

Adenomyosis macicy krów – ukryta przyczyna zaburzeń płodności?

MARIA KATKIEWICZ, MACIEJ WIERZCHOŃ, ZDZISŁAW BORYCZKO

Zakład Rozrodu Zwierząt, Andrologii i Biotechnologii Rozrodu Katedry Nauk Klinicznych
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

Katkiewicz M., Wierzchoń M., Boryczko Z.

Adenomyosis cows' uterus – latent cause of infertility?

Summary

Disturbances in cow fertility are of the greatest problem in bovine breeding. There are latent diseases of reproductive organs, which cannot be diagnosed through routine clinical examinations or imaging methods. Adenomyosis and endometriosis - the advanced syndrome of the above disease – are latent types of uterine disorders. Cow's uteri were studied in order to monitor their health status. 66 uterus horns specimens from slaughtered animals were obtained and histopathological examinations carried out. The routinely stained paraffin section revealed adenomyosis changes in the uteri of 66 cows. The degree of proliferation was variable, and was divided into 4 degrees. Immunocytochemical reactions were performed for visualizing of ER, PR and Ki67 receptors. The results of this research indicated that proliferating endometrial tissue forming the adenomyosis nests expressed the examined receptors. The above histopathological study on cows' adenomyosis showed a close similarity to this syndrome in women which thus may suggest similar hormonal mechanisms of the disease. The study of cow's adenomyosis supports the view that there is a prolonged stimulation of basal glands at the very outset of the disease process and this is followed by proliferation. This is the first thorough study on the problem of cows' uterine adenomyosis.

Keywords: adenomyosis, uterus, cow

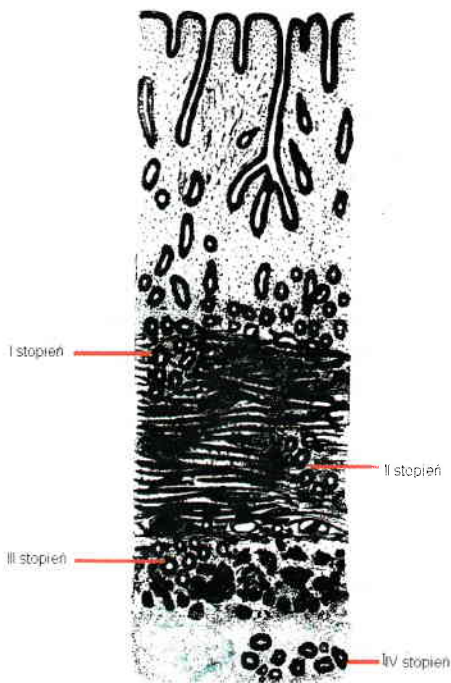
Adenomyosis macicy to proces chorobowy polegający na proliferacji gruczołów macicznych wraz z elementami zrębu sięgający w głąb ściany macicy, najczęściej do błony mięśniowej. Przyczyna powstawania zmian tego typu nie została jak dotąd dokładnie określona, chociaż istnieje kilka teorii na temat etiologii schorzenia (4). *Adenomyosis* macicy opisywana jest u kobiet, u których stanowi dosyć często notowaną zmianę w narządzie rodnym, zwłaszcza w okresie przekwitania (1). Proliferacja *endometrium* u kobiet może osiągać bardzo znaczny stopień zaawansowania, aż do wystąpienia ognisk ektopowej proliferacji *endometrium* na terenie innych narządów sąsiadujących z macicą. Taka forma zmian nie została opisana u zwierząt i nosi nazwę *endometriosis*.

W trakcie prowadzenia badań patomorfologicznych wykonanych na macicach krów pobieranych poubojowo z materiału rzeźnego stwierdzono występowanie podobnych zmian, które manifestowały się różnego stopnia proliferacją gruczołów macicznych w głąb ściany macicy. Było to przesłanką do wykonania szczegółowych badań morfopatologicznych w celu określenia istoty i charakteru tych zmian.

Materiał i metody

Materiał do badań pochodził od 66 krów rasy neb w wieku od 3 do 14 lat, średnio 6-8 lat, skierowanych do uboju w rzeźni. Do badania użyto wycinków rogów macicy, które zawsze pobierano w połowie ich długości. Następnie były one utrwalane w 10% buforowanej formalinie i zatapiane w parafinie. Skrawki mikrotomowe barwiono metodą przeglądową HE. Wybrane skrawki parafinowe naklejone na szkiełka pokryte Silanem służyły do wykonania następujących reakcji immunocytochemicznych (IPOX): wykrycia ekspresji receptorów estrogenowych (ER) przy użyciu przeciwciał monoklonalnych clone cc 4-5 firmy Novocastra NCL-ER-LH2, receptorów progesteronowych (PR) przy użyciu przeciwciał monoklonalnych 1A6 firmy Novocastra NCL-PGR oraz ekspresji receptora Ki 67 – przy użyciu przeciwciał monoklonalnych Ki-67Paraffin-Kit firmy Novocastra.

