvosok számára is rendelkezésre állnak majd új módszerek (PCR, ELISA, FISH) a laboratóriumi diagnosztikában.

SUMMARY

Background: Non-pregnant, subfertile broodmares cause a significant expense in horse breeding. 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, histopathologic studies have been investigated the possible causes of sub/infertility.

Objectives: The aim of the authors was to summarize the available information about the usefulness of endometrial biopsy sampling in mares in connection with barrenness. Furthermore, a special attention has been paid to the recently discovered investments in the diagnosis of endometrial problems in the mare.

Material and method: Review and study papers have been summarized with the aim of scientific databases (www.sciencedirect.com; www.pubmed.com) from 1978 until 2017. The following keywords have been used: endometrial biopsy, mare, barren mares, endometritis, endometrosis (*endometriosis*), fibrosis.

Results and discussion: According to our experience and the available veterinary literature, 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 a broodmare.



A MÉH GYULLADÁSOS KÓRKÉPEI

Aszerint, hogy a méh hány rétegét érint, többféle gyulladásos kórképről beszélhetünk. Ha csak az endometriumra korlátozódik, akkor endometritisről van szó; mélyebbre terjedő gyulladás esetén az izomréteg is érintett, ez a metritis. A gyulladás még mélyebbre terjedése akár perimetritishez, vagy hashártyagyulladásához vezethet, amelynek súlyos, az állat életét is veszélyeztető következményei lehetnek (vérfertőzés, savós patairha-gyulladás).

Az endometritis az egyik leggyakoribb betegség kancákban

Az endometritis az oka a vemhesülési zavarok 25–60 %-ának

Az endometrium-biopszia szempontjából az endometritis, vagyis az endometrium rétegének gyulladása játszik lényeges szerepet (4). Egy felmérés során kiderült, hogy az endometritis a három leggyakoribb lóbetegség közé tartozik a felnőtt lovakban (33). Az endometriumban zajló gyulladásos folyamat gyakori okozója a csökkent termékenyülő képességnek, a megtermékenyülés elmaradásához, az embrió korai elvesztéséhez és megrövidült sárgatestfázishoz vezethet. A leggyakoribb meddőségi oknak tartják a 1960-as évek óta; a vemhesülési zavarokkal küzdő kancák 25–60%-ában ez az oka a vemhesülés elmaradásának (7). Az endometritis nagy gazdasági jelentőséggel is bír, hiszen az érintett kancák ivari ciklusa rendszertelen, állatorvosi kezelés szükséges, valamint több ciklus is eltelhet, mire a kanca vemhesül, így ezek mind járulékos költséget jelentenek a tulajdonos számára. Hazánkban az utóbbi években nem jelent meg olyan tanulmány, amely a magyar lótenyésztésben keletkező, az endometritisszel kapcsolatos gazdasági kárt mérte volna fel, azonban kiemelnénk egy doktori disszertációt, amely részletesen foglalkozik a fertőző eredetű vetélések mellett a fertőző eredetű szaporodási zavarokkal. A vizsgált 30 állatban, nagy arányban (81%) találtak endometritist, amelyből 11 esetben enyhe, 7-ben közepes, 1-ben pedig súlyos volt az elváltozás. Ugyanezekben az állatokban 67%-ban figyeltek meg fibrózist. Rendellenes péraállás esetén mind a 4 esetben endometritis is megfigyelhető volt (36, 37). A rendellenes péraállás, vagy az angolszász szakirodalomban használt kifejezés szerint, a rossz péra-konformáció a fizikális vizsgálatban kiemelten fontos, mivel ez az állapot kedvez a trágyából származó baktériumok hüvelybe való bejutásának (1. ábra). Magyar nyelven

1. ÁBRA. Kifejezetten rossz péra-konformáció figyelhető meg ezen a 12 éves pej kancán

A végbélnyílás a péranyílás síkjához képest besüllyedt

FIGURE 1. Twelve year old bay mare showing an abnormal perineal conformation

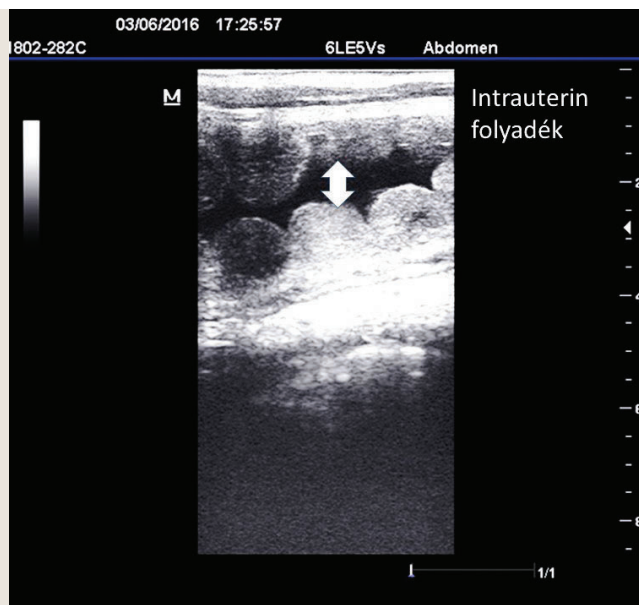
The anus is sunken cranially compared to the vulvar opening



elérhető továbbá egy könyvfejezet, amelyben a nem vemhes kanca szaporodásbiológiájáról írnak magyar szerzők közérthető nyelven (2). Jelen cikksorozat első része a legfrissebb magyar nyelvű közlemény a témában (38).

