

Mechanizm odklejenia łożyska u klaczy

ANNA RAPACZ-LEONARD, ANDRZEJ RAŚ, TOMASZ E. JANOWSKI

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn

Rapacz-Leonard A., Raś A., Janowski T. E.
Mechanism for placenta detachment in mares

Summary

Retained placenta is one of the most common peripartum complications in mares. It delays the recovery of the uterus, decreases fertility, and can be life-threatening. The mechanism of normal placenta release is unknown. In addition to systemic hormonal changes affecting the process of placenta separation, it is supposed that local mechanisms at the cellular level may play an important role in this process. It is known that the incidence of retained placenta correlates with reduced expression of classic class I major histocompatibility complex protein (classic MHC I) in cows' placentas. In mares, classic MHC I is expressed in early pregnancy, but it is unknown if classic MHC I is expressed again in peripartum and if reduced expression correlates with retained placenta in mares. Both early and late expression seem likely, because early expression would prepare mares to reject placenta tissues if MHC is expressed peripartum. This article discusses how MHC I is expressed in placental tissues; how it affects lymphocyte migration, metalloproteinase activation, and extra-cellular matrix remodelling in those tissues; and how various factors can affect MHC I activation. The paper also describes a hypothesis for the mechanism of placenta separation in mares based on the similarity of these processes in other species that have been more extensively studied.

Keywords: horse, retained placenta, fetal membranes

Mechanizm odklejenia łożyska podczas porodu u ludzi i zwierząt pozostaje wciąż niewyjaśniony. Nieznajomość tych procesów uniemożliwia prognozowanie i wczesne zastosowanie odpowiedniego leczenia w przypadku wystąpienia zaburzeń tego procesu (zatrzymania łożyska).

Proces wydalania łożyska przebiega z reguły w ciągu kilkunastu minut. U klaczy trwa on najczęściej od 0,5 do 1 godziny (5), zaś w pełni powinien być zakończony do 3 godzin od wyparcia płodu (30, 41).

Zatrzymanie łożyska jest jedną z najczęstszych komplikacji okresu okołoporodowego u klaczy (nawet do 54% osobników w stadzie), o wciąż niewyjaśnionej patogenezie. Ponadto konie wydają się szczególnie wrażliwym gatunkiem na jego konsekwencje (8, 27, 43). Zalegające tkanki błon płodowych ulegają szybkiemu rozkładowi, prowadząc do intoksykacji, wystąpienia objawów ochwatu poporodowego, a nawet prowadząc do śmierci zwierzęcia. Po zatrzymaniu łożyska często rozwija się *endometritis puerperalis*, które opóźnia proces inwolucji macicy i negatywnie wpływa na późniejszą płodność (3, 12, 19, 20, 30, 32, 43, 47).

W dostępnym piśmiennictwie brakuje szczegółowych danych dotyczących etiopatogenezy zatrzymania łożyska u klaczy. Większość publikacji skupia się na metodach leczenia tego schorzenia (15, 19, 20, 27, 40). Na podstawie dużej skuteczności leczenia powtarzanymi iniekcjami oksytocyny autorzy sugerują, że najczęst-

szą przyczyną zatrzymania łożyska jest atonia macicy (1, 10, 35, 40). Natomiast w badaniach własnych (33) atonia macicy wystąpiła tylko u 6% na 100 klaczy zimnokrwistych z zatrzymaniem łożyska. Sugeruje to, że zależności te nie są tak jednoznaczne. Także inni autorzy są zdania, że raczej interakcje pomiędzy komórkami nabłonka omocznikokosmówki a endometrium mogą odgrywać w tych procesach pierwszoplanową rolę (4, 28, 31).

Zmiany endokrynologiczne prowadzące do odklejenia łożyska

Zainicjowanie porodu poprzez pobudzenie osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej płodu (CRH- ACTH -kortyzol) stymuluje endometrium do produkcji $\text{PGF}_{2\alpha}$ i PGE_2 (9). Przygotowują one macicę (wzrost stężenia jonów Ca^{2+} w miometrium) i szyjkę maciczną do porodu (9, 31, 34). Aktywacja syntezy prostaglandyn, poprzez przedporodowy wzrost poziomu estradiolu 17β pochodzącego z łożyska (9) bądź przypuszczalnie, tak jak u krów, z gruczołu mlekowego (22), inicjuje gwałtowną ekspresję receptorów oksytocynowych w endometrium i omocznikokosmówce (9, 17, 18, 45). Największy wyrzut oksytocyny związany jest z pęknięciem omocznikokosmówki i wyzwoleniem odruchu Fergussona przy przechodzeniu płodu przez szyjkę maciczną (26, 48). Poziom prostaglandyn i oksytocyny pozostaje wysoki aż do wydalania łożyska, po czym

