

## CITOLOGINIAI KIAULIŲ ENDOMETRIUMO POKYČIAI LYTINIO CIKLO IR ANOESTRUS METU

Vita Riškevičienė<sup>1</sup>, Birutė Karvelienė<sup>1</sup>, Neringa Sutkevičienė<sup>2</sup>, Irina Radziulienė<sup>1</sup>, Henrikas Žilinskas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Užkrečiamųjų ligų katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, Kaunas*

*tel. (8~37) 36 33 18; el. paštas: vitarisk@lva.lt; birutek@lva.lt; irina.radziuliene@lva.lt*

<sup>2</sup>*Neužkrečiamųjų ligų katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, Kaunas*

*tel. (8~37) 36 33 18; el. paštas: hezil@lva.lt; nerija@lva.lt*

**Santrauka.** Mūsų darbo tikslas buvo nustatyti, kaip imuninės ląstelės pasiskirsto reprodukcijos sutrikimų turinčių kiaulių endometriume bei estradiolio-17 β ir progesterono pokyčius kraujo plazmoje lytinio ciklo ir *anoestrus* metu.

Sutrikusios reprodukcijos kiaulių citologiniai tyrimai, nustatant imuninių ląstelių infiltraciją gimdos audiniuose lytinio ciklo ir *anoestrus* metu, iki šiol atlikti nebuvo.

Skirtingų lytinio ciklo stadijų metu kiaulių endometriume vyravo limfocitai, plazminės ląstelės ir makrofagai. Rujos metu endometriumo paviršiniame epiteliname, stromoje bei liaukiniame sluoksniuose vyravo limfocitai. Nustatyta, kad limfocitų kiekis paviršiniame endometriumo epitelyje teigiamai koreliavo su limfocitų kiekiu stromoje bei liaukiniame sluoksnyje ( $r=0,4$  ir  $r=0,2$ ;  $p<0,01$ ). Porujo metu endometriumo stromoje, o ankstyvojo porujo metu liaukiniame sluoksnyje vyravo eozinofilai ( $p<0,05$ ). *Anoestrus* metu endometriumo paviršiniame bei liaukiniame epitelinuose sluoksniuose ryškiausia buvo neutrofilų infiltracija, o eozinofilų ir makrofagų nerasta nė viename endometriumo sluoksnyje ( $p<0,05$ ).

**Raktažodžiai:** paršavedė, sutrikusi reprodukcija, endometriumas, imuninės ląstelės, *anoestrus*.

## CYTOLOGICAL CHANGES IN ENDOMETRIUM OF SOWS DURING OESTRUS CYCLE AND ANOESTRUS

Vita Riškevičienė<sup>1</sup>, Birutė Karvelienė<sup>1</sup>, Neringa Sutkevičienė<sup>2</sup>, Irina Radziulienė<sup>1</sup>, Henrikas Žilinskas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Infectious Diseases, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės Str. 18, Kaunas, Lithuania*

*tel.: +370 37363318; e-mail: vitarisk@lva.lt*

<sup>2</sup>*Department of Non-Infectious Diseases, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės Str. 18, Kaunas, Lithuania*

**Summary.** The aim of performed research was to define morphological changes in the uterus endometrium of sows with disturbed reproduction during the *oestrus* cycle and *anoestrus* condition and to study changes of progesterone and estradiol-17β concentration in blood plasma.

Cytological investigations of sows with disturbed reproduction endometrium were carried out for the first time, infiltration of the immune cells during different stages of *oestrus* cycle and *anoestrus* condition were studied.

Histological investigation of uterus horns leads to the conclusion that during different stages of *oestrus* cycle in different layers of uterus are observed quantitative and qualitative changes of cells. During different stages of *oestrus* cycle lymphocytes, plasma cells and macrophages prevailed in sows' endometrium. During *oestrus* lymphocytes prevailed in the glandular epithelium, stroma and luminal epithelium of endometrium. In addition, positive correlation between the number of lymphocytes in luminal endometrial epithelium and in stroma and glandular layer was defined ( $r=0.4$  and  $r=0.2$ ;  $p<0.01$ ). During *dioestrus* in endometrium stroma and during early *dioestrus* in glandular layer prevalence of eosinophils was stated ( $p<0.05$ ). The most noticeable infiltration of neutrophils was registered in luminal and glandular epithelium layers of endometrium during pathological *anoestrus* condition, while no eosinophils and macrophages were found in any layer of endometrium ( $p<0.05$ ).

**Keywords:** sow, reproductive disturbances, endometrium, immune cells, *anoestrus*.

**Įvadas.** Tyrimais nustatyta, kad vietinis imuninis atsakas patelės gimdoje yra tiesiogiai priklausomas nuo lytinių steroidų.