Az endometrium gyulladását sokféle jelzővel írhatjuk le: heveny-idült, aktív-szubklinikai, ellés utáni, bakteriális, gombák okozta, vírusos, fedezettés/termékenyítés előidézte, perzisztáló. A fentiek közül több is érvényes lehet egyszerre egy időben (14). Az endometritis lehet klinikai, vagy szubklinikai, attól függően, hogy van-e klinikai tünet, amely legjellemzőbben az ultrahangvizsgálattal kimutatható méhen belüli folyadék. Egy saját esetből vett példa a 2. ábrán látható. A méhen belüli folyadék elhúzódó, kezeletlen esetekben echodússá válhat az ultrahangfelvételen (3. ábra). Az endometritis klinikai tünetei a folyadék felhalmozódásán túl változatosak lehetnek: igen nagymértékű vagy különös mintázatú méhfali oedema, hüvelygyulladás, hüvelyi

váladék, rendellenes ivari ciklus és a méhnyak gyulladása. A klinikai tünetek annak megfelelően változhatnak, hogy milyen súlyos esetről van szó, ill. hogy milyen baktérium van jelen. Fontos megjegyezni, hogy szubklinikai esetben ezeknek a jeleknek egy része vagy akár az összes tünet hiányozhat (34).



2. ÁBRA. Rektális ultrahangfelvétel, amelyen kis mennyiségű (< 2cm átmérőjű), echoszegény méhbeli folyadék látható (5 MHz rektális ultrahangfej, Mindray Ltd., Kína)

FIGURE 2. Small amount (< 2cm diameter) of anechogenic intrauterin fluid (obtained with a 5 Mhz rectal ultrasound probe, Mindray Ltd, China)



3. ÁBRA. Rektális ultrahangfelvétel, amelyen közepes mennyiségű (3,6 cm átmérőjű), echodús intrauterin folyadék látható (5 MHz rektális ultrahangfej, Mindray Ltd., Kína)

FIGURE 3. Moderate amount (3.6 cm diameter) of echogenic intrauterin fluid (obtained with a 5 Mhz rectal ultrasound probe, Mindray Ltd, China)

Az endometritis kórjelzésére számos klinikai módszer használható

Mivel az endometritis egyike a terméketlenség fő okozóinak a kancában, és a szakirodalmi források 25–60%-ban találták a meddőség okának ezt a betegséget (7, 23), ezért kulcsfontosságú ennek a betegségnek a felismerése. A kórisme lehetséges módszerei a klinikai vizsgálat, a transzrektális tapintás, az ivarszervek ultrahangvizsgálata, hüvelytükrözéses vizsgálat, bakteriológiai tenyésztés, citológia és az endometrialis biopszia. A méh felületéről vett citológiai minta hasznos lehet, amennyiben endometritisre gyanakszunk. Előnye ennek a technikának, hogy gyorsan juthatunk a helyszínen diagnózishoz, hogy olcsó és egyszerű a kivitelezése. Több mintavételi eszköz létezik a mintavételhez: vattás végű pálca, citológiai kefe, méhmosás; mintát lehet venni a bioptátum felszínéről is, bár ennek kisebb a jelentősége, ha amúgy is vettek biopsziát. Hátránya azonban, hogy nem ad információt a gyulladás okáról, ill. nagyon gyakori, hogy a bakteriológiai vizsgálati eredmény és a citológia nem függ össze, vagyis citológiával kimutatható a gyulladás, azonban a bakteriológiai vizsgálat negatív. Ilyenkor könnyű félrediaosztizálni az esetet, és akár rossz kezelést is választhatunk, ha csak egyik vagy csak másik vizsgálati módszer szerint kezelünk (20). A szubklinikai endometritis lefolyását a kórokozó típusa és a kanca immunválasza is befolyásolja (5). Az endometritis kórjelzésekor a tenyésztési vizsgálatok gyakran téves pozitív és téves negatív eredményekhez vezettek. Számos kísérlet során bebizonyosodott, hogy a citológia megbízhatóbb módszer a kli-