stopniowo obniża się (48). Zarówno prostaglandyny, jak i oksytocyna najprawdopodobniej przyczyniają się do odklejenia i wydalania łożyska, jednakże nie wydaje się, aby odgrywały one kluczową rolę w tym procesie (30), bowiem u klaczy, u których doszło do zatrzymania łożyska, poziom oksytocyny i prostaglandyny $F_{2\alpha}$ we krwi obwodowej był podobny jak u klaczy, które wydal�y łożysko w prawidłowym czasie (48). Badania te wskazywałyby, że jeśli oddziaływanie tych hormonów w mechanizmie odklejenia łożyska ma miejsce, to może ono odbywać się raczej na poziomie komórkowym, a nie ogólnoustrojowym. Generalnie należy uznać, że problematyka ta jest jeszcze niewyjaśniona.

Zmiany immunologiczne prowadzące do odklejenia łożyska

Moment zapoczątkowujący proces odklejenia łożyska pozostaje nieznan. Obecnie u koni przyjmuje się hipotezę Roberts (37), według której na skutek zmiany ciśnienia osmotycznego po przerwaniu sznura pępowinowego komórki nabłonnka omocznikokosmówki wydzielają do przestrzeni międzykomórkowej płyn cytoplazmatyczny. Indukuje to zmniejszenie komórek nabłonnka, a tym samym redukuje wymiary kosmków. Skurcze łożyska brzusznej, które wcześniej pozwoliły na wydalenie płodu, nie są angażowane w ten proces (11, 23, 37). Miometrium natomiast zachowuje wysoką aktywność skurczową aż do wyparcia łożyska (16, 30). Leiser i wsp. (28) podali w wątpliwość to, że w procesie oddzielania omocznikokosmówki od endometrium bierze udział tylko czynnik mechaniczny. Autorzy ci główne znaczenie przypisywali zmianom tkanekowym na styku omocznikokosmówki i endometrium. Znalazło to także częściowe potwierdzenie w badaniach własnych, w których występowanie zmian histopatologicznych w omocznikokosmówce, takich jak zwłóknienie oraz przerost tkanki łącznej, uniemożliwiało zmniejszenie rozmiarów nabłonnka, doprowadzając do jego obrzęku. Ponadto powyższe zmiany powodowały zgrubienie i zeszczywnienie omocznikokosmówki, przez co uniemożliwiały jej samoistne wydalenie i były przyczyną zatrzymania łożyska (33).

Wydaje się, że w procesie odklejenia łożyska u klaczy dużą rolę odgrywiają lokalne mechanizmy na poziomie funkcji komórek i tkanek, które dotąd zostały opisane tylko u krów (6, 7, 24, 25). Jednym z takich procesów może być ekspresja klasycznych białek zgodności tkankowej klasy I (classic MHC I – Major Histocompatibility Complex I). U krów do prawidłowego histologicznego dojrzewania łożyska (przemiana z łożyska nabłonnkowo-kosmówkowego w łącznotkankowo-kosmówkowe (13)), a przede wszystkim do zainicjowania procesu odklejenia łożyska niezbędna jest ekspresja klasycznych białek MHC I w okresie poprzedzającym poród (7, 24, 25). Białka MHC I odpowiedzialne za zainicjowanie powyższych zmian prowadzących do odklejenia łożyska były u tych zwierząt obecne na komórkach kosmówki od strony styku z endometrium. Oba zespoły badawcze (7, 25) wykazały niezależnie,

że u krów, które charakteryzowały się obniżoną ekspresją MHC I, występowało zatrzymanie łożyska.

U koni Bacon i wsp. (2) badali ekspresję białek MHC I, ale wyłącznie na początku ciąży. Prezentacja antygeny na powierzchni kosmówki wnikaącej w endometrium (tworzenie się kubków endometrialnych) miała miejsce pomiędzy 32. a 36. dniem ciąży, w późniejszym okresie białka te zanikały. Zjawisko to jest zapewne częścią mechanizmu macicznego rozpoznania ciąży u koni (2). Podobne zjawisko zostało także opisane u małp, u których do prezentacji MHC I dochodziło w początkowym etapie ciąży (36. dzień) (42). Można założyć, że u tych gatunków, podobnie jak u krów, białka MHC I ulegają ponownej ekspresji w okresie okołoporodowym, w celu aktywacji mechanizmu odklejenia łożyska. Sevinga (39) sugerował, że u klaczy zbyt słaba ekspresja białek MHC I w okresie okołoporodowym może przyczynić się do wystąpienia zatrzymania łożyska, jednak sugestie tego autora, bazujące wyłącznie na dużej zbieżności sekwencji genów kodujących MHC I u klaczy i ich płodów nie uzyskały jak dotąd powszechnej akceptacji.