Lytiniai steroidai daro įtaką kiaulių lytinio ciklo metu vykstantiems proliferaciniams ir morfologiniams pokyčiams lytiniuose organuose, ypač endometriume. Grauzikų ir moterų gimdos audinių tyrimai parodė, kad nuo lytinio ciklo stadijos ir nuo lytinių steroidų koncentracijos priklauso imuninių ląstelių lokalizacija bei jų atliekama funkcija gimdoje (Gu et al., 2005). Estradiolis-17 β daro įtaką ne tik gimdos paviršinio epitelio bei stromos ląstelių morfologiniams pokyčiams, bet ir suaktyvėjusiai kraujo

apytakai gimdoje. Progesteronas skatina endometriumo liaukų proliferaciją ir sekrecijos aktyvumą (Geisert et al., 1982; Sinowatz and Friess, 1983; Sidler et al., 1986; Persson, Rodrigez-Martinez, 1997; Kaeoket, 2000; Geisert et al., 2001). Jis veikia specifinių limfocitų populiacijų kiekį avių endometriume (Majewski, Hansen, 2002), o B. Padua su kitais tyrėjais (2005) išklė hipotezę, kad progesteronas gimdoje turi imunosupresinį poveikį. W. Gu ir grupė mokslininkų (2005) teigia, kad imunosupresinis progesterono poveikis vaikingumo metu būtinas motinos organizmo imuninei tolerancijai palaikant vaisių.

Be įprastų, endometriumas atlieka ir barjero funkciją

(Kaeoket, 2000). Tas pasireiškia ne tik morfologiniais endometriumo pokyčiais, bet ir vietine imuninės sistemos ląstelių infiltracija. Šie pokyčiai yra tiesiogiai priklausomi nuo lytinių steroidų (Jian Tan et al., 1999; Kaeoket, 2000; Hiller et al., 2001). Skirtingų lytinio ciklo stadijų metu kinta plazminių ląstelių kiekis (Hussein et al., 1983) ir intraepitelinių limfocitų kiekis endometriume (King, 1988).

Mokslinėje literatūroje buvo analizuojama imuninių ląstelių infiltracija kiaulių endometriume normalaus lytinio ciklo ir ankstyvojo paršingumo metu (Kaeoket, 2000; Kaeoket et al., 2002), kiaulaičių endometriume bei žindančių paršavedžių endometriume laktacijos metu (Jiwakanon et al., 2005). Duomenų, kokios imuninės ląstelės vyrauja sutrikusios reprodukcijos paršavedžių lytinio ciklo ir *anoestrus* metu, kaip jos išsidėsto endometriume, literatūroje rasti nepavyko. Taigi mūsų darbo tikslas buvo iširti, kaip imuninės ląstelės pasiskirsto reprodukcijos sutrikimų turinčių kiaulių endometriume bei estradiolio-17  $\beta$  ir progesterono pokyčius kraujo plazmoje lytinio ciklo ir patologinės *anoestrus* metu.

**Medžiagos ir metodai.** Eksperimentui atsitiktine tvarka buvo atrinkta ir paskersta 150 LB $\times$ DL paršavedžių, kurios atjunkius paršelius nerujojo arba sėklinamos neapsivaisino (sutrikusios reprodukcijos kiaulės). Bendra kiaulių sveikatos būklė atitiko fiziologinę normą.

*Estradiolio-17 $\beta$  ir progesterono koncentracija kraujo plazmoje* nustatyta pagal metodiką, aprašytą B. Karvelienės ir kitų tyrėjų (2007) straipsnyje.

*Mėginių surinkimas ir paruošimas.* Makroskopiškai įvertinus paskerstų paršavedžių lytinius organus ir nustatius lytinio ciklo stadiją arba *anoestrus* (patologinę) būklę (pagal Dalin et al., 1997), histologiniam ir morfometriam tyrimui iš kiekvienos lytinio ciklo stadijos (priešrujis, ruja, ankstyvasis porujis, porujis, vėlyvasis porujis) ir *anoestrus* būklės kiaulių atrinkta po 10 mėginių. Mėginiai imti iš abiejų gimdos ragų vidinės (mezometrinės) pusės, 30 cm nuo ragų priekinės dalies, fiksuoti ir įlieti į parafiną.

Mikrotomu (SHANDON Scientific Limited is an ISO 9001 and Approved Company. Finesse Microtome series

Issue 1 Operator Guide 77510250 Gb, Anglija) daryti 2,5  $\mu$  storio pjūviai ir klasikiniu būdu dažyti hematoksilino ir eozino dažais.