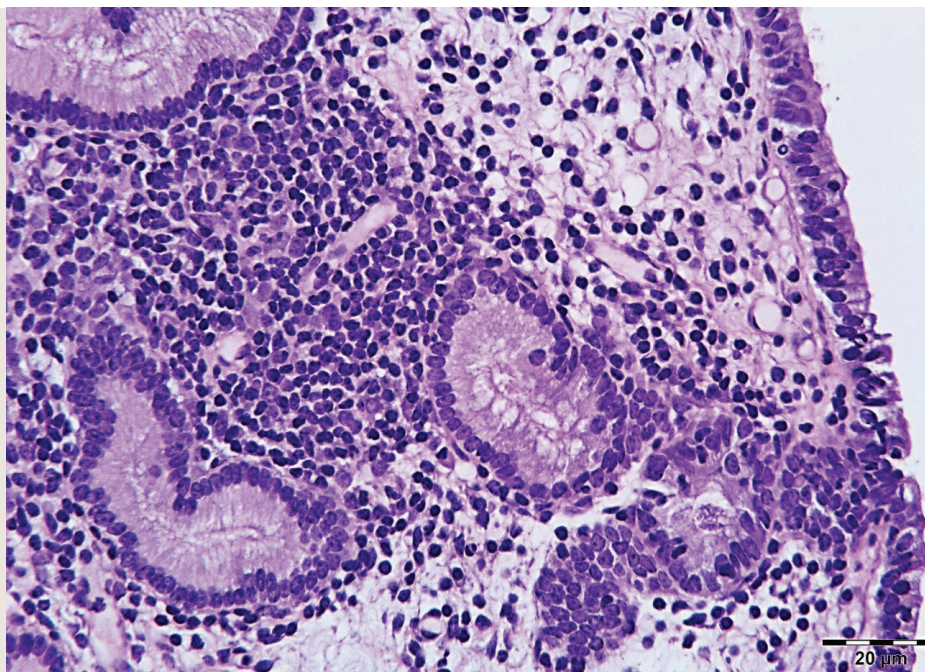
Egyelőre nincs egységes, nemzetközi cytologiai bírálati módszer

nikai és szubklinikai endometritis kimutatására, mint a baktériumtenyésztés. Abban az esetben, ha baktériumok mutathatók ki tenyésztéssel, az még nem jelenti azt, hogy a kancának endometritise van (24). A citológiai vizsgálat a gyulladós sejtek jelenlétét mutatja ki a kenetből, egyelőre azonban nincs egységes, nemzetközi bírálati rendszer kidolgozva a módszerre (20). A citológiai vizsgálat elbírálásának részleteire terjedelmi okból ebben a dolgozatban nem térünk ki.

A gyulladást értékelhetjük a lefolyás ideje alapján (akut/krónikus), súlyosság alapján (enyhe/közepes/súlyos), sejtípus alapján (lymphocytás, neutrophil granulocytás, histiocytás, eosinophil granulocytás). A gyulladás lehet multifokális vagy diffúz, perivascularis vagy interstitialis (4. ábra). Ezeknek a tényezőknek a kombinációja támpontot ad az állatorvos számára a kórjóslat meghatározásához. A neutrophil granulocyták a heveny gyulladós reakció jelzői, míg a lymphocyták, macrophagok és a plazmasejtek idült gyulladásra utalnak (35). Az ösztroz során neutrophil granulocyták az egészséges endometriumban is előfordulhatnak az erekben, valamint az endometrium felszíni rétegében (36). Egyes macrophagok hemosziderint tartalmaznak, ezeket nevezik siderocytáknak. Jelenlétük előzetesen bekövetkezett vérzésre utalhat és még az ellés után 7 hónappal is megfigyelhetőek. Plasmasejtek az egészséges endometriumban nem fordulnak elő. Megjelenésük azt jelzi, hogy idült folyamat zajlik, valamint specifikus immunoglobulin-termelésére következtethetünk. Az eosinophil granulocyták specifikus gyulladós folyamatok esetén fordulnak elő. Egy *endometritis eosinophillica*-t vizsgáló tanulmányban közvetlen összefüggés mutatkozott az eosinophil granulocyták nagy száma és a csökkent vemhesülési arány között; a kancák 93%-a az endometritis mellett endometrosist is mutatott (11). Ezek a sejtek elsősorban gombák és paraziták okozta betegségeknél jelennek meg. Eosinophil granulocytás infiltráció tapasztalható pneumovagina eseté-

4. ÁBRA. Az endometrium félheveny, plazmasejtes szövetközi gyulladása
H.-E., Bar = 20 µm

FIGURES 4. Subacute, plasmacytic interstitial inflammation of the endometrium



ben is (3).