Podsumowując, nie zostało dotąd zbadane, czy u krów białka MHC I ulegają aktywacji we wczesnej fazie ciąży, jak również czy u klaczy i małp ulegają one reaktywacji podczas porodu. Generalnie wydaje się, że białka MHC I mogą ulegać aktywacji na początku ciąży, a następnie reekspresji w trakcie porodu. Mechanizm ten zapoczątkowałby immunologiczne przygotowanie matki do odrzucenia tkanek łożyska podczas porodu. Procesy te są skomplikowane i mają charakter kaskady, której pierwszym elementem jest zwiększona migracja limfocytów do tkanek łożyska.

Mechanizm zwiększonej aktywności chemotaktycznej limfocytów został dobrze poznany u krów, u których w przypadkach zatrzymania łożyska wykazano ponadto upośledzoną aktywność chemotaktyczną limfocytów (13). Fizjologicznie pobudzone limfocyty stymulują uwalnianie prozapalnych cytokin (6) oraz powodują aktywację specyficznych metaloproteinaz (21, 38). Metaloproteinazy mają kolejno zdolność do degradacji białek macierzy zewnątrzkomórkowej ECM (extracellular matrix), takich jak: fibronektyna, vitronektyna czy osteopontyna. Aktywacja metaloproteinaz indukuje degenerację białek macierzy zewnątrzkomórkowej na powierzchni styku tkanek łożyska, co najprawdopodobniej powoduje stopniowe rozluźnienie połączenia omocznikokosmówki z endometrium (36, 44, 46). Aktywację metaloproteinaz stymuluje również przedporodowy wzrost kortyzolu płodowego trwający z reguły wiele dni (14). Zjawisko to może świadczyć o stopniowym przygotowaniu tkanek łożyska do wydalania na długo przed rozpoczęciem porodu. Znajduje to częściowe potwierdzenie w powszechnie znanej praktyce wywoływania porodu u krów, gdzie po podaniu preparatów kortykosteroidowych długo działających (triamcinolon) odsetek krów z zatrzymaniem łożyska jest dużo niższy niż po podaniu preparatów prostaglandynowych (29, 49).

Podsumowanie

Wieloletnie badania prowadzone na poziomie oznaczenia hormonów we krwi obwodowej nie przyniosły wyjaśnienia mechanizmu zatrzymania łożyska. Być może kluczową rolę odgrywają tutaj procesy odbywające się na poziomie komórek i tkanek, zapoczątkowane przez ekspresję białek zgodności tkankowej (MHC I). Być może czynniki te inicjują dalszą kaskadę zmian immunologicznych i biochemicznych w tkankach łożyska, rozluźniających połączenie omocznokosmówki z endometrium. Prawidłowy przebieg tych procesów jest niezbędnym warunkiem do mechanicznego wydalania błon płodowych kontrolowanego głównie przez oksytocynę i skurcze mięśniówki macicy, co ma miejsce w następnym etapie.