Zmiany o charakterze *adenomyosis* podzielono na cztery stopnie w zależności od zakresu penetracji *endometrium* w głąb ściany macicy. Kryteria podziału *adenomyosis* w zależności od stopnia nasilenia zmian przedstawia ryc. 1. W *adenomyosis* I stopnia stwierdzana była obecność ognisk proliferacji zrębu *endometrium* wraz z gruczołami w obrębie tkanki łącznej okołonaczyniowej nieco przekraczając



Ryc. 1. Schemat podziału *adenomyosis* w zależności od położenia zmian

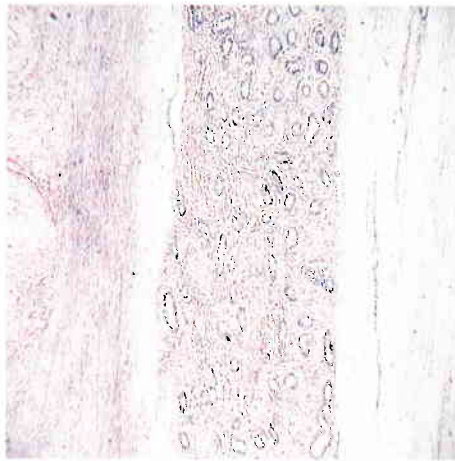
granicę błony śluzowej z warstwą mięśniową. Stopień II *adenomyosis* charakteryzował się obecnością ognisk *adenomyosis* w obrębie wewnętrznej warstwy mięśniowej. W III stopniu *adenomyosis* fragmenty *endometrium* z gruczołami stwierdzano w obrębie zewnętrznej warstwy mięśniowej rogu macicy. W IV stopniu stwierdzano obecność gniazd *adenomyosis* w obrębie błony surowiczej ściany macicy.



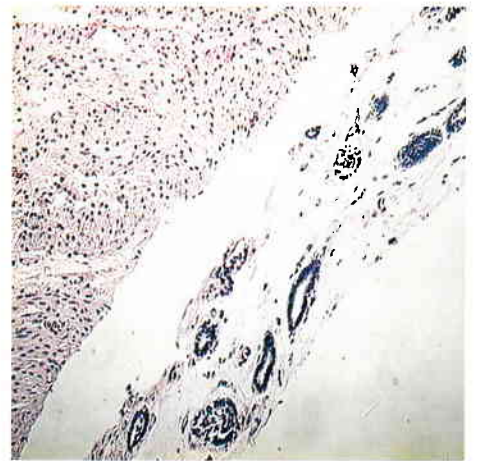
Ryc. 2. *Adenomyosis* I stopnia – początek proliferacji gruczołów postępujący w głąb ściany macicy (HE × 10)



Ryc. 3. *Adenomyosis* II stopnia – widoczna proliferacja gniazd gruczołowych wzdłuż ścian naczyń krwionośnych podśluzowej warstwy błony mięśniowej (HE × 10)



Ryc. 4. *Adenomyosis* III stopnia – widoczne duże gniazdo gruczołowe w obrębie warstwy podsurowiczej błony mięśniowej (HE × 10)



Ryc. 5. *Adenomyosis* IV stopnia – gniazda gruczołowe zlokalizowane w błonie surowiczej (HE × 20)

Wyniki i omówienie

W tab. 1 przedstawiono dane liczbowe oraz odsetek krów, w których stwierdzono poszczególne stopnie *adenomyosis*. W dokonanym podziale, którego celem było określenie stopnia nasilenia zmian w ścianie macicy można było zauważyć dość duży rozrzut osobniczy, obserwowany w liczbie „gniazd” *adenomyosis*. Jakkolwiek wycinki do badań histopatologicznych były pobierane zawsze z tego samego miejsca rogu macicy, to jednak ocena ich liczebności mogła być obciążona pewnym błędem.