A citológia hatékony diagnosztikai módszer és előnye, hogy gyorsan észlelhető a gyulladós folyamat, így azonnal meghozható a döntés a kanca termékenyítésével kapcsolatban (24). Miután a gyulladós folyamat klinikai vagy laboratóriumi bizonyítása megtörtént, nélkülözhetetlen szerepe van az aerob kultúrá-

**A citológiai vizsgálattal
nem ismerhető fel az
idült gyulladás**

nak a bakteriális endometritis kóroki diagnózisának felállításában. A biopszia és a citológia a kísérletek során alkalmasnak bizonyult a bakteriális endometritis következtében kialakult heveny gyulladásos válaszreakciók kimutatására. Ugyanakkor a citológiával nem lehetett észlelni az idült gyulladásos elváltozásokat és a fibrózist sem, amelyek a kórszövettani vizsgálat segítségével viszont felismerhetők (10). Egy vajdasági régióban végzett friss kutatás szerint a meddő kancák több, mint felében a citológiai és bakteriológiai leletek súlyos és közepesen súlyos endometritist mutattak ki. A mintákból *Str. equi* spp. *zooepidemicus* volt izolálható, és neutrophil granulocyták nagy számban voltak jelen (12). A citológiai minták elemzéskor a neutrophil granulocyták, más néven a polimorfonukleáris (PMN) sejtek számát és arányát állapítják meg az epithelsejtekhez képest. Ha 2%, vagy annál több a PMN sejt, endometritisről beszélhetünk (15, 19, 23). Azonban fontos tudni, hogy amellett, hogy ez a módszer igen egyszerű és nem invazív, számolni kell a téves negatív eredményekkel (22, 24).

SCHOON és mtsai leírták, hogy a nem gennyes endometritis és a degeneratív elváltozások (endometriosis, angiopátiák, endometrialis atrófia) fontos szerepet játszanak a termékenyüléssel kapcsolatos problémák kialakulásában, és hogy ezeket csak a biopsziás minta kórszövettani vizsgálatával lehet alaposan kiértékelni (30).

A biopsziában rejlő lehetőségekkel kapcsolatban fontos megemlíteni, hogy biopsziás mintavétel végezhető hiszteroszko-pos vezetéssel is (6).

A lovak méhgyulladásával kapcsolatban említést kell tenni a lovak fertőző méhgyulladásáról, amelyet az angol szakirodalomban CEM-nek (*Contagious Equine Metritis*) rövidítenek. RICKETTS vizsgálatai alapján körvonalazódtak azok a jellemző kórszövettani elváltozások a biopsziás mintában, amelyek 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 a heveny endometritis gyorsan oldódott és ezt követően idült infiltratív endometritis alakult ki és sok plazmasejt jelent meg. A gyanús tüneteket mutató kancáknál a biopszia hasznos diagnosztikai eszköznek bizonyult a megerősítő bakteriológiai vizsgálat előtt (27).

A MÉH FIBROPLASZTIKUS KÖRKÉPEI

A legfontosabb, a mirigyállomány károsodásával járó elváltozás a periglandularis fibrózis, amely az érintett endometrium-mirigyek működésbeli és szerkezeti változásával jár; körülöttük nagyszámú kötőszöveti elem jelenik meg, súlyos esetekben a kollagénrostok túlsúlya figyelhető meg, amely a mirigyek csökkent működéséhez vezet. Ezt az elváltozást kezdetben idült, degeneratív endometritis ként írták le (16). Később ezt egy elsődlegesen nem gyulladásos eredetű betegségnek tekintették és idült, degeneratív endometrialis betegségnek vagy endometrosissnak nevezték. Az „*endometrosis*” kifejezést KENNEY 1992-ben vezette be a latin szakkifejezés helytelen, a szokásostól (szótő + *osis*, jelen esetben *endometri* + *osis*) eltérő képzésével. Eredetileg ezt összefoglaló szakkifejezésként használták a különböző degeneratív endometrialis elváltozások diagnózisánál (18, 35). A mai, lovaknál használt definíció szerint az *endometrosis* egy olyan súlyos, progresszív, endometriumot érintő elváltozás, amelyet irreverzibilis fibrotikus folyamatok jellemeznek (25). A periglandularis fibrózis érinthet csupán egy mirigyágot, de akár számos ágot is. A destruktív formára utaló jelek a hámsejtek károsodása és az érintett mirigyek elhalása (18). A stromalis kollagén élettani viszonyok között nem veszi körül az endometrialis mirigyek ágait. Ám a lamina propriában levő stromalis sejtek sérülés vagy inger hatására termelhetnek kollagént.