Piśmiennictwo

- Aurich C.: Reproduktionsmedizin beim Pferd. Parey Verlag, Stuttgart 2005, s. 209-224.
- Bacon S. J., Ellis, Antczak D. F.: Control of expression of major histocompatibility complex genes in horse trophoblast. Biol. Reprod. 2002, 66, 1612-1620.
- Belz J. P., Glatzel P. S.: Fruchtbarkeit bei Stuten nach gestörtem bzw. ungestörtem Puerperium. Aussagekraft histologischer und cytologischer Untersuchungen des Uterus. Tierärztl. Prax. 1995, 23, 267-272.
- Boos A., Janssen V., Mülling C.: Proliferation and apoptosis in bovine placentomes during pregnancy and around induced and spontaneous parturition as well as in cows retaining the fetal membranes. Reproduction 2003, 126, 469-480.
- Cole H. H., Cupps P. T.: Reproduction in domestic animals. Academic Press, New York and London 1977, 401-433.
- Davies C. J.: Why is the fetal allograft not rejected? J. Anim. Sci. 2007, 85, E32-E35.
- Davies C. J., Hill J. R., Edwards J. L., Schrick F. N., Fischer P. J., Eldridge J. A., Schlafer D. H.: Major histocompatibility antigen expression on the bovine placenta: its relationship to abnormal pregnancies and retained placenta. Anim. Reprod. Sci. 2004, 82-83, 267-280.
- Dolente B. A., Sullivan E. K., Boston R., Johnston J. K.: Mares admitted to a referral hospital for postpartum emergencies: 163 Cases (1992-2002). J. Vet. Emerg. Crit. Care 2005, 15, 193-200.
- Fowden A. L., Forhead A. J., Ousey J. C.: The endocrinology of equine parturition. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes 2008, 116, 393-403.
- Frazer G. S.: Postpartum complications in the mare. Part 2: Fetal membrane retention and conditions of the gastrointestinal tract, bladder and vagina. Equine Vet. Edu. 2002, 14, 50-59.
- Ginther O. J.: Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspect. Equiservices, Wisconsin 1992, 459-461.
- Glatzel P. S., Belz J. P.: Fruchtbarkeit bei Stuten nach gestörtem bzw. ungestörtem Puerperium. Aussagekraft klinischer, mikrobiologischer und hormonanalytischer Untersuchungen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1995, 108, 367-372.
- Grunert E.: Current Therapy in Theriogenology: Etiology and Pathogenesis of Retained Bovine Placenta. Saunders, Philadelphia 1986.
- Guller S., Wozniak R., Krikun G., Burnham J. M., Kaplan P., Lockwood C. J.: Glucocorticoid suppression of human placental fibronectin expression: implications in uterine-placental adherence. Endocrinology 1993, 133, 1139-1146.
- Haffner J. C., Fecteau K. A., Held J. P., Eiler H.: Equine retained placenta: technique for and tolerance to umbilical artery injections of collagenase. Theriogenology 1998, 49, 711-716.
- Haluska G. J.: Pregnancy and labor in the mare: uterine activity and endocrinology. Tierärztl. Prax. Suppl. 1989, 4, 56-62.
- Haluska G. J., Currie W. B.: Variation in plasma concentrations of oestradiol-17 β and their relationship to those of progesterone, 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F-2 α and oxytocin across pregnancy and at parturition in pony mares. J. Reprod. Fert. 1988, 84, 635-646.
- Hu J., Braileanu G. T., Mirando M. A.: Oxytocin stimulates prostaglandin F (2 alpha) secretion from porcine endometrial cells through activation of calcium-dependent protein kinase C. Prostaglandins 2001, 65, 85-101.
- Ishii M., Jitsukawa T., Shimamura T., Utsumi A., Endo M., Yamanoi T.: Effect of placental retention time and associated treatments on reproductive performance in heavy draft horses. J. Equine Vet. Sci. 1999, 19, 117-121.
- Ishii M., Ogata H., Shimizu H., Takeuchi Y., Nozawa T., Yamamoto Y., Okamoto T., Shimamura T., Utsumi A., Jitsukawa T., Endo M., Fakuda T., Yamanoi T.: Effects of vitamin E and selenium administration on pregnant, heavy draft mares on placental retention time and reproductive performance and on white muscle disease in their foals. J. Equine Vet. Sci. 2002, 22, 213-220.
- Jaeger L. A., Johnson G. A., Ka H., Garlow J. G., Burghardt R. C., Spencer T. E., Bazer F. W.: Functional analysis of autocrine and paracrine signaling at the uterine-conceptus interface in pigs. Reprod. Suppl. 2001, 58, 191-207.
- Janowski T. E., Zduńczyk S., Malecki-Tepicht J., Barański W., Raś A.: Mammary secretion of oestrogens in the cow. Domest. Anim. Endocrinol. 2002, 23, 125-137.
- Jeffcott L. B.: Observations on the parturition in crossbred pony mares. Equine Vet. J. 1972, 4, 209-215.
- Joosten I., Hensen E. J.: Retained placenta: an immunological approach. Anim. Reprod. Sci. 1992, 28, 451-461.