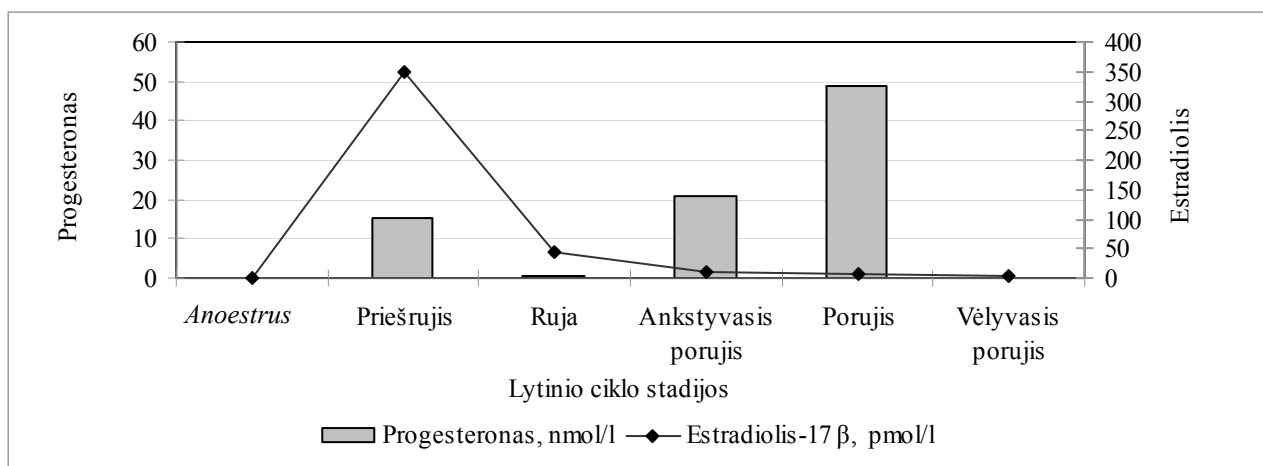
*Lytinio ciklo stadijos patvirtinimas. Histologinis tyrimas.* Lytinio ciklo stadija buvo patvirtinta mėginių vertinant histologiškai (n = 60) pagal J. S. Perry ir P. R. Crombie (1982) bei R. Leiser ir kt. mokslininkų (1988) metodikas. Mėginiai vertinti šviesiniu mikroskopu „OLYMPUS BH-2“ (Japonija) padidinant 100 ir 400 kartų.

*Paršavedžių gimdos audinių morfometrinis tyrimas.* Nustačius ir patvirtinus lytinio ciklo stadiją, atrinkta po penkis kiekvienos lytinio ciklo stadijos (priešrujis, ruja, ankstyvasis porujis, porujis, vėlyvasis porujis) ir patologinės *anoestrus* būklės mėginius (n = 30), atliktas jų morfologinis tyrimas. Imuninėms ląstelėms skaičiuoti histologiniai mėginiai fotografuoti „Nikon coolpix 990“ (Japonija) fotoaparatu. Imuninės ląstelės pagal K. Kaeoket (2000) metodiką skaičiuotos 3 mm<sup>2</sup> plote.

*Statistinė analizė.* Statistinė analizė atlikta SPSS statistinio paketo Nr. 15 versija (SPSS for Windows 9.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 1989-1995). Ląstelių kiekio analizei panaudota aprašomoji ir daugiakartinė statistika (ANOVA), imuninių ląstelių kiekio kitimo tendencijai nustatyti pritaikyta Spearmano koreliacinė matrica. Skirtumas tarp lytinio ciklo stadijų nustatytas Stjudento t-testu. Duomenys laikyti statistiškai patikimais, kai p<0,05 ir p<0,001.

**Tyrimo rezultatai.** Sutrikusios reprodukcijos paršavedžių, kurių kiaušidės buvo funkciškai aktyvios, kraujo plazmoje didžiausia progesterono koncentracija buvo porujo metu – 49,01 $\pm$ 17,86 nmol/l, o estradiolio-17  $\beta$  – priešrujo metu – 350,79 $\pm$ 158,73 pmol/l (p<0,05). Rujos metu estradiolio-17  $\beta$  buvo tik 43,03 $\pm$ 19,94 pmol/l (p<0,05). *Anoestrus* būklės kiaulių kraujo plazmoje progesterono vidutinė koncentracija buvo 0,082 $\pm$ 0,04 nmol/l, o estradiolio-17  $\beta$  koncentracija buvo mažesnė už aparato fiksuojamą mažiausią reikšmę pmol/l.

Progesterono ir estradiolio-17  $\beta$  koncentracijos pokyčiai parodyti 1 pav.



1 pav. Progesterono ir estradiolio-17  $\beta$  koncentracijos kaita sutrikusios reprodukcijos kiaulių kraujo plazmoje skirtingų lytinio ciklo stadijų ir *anoestrus* metu

Keičiantis lytinio ciklo stadijais, gimdos sluoksniuose vyksta kiekybiniai ir kokybiniai ląstelių pokyčiai.