Két fontos terület van a stromalis fibrózis vizsgálatának szempontjából: a perig-

**Az endometrialis
mirigyek működésbeli
és szerkezetbeli változást,
károsodását okozza
periglandularis fibrózis**

A mirigyeket körülölelő fibroblast-rétegek száma alapján, enyhe, mérsékelt és súlyos fibrózist különíthetünk el

landularis részek és a luminalis hám alaphártyája. A mirigyágak jellegzetes fészkes elrendeződése utalhat kóros folyamatra. Ilyen esetben a fészkes elrendeződésű mirigyek fibrotikus mátrixba vannak beágyazva. Egyes esetekben azonban nem patológiás fészkes helyeződés anósztrusz alatt is megfigyelhető. A fibrózis okai lehetnek gyulladással és nem gyulladással eredetűek. Gyulladást követően biztosan ki fog alakulni fibrózis, főleg, ha a gyulladás ismételt bekövetkezik. Nem gyulladással jellegű az a folyamat, amikor a mirigyek cisztózus kitágulását követően alakul ki fibrózis. A fibrózis súlyossága a mirigyeket körülvevő rétegek száma alapján ítéltető meg (26). Megkülönböztetünk enyhe, közepes és súlyos eseteket, 1–3, 4–10, ill. 11 sejsornál 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 csökken a kanca baktériumokkal szembeni ellenálló képessége, így ez is közrejátszhat a terméketlenség kialakulásában (3). 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, amellyel lehetséges lenne a fibrózis mértékének csökkentése (26). Tehát a kiterjedt endometrialis fibrózis, főleg, ha periglandularis, csökkenti a csikó kihordásának esélyét (17).

A degeneratív és gyulladással elváltozásokkal ellentétben a mirigyek differenciációjának rendellenességeit a szezon figyelembe vételével kell értékelni (18).

FERTŐZÉSES KÓRKÉPEK MEGÁLLAPÍTÁSA ENDOMETRIUM-BIOPSZIA SEGÍTSÉGÉVEL

Számos dolgozat foglalkozik az endometritis és/vagy a vetélés gombás és bakteriális okaival. Az endometrialis biopszia vétele után ezek szövettani metszetekben vizsgálhatóak.

Az egyik legfrissebb téma a ló szaporodásbiológiában az ún. biofilmkutatás. Kimutatták, hogy baktériumok alapvetően kétféle formában okoznak fertőzéseket az emlős szervezetben belül: szabad, ún. planktonikus formában, ill. biofilmként. A biofilm azért lényeges, mert baktériumok kolóniája alakítja ki, és térszerkezete miatt sokkal ellenállóbb a gazdaszervezet immunrendszerével és antibiotikumokkal szemben, mint a szabad forma (32). Több, kancák endometritisét okozó baktériumról mutatták ki, hogy képes biofilmképzésre, így okozva perzisztáló fertőzéseket. Az *Escherichia coli*-n kívül több baktériumról (*Klebsiella pneumoniae*, *Pasteurella aeruginosa*, *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*) és néhány élesztőgombáról, valamint gombáról elmondható, hogy biofilmet képeznek, ezáltal folyamatosan fennálló, idült fertőzést eredményeznek (10, 34). A kórokozók morfológiája kiemelhető és megkülönböztethető speciális festések segítségével: Gram-festéssel a baktériumok, a Gömöri-féle meténamin ezüst festéssel pedig a gombák mutathatók ki. Egy kísérletben az izolált baktériumok közül a *Bacillus* volt a leggyakoribb, amelyet nem tekintenek patogénnek. Gyakori megfigyelés, hogy nem patogén baktériumok nagyon sűrűn kerülnek izolálásra a kancák méhéből. A cytobrush-sal és a biopsziával vett mintákban egyaránt nagy számban voltak jelen gombák. Ez nem is olyan meglepő, hiszen azok a kancák, amelyeknél gombák jelenlétét tapasztalták, a korábbi tenyészszezonban gyakran ismételt antibiotikus méhkezelésben részesültek. Más vizsgálatokhoz hasonlóan, a leggyakoribb kórokozó baktérium a β -hemolizáló *Streptococcus* volt mindkét módszer esetén (34, 35).

A bakteriális vagy gombás eredetű endometritis kórjelzése a gyakorlatban a kórtörténet, a klinikai tünetek, a fizikális vizsgálat és az ultrahangvizsgálat, a baktérium tenyésztés, a citológia és/vagy biopsziás vizsgálat eredményei alap-

Számos kórszövettani festési módszer, ill. reakció alkalmazható a baktériumok és gombák feltüntetésére

ján történik (8). A kancák fertőző endometritise nagyon gyakran okoz szaporodásbiológiai zavarokat. A leggyakrabban kitenyésztett baktériumok és gombák a következők:

- *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* (Gram-pozitív)
- *Staphylococcus aureus* (Gram-pozitív)
- *Escherichia coli* (Gram-negatív)
- *Klebsiella pneumoniae* szintén (Gram-negatív)
- *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negatív)
- *Candida albicans* (8).