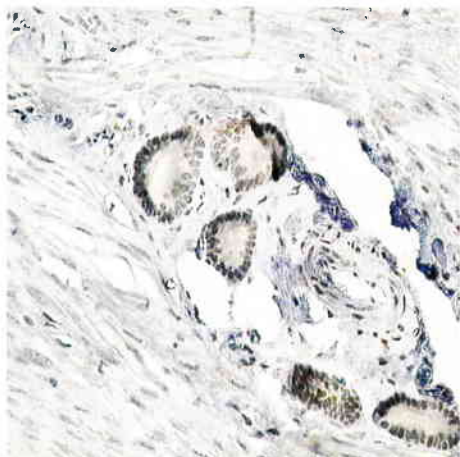
Adenomyosis I stopnia była stwierdzona u 37,88% krów (ryc. 2). Proliferacja gruczołów podstawnych

Tab. 1. Występowanie różnych stopni zaawansowania *adenomyosis* w badanej grupie krów (n = 66)

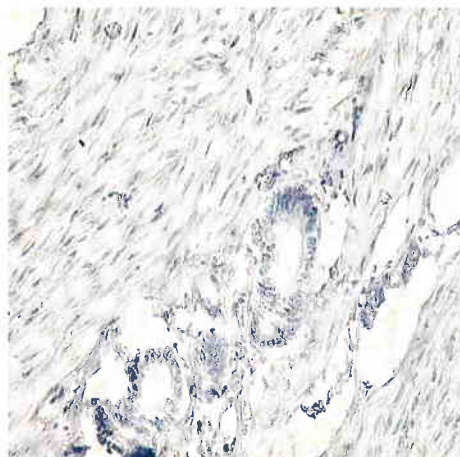
Liczba krów	<i>Adenomyosis</i>			
	I stopień	II stopień	III stopień	IV stopień
66	25	25	15	1
100,00%	37,88%	37,88%	22,72%	1,51%

i zrębu *endometrium* koncentrowała się wzdłuż ścian naczyń krwionośnych. Różny stopień nasilenia proliferacji u poszczególnych krów pozwalał na prześledzenie drogi ekspansji *adenomyosis* w głąb ściany macicy, czego wynikiem było stwierdzenie II stopnia *adenomyosis* (ryc. 3). W tym stopniu zmian chorobowych, stwierdzonych u 37,88% krów, obserwowano niekiedy bardzo rozległe ogniska rozrostowe, zlokalizowane na granicy obu warstw mięśni macicy. W III stopniu zaawansowania *adenomyosis*, które stwierdzono u 22,72% krów, ogniska rozrostowe wystąpiły w obrębie zewnętrznej, surowiczej warstwy mięśni macicy (ryc. 4). W IV stopniu *adenomyosis*, obserwowanym tylko u jednej krowy stwierdzono „gniazda” *adenomyosis* w obrębie błony surowiczej ściany macicy (ryc. 5).

Wyniki badania immunocytochemicznego wybranych wycinków rogów macicy wykazały, że proliferujące fragmenty *endometrium* zachowały cechy prawidłowej błony śluzowej. Dowodem na to była obecność ekspresji badanych receptorów. W badanych wycin-



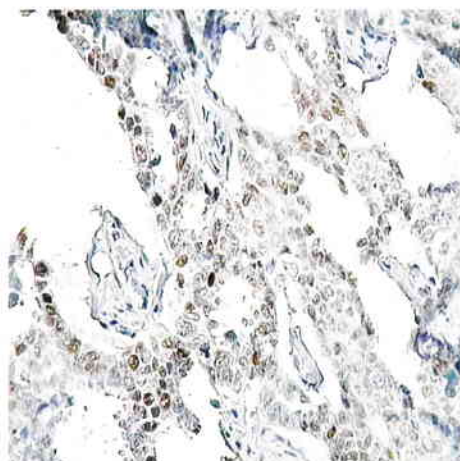
Ryc. 6. Ekspresja jądrowych receptorów ER w komórkach gruczołowych oraz cięń ekspresji w jądrach komórek mięśniowych w *adenomyosis* II stopnia (IPOX \times 20)



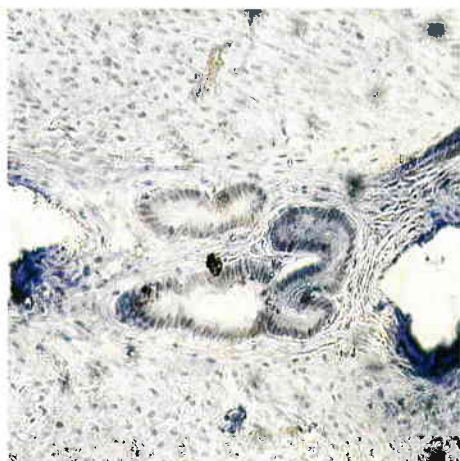
Ryc. 7. Brak ekspresji jądrowych receptorów ER w macicy przy *adenomyosis* II stopnia (IPOX \times 20)