- Joosten I., Sanders M. F., Hensen E. J.: Involvement of major histocompatibility complex class I compatibility between dam and calf in the aetiology of bovine retained placenta. Anim. Genet. 1991, 22, 455-463.
- Kotwica G., Janowski T., Zduńczyk S., Raś A.: Oxytocin plasma levels in cows with normal parturition or dystocia and with placental retention. Exp. Clin. Endocrinol. 1989, 95, 203-209.
- LeBlanc M.: Common Peripartum Problems in the Mare. J. Equine Vet. Sci. 2008, 28, 709-715.
- Leiser R., Pfarrer C., Abd-Elnaeim M., Dantzer V.: Feto-maternal anchoring in epitheliochorial and endotheliochorial placental types studied by histology and microvascular corrosion casts. Trophoblast Res. 1998, 12, 21-39.
- MacDiarmid S. C.: Induction of parturition in cattle using corticosteroids: A review. Part 2. Effects of induced calving on the calf and cow. Anim. Breed. Abstr. 1983, 51, 499-508.
- McKinnon A. O., Voss J. L.: Equine Reproduction. Lea and Febiger, Philadelphia 1992, 509-621.
- Paździor K., Rapacz A., Rotkiewicz T., Raś A.: Proliferation and apoptosis in fetal membranes and endometrium during placental retention in heavy draft mares. J. Equine Vet. Sci. 2012, 32, 80-84.
- Provencher R., Threlfall W. R., Murdick P. W., Wearnly W. K.: Retained fetal membranes in the mare: a retrospective study. Can. Vet. J. 1988, 29, 903-910.
- Rapacz A., Paździor K., Raś A., Rotkiewicz T., Janowski T. E.: Retained fetal membranes in heavy draft mares associated with histological abnormalities. J. Equine Vet. Sci. 2012, 32, 38-44.
- Reuben J. R., Hodgson D. R.: Manual of Equine Practice. Saunders, Philadelphia 2000, 357-360.
- Richter J., Götze R.: Tiergeburtshilfe. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1993, 401-403.
- Riley S. C., Webb C. J., Leask R., McCaig F. M., Howe D. C.: Involvement of matrix metalloproteinases 2 and 9, tissue inhibitor of metalloproteinases and apoptosis in tissue remodeling in the sheep placenta. J. Reprod. Fert. 2000, 118, 19-27.
- Roberts S. J.: Parturition. Veterinary Obstetrics and Genital Diseases Theriogenology. Woodstock, Vermont 1986, s. 245-262.
- Salomonson L. A., Nagase H., Wooley D. E.: Matrix metalloproteinases and their inhibitors at the ovine trophoblast-uterine interface. J. Reprod. Fert. Suppl. 1995, 49, 29-37.
- Sevinga M.: Retained placenta in Friesian horses. Praca dokt., Utrecht 2004, 57-68.
- Sevinga M., Barkema H. W., Hesselink J. W.: Serum calcium and magnesium concentrations and the use of a calcium-magnesium-borogluconate solution in the treatment of Friesian mares with retained placenta. Theriogenology 2002, 57, 941-947.
- Sevinga M., Barkema H. W., Stryhn H., Hesselink J. W.: Retained placenta in Friesian mares: incidence, and potential risk factors with special emphasis on gestational length. Theriogenology 2004, 61, 851-859.
- Slukvin I. I., Lunn D. P., Watkins D. I., Golos T. G.: Placental expression of the nonclassical MHC class I molecule Mamu-AG at implantation in the rhesus monkey. PNAS 2000, 97, 9104-9109.
- Sobiraj A.: Die "reife" Plazenta des Rindes: Placents epitheliochorialis oder Placenta syndesmochorialis? – Ultrastrukturelle Untersuchungen an Placentomen nach termingerechten Spontangeburt. Reprod. Dom. Anim. 1991, 26, 175.
- Spencer T. E., Bazer F. W.: Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. Reprod. Biol. Endocrinol. 2004, 5, 249.
- Starbuck G. R., Stout T. A. E., Lamming G. E., Allen W. R., Flint A. P.: Endometrial oxytocin receptor and uterine prostaglandin secretion in mares during the estrous cycle and early pregnancy. J. Reprod. Fert. 1998, 113, 173-179.
- Steven D. H.: Separation of the placenta in the ewe: an ultrastructural study. J. Exp. Physiol. 1975, 60, 37-44.
- Vandeplassche M., Spincemaille J., Bouters R., Bonte P.: Die Micro-Retentio secundinarum bei der Stute. Tierärztl. Umschau 1972, 7, 319-324.
- Vivrette S. L., Kindahl H., Munro C. J., Roser J. F., Stabenfeldt G. H.: Oxytocin release and its relationship to dihydro-15-keto PGF $_{2\alpha}$ and arginine vasopressin release during parturition and to suckling in postpartum mares. J. Reprod. Fert. 2000, 119, 347-357.
- Zduńczyk S.: Badania nad hormonalnymi i klinicznymi aspektami indukowania porodów u krów. Acta Acad. Agric. Tech. Olszt. Veterinaria 1996, 22, 3-38.

Adres autora: dr Anna Rapacz-Leonard, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn; e-mail: anna.rapacz@uwm.edu.pl