A baktériumtenyésztés esetleges nehézségeit jól kompenzálja a PCR-vizsgálat

Sajnos a standard módszerekkel nem mindig tenyésztethetők ki azok a baktériumok és gombák, amelyek az endometritises kanca méhében valójában jelen vannak. Gondot jelenthet ilyen szempontból a baktériumok lassú növekedése, a baktériumok igényes volta, az anaerob baktériumok tenyésztésének nehézsége és az ún. biofilmképzés. PCR-rel azonban a nukleotidszekvenciák nagyon kis mennyiségei is kimutathatóak, így ez a módszer át tudja hidalni a felsorolt problémákat (8).

A VEMHESÜLÉSI ZAVAROK KÓRJELZÉSÉNEK ÚJABB MÓDSZEREI

Egyes, specializált laboratóriumokban elsősorban kutatás részére érhetőek el a citokémiai és immunhisztokémiai módszerek, amelyek speciális festési eljárásokat alkalmaznak. Már vannak publikált adatok az endometriumban kimutatható gyulladáshoz vezető mediátorok, növekedési faktorok, sejtalkotó filamentumok jelenlétéről egyes kórképekben (34).

A számítógép alapú morfometria, RT-PCR, ELISA és a genetikai elemzés olyan módszerek, amelyeket 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 a gyakorlatban is el fognak terjedni (35).

A kancák egyedi immunválasza is vizsgálható adott kórokozókra nézve, mivel a méhfolyadékából ki tudtak mutatni specifikus ellenanyagokat adott kórokozók ellen (21).

A molekuláris módszerek által azonosíthatóak a mikrobiális ágensek. Ezen a téren jelentős előrelépések történtek az elmúlt években. Ide tartozó módszerek pl. az *in situ* hibridizáció, a fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH). A FISH segítségével a baktériumok szövettani metszetben történő azonosítása a megfelelő próbák (jelölt szekvenciák) alkalmazásával lehetséges, ám ezeket a módszereket biopsziás mintával még nem használták. További, molekuláris módszerekre alapozott tesztek elvégzésével lehetőség nyílik vírusok és gombák azonosítására, gyulladáshoz vezető mediátorok (citokinek) vagy az endometrialis fibrózissal összefüggésbe hozott növekedési faktorok detektálására. Az újabb kutatások segítségével lehetséges a hormonreceptorok változásainak nyomon követése. Sőt, a különböző gének expressziójának változása is felismerhető, ami alapján igazolni lehet, hogy a kanca az ivarzási ciklus mely stádiumában van éppen (28).

LAPKO és mtsai 2016-ban laboratóriumi körülmények között hoztak létre endometrium hám és strómasejtekből álló közös sejttenyészetet annak érdekében, hogy az ebben a szervben zajló élettani és kóros folyamatokat minél inkább a valósághoz hűen lehessen nyomon követni. A standardizált módszernek a közeljövőben minden bizonnyal nagy jelentősége lesz az endometriumot érintő kórképek (endometritis, endometriosis) vizsgálatában (20).

Az idősebb kancák, amelyek a sportban már teljesítettek, csikójuk korábban nem született, kívánatos alanyai az asszisztált reprodukciós eljárásoknak,

Számos molekuláris diagnosztikai módszer alkalmazható az endometritis diagnosztikában

Számos molekuláris kutatási eredmény született az utóbbi években

mert legtöbbször csak segítséggel tudnak vemhesülni előrehaladott koruk miatt. A humán orvoslásban májfibrózis esetén az őssejtkezelés kedvező eredményeket hozott, ezért egy brazil kutatócsoport tagjai az idült degeneratív endometritisszel diagnosztizált kancákban is megkísérelték. Sikerült bebizonyítani, hogy az endometrialis őssejtkezelésnek nem voltak sem azonnal, sem hosszabb távú káros következményei (1).

2016-ban FEDORKA és mtsai ondóplazma-fehérjék hatását vizsgálták olyan kancákban, amelyek hajlamosak voltak korábban perzisztáló endometrium-gyulladásra. A kancákat 4 csoportban vizsgálták aszerint, hogy mit infundáltak a méhükbe: CRISP-3 fehérjét, laktoferrint, ondóplazmát (pozitív kontroll), vagy Ringer-laktát infúziót (negatív kontroll). A CRISP-3 és a laktoferrin az ondóplazma összetevői, és korábban a gyulladásos válasz csökkentésében találták hatásosnak (14). A vizsgálat kimutatta, hogy az ondóplazma jelenléte növelte az interleukin-1-béta, interleukin-8 mRNS expresszióját, míg a tumor necrosis faktor alfáét (TNF- α) csökkentette; a laktoferrin pedig szintén csökkentette a TNF- α mRNS-expresszióját a vizsgált kancák bioptátumaiban (9).