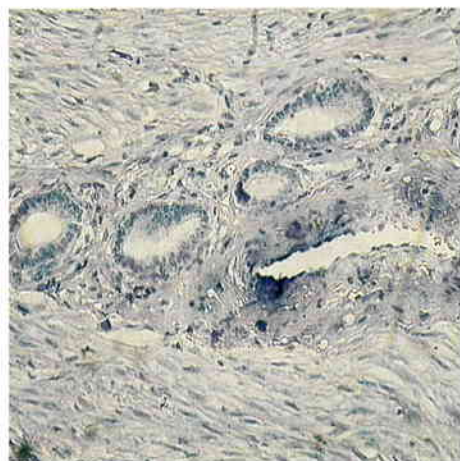
Ryc. 8. Brak ekspresji jądrowych receptorów PR w macicy przy *adenomyosis* II stopnia (IPOX \times 20)



Ryc. 9. Macica kontrolna z wyraźną ekspresją receptorów jądrowych PR w komórkach *endometrium* (IPOX \times 40)



Ryc. 10. *Adenomyosis* II stopnia – widoczna ekspresja receptorów jądrowych Ki 67 w komórkach gruczołowych (IPOX \times 20)



Ryc. 11. *Adenomyosis* II stopnia – widoczny brak ekspresji receptorów jądrowych Ki 67 w komórkach gruczołowych (IPOX \times 20)

kach stwierdzono ekspresję receptorów estrogenowych (ER) widoczną w różnym stopniu nasilenia (ryc. 6 i 7), co należy tłumaczyć występowaniem różnej fazy cyklu płciowego w momencie wykonania uboju. Podob-

ne cechy stwierdzono w ekspresji receptorów progesteronu (PR) (ryc. 8) w porównaniu z kontrolą (ryc. 9), jak i zachowania się ekspresji antygenu proliferacyjnego Ki 67 (ryc. 10 i 11).

Stwierdzona u badanych krów proliferacja zrębu i gruczołów podstawnych błony śluzowej macicy stanowi bez wątpienia wyraz patologicznej stymulacji hormonalnej. Dowodem na to może być fakt zachowania wrażliwości na działanie hormonów komórek tworzących ogniska *adenomyosis*, wyrażonej obecnością ekspresji receptorów dla hormonów płciowych oraz antygenu Ki 67. Powtarzane w cyklu lub też patologiczne bodźce hormonalne były przypuszczalnie przyczyną stopniowego narastania zmian chorobowych, które potwierdza stopień zaawansowania *adenomyosis*.

Powszechnie przyjęty podział błony śluzowej macicy ssaków na dwie warstwy – funkcjonalną i podstawną – znajduje swoje uzasadnienie w czynności obu warstw. Jakkolwiek u bydła tylko niekiedy pojawia się krwawienie w czasie rui, to jest to proces wskazujący na istnienie w części funkcjonalnej *endometrium* pewnych zmian wstecznych występujących cyklicznie, podobnie jak ma to miejsce u kobiet i naczelnych.

Dokonując dokładnej obserwacji zmian strukturalnych w *endometrium* pojawiających się w przebiegu prawidłowego cyklu płciowego, ponadto popartych badaniami zmian zachodzących w ekspresji receptorów dla estrogenów i progesteronu można przypuszczać, że istnieje pewna przewaga w wrażliwości na działanie jednego z obu tych hormonów w wymienionych warstwach *endometrium*. Wyniki badań molekularnych stężenia mRNA receptorów estrogenowych alfa i progesteronu wskazują, że u krów są one wysokie w rui, a niskie w fazie lutealnej

cyklu (7). Istnieje także opinia, co do której nie ma całkowitej zgodności, że estradiol wywiera wpływ stymulujący na ekspresję zarówno receptora estrogenowego alfa, jak i receptorów progesteronowych, zaś pro-

gesteron zawsze ma działanie hamujące (4, 7). W oparciu o wyniki cytowanych badań hormonalnych można jednak przypuszczać, że patologiczna stymulacja wywierana przez estrogeny jest w głównej mierze odpowiedzialna za wystąpienie zmian w całym *endometrium*.