Alapvetően humánorvosi kutatási eredmények vezették a lipcsei egyetem kutatóit arra, hogy a toll-like receptorokat (TLR) vizsgálják meg lovakban, mivel e receptorok megváltozása kimutatható bizonyos endometrialis betegségekben nőkben (13). Ezek a receptorok a mintázatfelismerő receptorok családjába tartoznak, és közös tulajdonságuk, hogy olyan elemeket ismernek fel, amelyek azonosak a különböző kórokozókban (pl. a Gram-negatív baktériumok lipopoliszacharidjai). A lovak endometriumában kimutatták a TLR-2, -4, -6 típusait, de nem azonos mennyiségben a különböző sejttypusokban. A jövőben további vizsgálatok lesznek ahhoz szükségesek, hogy a toll-like receptorok változásait összekössék bizonyos endometrialis kórképekkel kancákban (31).

AZ ENDOMETRIALIS BIOPSZIA ALKALMAZÁSA HAZÁNKBAN ÉS MEGVITATÁS

Bár a módszer régóta rendelkezésre áll a szaporodásbiológus szakemberek számára, a szerzők tapasztalata az, hogy évente nagyon kevés számban vesznek a gyakorló lovas kollégák ilyen mintákat annak ellenére, hogy ennek a technikának kiemelt jelentősége van a meddő kancák oki diagnózisában; a szerzők saját tapasztalata az, hogy az esetek döntő többségében a kiegészítő szaporodásbiológiai vizsgálatok értékelése diagnózishoz vezet. Személyes beszámolók alapján elsősorban a módszer invazív megítélése miatt tartanak az állatorvosok a mintavételtől, továbbá a biopsziavevő fogó jelentős ára miatt (2016-ban 97000 Ft) nem gyakori a mintavétel. Itt jegyeznénk meg, hogy egy kanca vemhesítése sokszor igen nagy összegekbe kerül, akár millió Ft-os nagyságrendet is elérhet aszerint, hogy mennyire könnyen vemhesül. Érdemes ezért a kérdéses fertilitású kancáknál 2–3 sikertelen vemhesítés után egy speciális szaporodásbiológiai vizsgálatot végeztetni, és konzultálni ilyen területen tapasztalt állatorvossal, mert összességében sok időt, pénzt, és kellemetlenséget lehet így megspórolni. Kifejezetten ajánljuk, hogy ha tenyészcélra vásárolnak kancát, az adásvételi vizsgálat részeként kérjenek részletes szaporodásbiológiai vizsgálatot.

A lelet kiértékelésekor a patológus, a szaporodásbiológus és a gyakorló állatorvos együttes tapasztalataira kell mindenkor támaszkodni, és a szakemberek együttes véleménye alapján ajánlott csak egy-egy állat kezeléséről és sorsáról dönteni a tulajdonos támogató döntése alapján.

A gyakorló kollégák kevés endometrium-biopsziát vesznek a jelenlegi hazai tapasztalatok szerint

IRODALOM

1. ALVARENGA, M. A. – DO CARMO, M. T. – SEGABINAZZI, L. G. et al.: Feasibility and safety of enometrial injection of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in mares. *J. Eq. Vet. Sci.*, 2016. 42. 12–18.

2. BÁBA A. – NAGY P. – HUSZENICZA Gy. – KÓRODI P. – SOÓS I. – SZEREDI L.: A nem vemhes kanca szaporodásbiológiája. In: Lóbetegségek. Eds: HORVÁTH Z., Mezőgazda, Budapest, 2003, 440–465.