W niniejszych badaniach szczególną uwagę poświęcono proliferacji gruczołów podstawnych wraz ze zrębem *endometrium*. Można przypuszczać, że zmiany te stanowiły wyraz zaburzeń funkcjonalnych w obrębie macicy, przypuszczalnie spowodowanych długotrwałą stymulacją wywieraną przez estrogeny.

Podsumowanie

Otrzymane wyniki wskazują, że u wysokiego odsetka krów występuje *adenomyosis* macicy. Brak jest w literaturze fachowej dokładnych informacji na temat *adenomyosis* macicy krów. O *adenomyosis* macicy krów i innych gatunków zwierząt pisze krótko McEntee w podręczniku patologii narządu rozrodczego, a wspomniana notatka dotyczy kontynentu amerykańskiego (4). W Europie brak jest danych dotyczących *adenomyosis* u krów. Przyczyna takiego stanu wydaje się prosta – aby stwierdzić występowanie *adenomyosis* macicy konieczne jest wykonanie badania histopatologicznego. Opisywanych zmian chorobowych w rogach macicy krów bez względu na stopień nasilenia nie można rozpoznać metodami badania klinicznego. Jakkolwiek u większości badanych krów stwierdzono obecność *adenomyosis* ocenionej na I i II stopień choroby, to jednak zmiany te mogły być powodem zaburzeń w funkcji macicy. Obecność *adenomyosis* stanowi odbicie zaburzeń hormonalnych w stężeniach hormonów płciowych i należy sądzić, że krowy obarczone tą chorobą mogą wykazywać zaburzenia w płodności.

Adenomyosis macicy stanowi typ zmian o charakterze nieodwracalnym, a obecność ekspresji receptorów dla estrogenów, progesteronu i antygenu Ki 67 wskazuje na występowanie wrażliwości na bodźce hormonalne i w związku z tym występowanie stałej progresji zmian chorobowych. Skala występowania tego zjawiska nakazuje konieczność poszukiwania czynników, także środowiskowych, które są odpowiedzialne za wystąpienie u krów tej choroby.

Wśród licznych danych dotyczących *endometriosis* kobiet ukazało się w ostatnim okresie opracowanie, w którym określono charakter zaburzeń genetycznych związanych z predyspozycją do pojawienia się tej choroby (6). Informacja ta zasługuje na szczególne podkreślenie z uwagi na znaczenie genetycznie uwarunkowanych chorób w hodowli zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Adashi E. Y., Rock J. A., Rosenwaks Z.: Reproductive endocrinology surgery and technology. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York 1995.
2. Ing N. H., Tomesi M. B.: Estradiol up-regulates estrogen receptor and progesterone gene receptor expression in specific ovine uterine cells. Biol. Reprod. 1997, 56, 1205-1215.
3. Kurpisz M.: Molekularne podstawy rozrodczości człowieka i innych ssaków. Wyd. Medyczne Termedia, Poznań 2002, 289-298.
4. Meuten D. J.: Tumors in Domestic Animals. Iowa State Press 2002.
5. Spencer T. E., Bazer F. W.: Temporal and spatial alterations in uterine estrogen receptor and progesterone receptor gene expression during the estrus cycle and early pregnancy. Biol. Reprod. 1995, 53, 1527-1543.
6. Teramoto M., Kitawaki J., Koshihara H., Kitaoka Y., Obayashi H., Hasegawa G., Nakamura N., Yoshikawa T., Matsushita M., Maruya E., Saji H., Ohta M., Honjo: Genetic contribution of tumor necrosis factor (TNF)-alpha gene promoter (-1031, -863 and -857) and TNF receptor gene polymorphism in endometriosis susceptibility. Am. J. Reprod. Immunol. 2004, 51, 352-357.
7. Xiao C. W., Goff A. K.: Hormonal regulation of oestrogen and progesterone receptors in cultured bovine endometrial cells. J. Reprod. Fertil. 1998, 115, 101-109.

Adres autora: prof. dr hab. Maria Katkiewicz, ul. Ebro 45, 01-490 Warszawa

Anons wydawniczy

W pierwszym kwartale 2006 r. ukaze się nowa pozycja książkowa:

ZWIERZĘTA RZEŻNE I MIĘSO – OCENA I HIGIENA

autor: prof. Edmund K. Prost

Wydawca: Lubelskie Towarzystwo Naukowe, Plac Litewski 2, 20-080 Lublin
tel./fax (81) 532 13 00, e-mail: biuro@ltn.lublin.pl

Informacje i ewent. zamówienia u Wydawcy

Nakład ograniczony