3. 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 fibrinosis in the mare. *Theriogenology*, 1987. 28. 445–450.
4. BRINSKO, S. P. – BLANCHARD, T. L. et al.: *Manual of equine reproduction*. 3th ed. Mosby, Philadelphia, 2011. 90–91.
5. BUCKOWSKA, J. – KOZDROWSKI, R. et al.: Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. *Reprod. Biol. Endocrin.*, 12. 27.
6. 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.
7. CAUSEY, R. C. – GINN, P. S. et al.: Mucus production by endometrium of reproductively healthy mares and mares with delayed uterine clearance. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 2000. 56. 333–339.
8. DASCANIO, J. J. – McCUE, P.: *Equine reproductive procedures*. 1st ed., 2015. Oxford, John Wiley and Sons. 46–53.
9. FEDORKA, C. E. – SCOGGIN, K. E. et al.: The effect of select seminal plasma proteins on endometrial mRNA cytokine expression in mares susceptible to persistent mating-induced endometritis. *Reprod. Domest. Anim.*, 2017. 52. 89–96.
10. FERRIS, R. A. – McCUE, P. M. et al.: In vitro efficacy of nonantibiotic treatments on biofilm disruption of Gram-negative pathogens and an in vivo model of infectious endometritis utilizing isolates from the equine uterus. Fenwick BW, ed. *Journal of Clinical Microbiology*, 2016. 54. 631–639.
11. GRIMM, A. L. – SCHOON, H. A. – SCHÖNIGER, S.: Histopathological features of endometritis eosinophila in mares. *Histol. Histopathol.*, 2017. 32. 1161–1173.
12. HEGEDŰS J. – HORVÁTH J. – SZALAI VUCELIC, R. – KISKÁROLY F. – MARINKOVIC, D.: Meddő kancák bakteriológiai és citológiai vizsgálata a vajdasági régióban. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2018. 140. 3–14.
13. HORNE, A. W. – STOCK, S. J. – KING, A. E.: Innate immunity and disorders of the female reproductive tract. *Reproduction*, 2008. 135. 739–749.
14. HURTGEN, J. P.: Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. *Theriogenology*, 2006. 66. 560–566.
15. KATILA, T.: Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. *Reprod. Biol.*, 2016. 16. 189–196.
16. KENNEY, R. M. – DOIG, P. A.: *Equine endometrial biopsy, Current therapy in theriogenology 2nd ed.* Philadelphia, WB Saunders, 1986. 723–729.
17. KENNEY, R. M.: Prognostic value of endometrial biopsy of the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 1975. 347–348.
18. KILGENSTEIN, H. J. – SCHÖNIGER, S. et al.: Microscopic examination of endometrial biopsies of retired sports mares: An explanation for the clinically observed subfertility? *Res. Vet. Sci.*, 2015. 99. 171–179.
19. KOZDROWSKI, R. – SIKORA, M. et al.: Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, 2015. 154. 56–62.
20. LAPKO, L. – BÖTTCHER, D. et al.: Establishment and characterization of a coculture system of equine endometrial epithelial and stromal cells. *Reprod. Domest. Anim.*, 2017. 52. 327–334.
21. LEBLANC, M. – WARD, L. et al.: Identification and opsonic activity of immunoglobulins recognizing *Streptococcus zooepidemicus* antigens in uterine fluids of mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 1991. 44. 289–296.
22. NIELSEN, J. M.: Endometritis in the mare: A diagnosis study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, 2005. 64. 510–518.
23. 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.
24. OVERBECK, W. – WITTE, T. S. – HEUWIESER, W.: Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*, 2011. 75. 1311–1318.
25. REISWIG, J. D. – THRELFALL, W. R. et al.: A comparison of endometrial biopsy, culture and cytology during oestrus and dioestrus in the horse. *Eq. Vet. J.*, 1993. 25. 240–241.
26. RICKETTS, S. W. – ALONSO, S.: Assessment of the breeding prognosis of mares using paired endometrial biopsy techniques. *Eq. Vet. J.*, 1991. 23. 185–188.
27. RICKETTS, S. W. – BARRELET, A.: A retrospective review of the histopathological features seen in a series of 4241 endometrial biopsy samples collected from UK thoroughbred mares over a 25 year period. *Pferdeheilkunde*, 1997. 13. 525–530.
28. 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.
29. SCHOON, D. – SCHOON, H. A. – KLUG, E.: Angioses in the equine endometrium – pathogenesis and clinical correlations. *Pferdeheilkunde*, 1999. 15. 541–546.
30. SCHOON, H. A. – WIEGANDT, I. et al.: Functional disturbances in the endometrium of barren mares: a histological and immunohistological study. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 2000. 56. 381–391.
31. SCOGGIN, C. F.: Endometritis: Nontraditional Therapies. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 2016. 32. 499–511.
32. SEABORN, E.: The oestrus cycle in the mare and some associated phenomena. *Anat. Rec.*, 1925. 30. 277–287.
33. SHIDELER, R. K. – MCCHESENEY, A. E. et al.: Relationship of endometrial biopsy and other management factors on fertility of broodmares. *Eq. Vet. Sci.*, 1982. 1. 5–10.
34. SNIDER, T. A. – SEPOY, C. et al.: Equine endometrial biopsy reviewed: Observation, interpretation, and application of histopathologic data. *Theriogenology*, 2011. 75. 1567–1581.
35. SUMMERFIELD, N. J. – WATSON, E. D.: Endometrial macrophage populations in genitally normal mares at oestrus and dioestrus and in mares susceptible to endometritis. *Eq. Vet. J.*, 1998. 30. 79–81.
36. SZEREDI, L. – TENK, M. – SCHILLER, I. – RÉVÉSZ, T.: Study of the role of Chlamydia, Mycoplasma, Ureaplasma and other microaerophilic and aerobic bacteria in uterine infections of mares with reproductive disorders. *Acta Vet. Hung.*, 2003. 51. 45–52.
37. SZEREDI L.: Fertőző eredetű szaporodási zavarok és vetélések vizsgálata kancákban. Doktori értekezés. Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Doktori Iskola, Budapest, 2003. 80.
38. VINCZE B. – ANGYAL E. – BASKA F. – GÁSPÁRDY A. – SZENCI O.: Az endometrium-biopszia szerepe és alkalmazása a nem vemhesülő kancák vizsgálatában az állatorvosi gyakorlatban. Irodalmi összefoglaló I. rész. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2018. 140. 195–206.

Közlésre ér.: 2017. febr. 13.