Skirtingomis lytinio ciklo stadijomis ir patologinės *anoestrus* būklės metu kiaulių endometriume vyravo limfocitai ir neutrofilai, nustatyti nedideli kiekiai ir kitų imuninių ląstelių – eozinofilų, plazminių ląstelių, makrofagų, mastocitų.

Daugiausia limfocitų rasta paviršiniame endometriu-

mo epitelyje, stromoje ir liaukiniame sluoksnyje – rujos metu. Mažiausiai intraepitelininių limfocitų paviršiniame endometriume epitelyje nustatyta ankstyvojo porujo laikotarpiu, liaukiniame sluoksnyje – priešrujo stadijoje; jų skaičius tesudarė atitinkamai 9,9 proc. ir 26 proc. rujos metu nustatytų limfocitų skaičiaus. Stromoje mažiausiai limfocitų rasta vėlyvojo porujo laikotarpiu – tik 16 proc. nustatytųjų ankstyvojo porujo metu (1 lentelė).

1 lentelė. Limfocitų kiekio pokyčiai endometriume skirtingų lytinio ciklo stadijų ir *anoestrus* metu

Lytinio ciklo stadijos	Limfocitų skaičius, vnt.		
	Paviršinis epitelis	Stroma	Liaukinis sluoksnis
	X±SD		
<i>Anoestrus</i> <sup>a</sup>	22,6±7,1	19,7±13	8,8±5,7
Priešrujis <sup>b</sup>	18,2±8,1	19,4±9,8	3,4±4,1
Ruja <sup>c</sup>	29,2±9,9	27,9±6,4	13,0±7,4
Ankstyvasis porujis <sup>d</sup>	2,9±2,2	8,9±6,7	4,3±2,1
Porujis <sup>e</sup>	6,3±3,6	15,8±11,9	6,9±6,1
Vėlyvasis porujis <sup>f</sup>	11,0±10,2	7,7±4,1	4,1±2,8

Vidurkių skirtumai tarp eilučių (a, b, c, d, e, f) patikimi, kai  $p < 0,001$ ; X±SD – vidurkiai ir jų nuokrypiai

Kaip matyti 1 lentelėje, limfocitų kiekio pokyčiai skirtingų lytinio ciklo stadijų ir *anoestrus* metu skirtinguose kiaulių endometriumo sluoksniuose skyrėsi statistiškai patikimai ( $p < 0,001$ ).

Ištirta, kad limfocitų kiekis paviršiniame endometriume epitelyje teigiamai koreliuoja su limfocitų kiekiu stromoje ir liaukiniame sluoksnyje ( $r=0,4$  ir  $r=0,2$ ;  $p < 0,01$ ). Taip pat nustatyta plazminių ląstelių kiekio liaukiniame endometriume sluoksnyje teigiama koreliacija su limfocitų kiekiu paviršiniame epitelyje, liaukiniame

sluoksnyje bei stromoje, atitinkamai  $r=0,3$ ;  $r=0,2$  ( $p < 0,01$ );  $r=0,2$  ( $p < 0,01$ ).

Daugiausia neutrofilų rasta *anoestrus* metu kiaulių endometriume paviršiniame epitelyje ir liaukiniame sluoksniuose. Endometriume stromoje daugiausia neutrofilų nustatyta priešrujo metu ( $p < 0,05$ ). Mažiausiai jų buvo endometriume stromoje vėlyvojo porujo laikotarpiu ( $p < 0,05$ ), o liaukiniame sluoksnyje – ankstyvojo porujo laikotarpiu. Porujo metu paviršiniame epitelyje neutrofilų nerasta visai (2 lentelė).

2 lentelė. Neutrofilų kiekio pokyčiai endometriume skirtingų lytinio ciklo stadijų ir *anoestrus* metu

Lytinio ciklo stadijos	Neutrofilų skaičius, vnt.		
	Paviršinis epitelis	Stroma	Liaukinis sluoksnis
	X±SD		
<i>Anoestrus</i> <sup>a</sup>	1,6±2,8*	3,2±2,7***	8,8±1,3*
Priešrujis <sup>b</sup>	1±1,1*	8,2±4,7***	2,1±2,3*
Ruja <sup>c</sup>	0,2±0,4*	2,7±1,1***	0,9±1,5*
Ankstyvasis porujis <sup>d</sup>	0,3±0,6*	2,5±1,5***	0,7±0,6*
Porujis <sup>e</sup>	0*	4,2±1,7***	1,2±1,1*
Vėlyvasis porujis <sup>f</sup>	0,5±0,7*	1,6±1,1***	0,9±1,5*

Vidurkių skirtumai tarp eilučių (a, b, c, d, e, f) patikimi, kai \* -  $p < 0,05$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ; X±SD – vidurkiai ir jų nuokrypiai

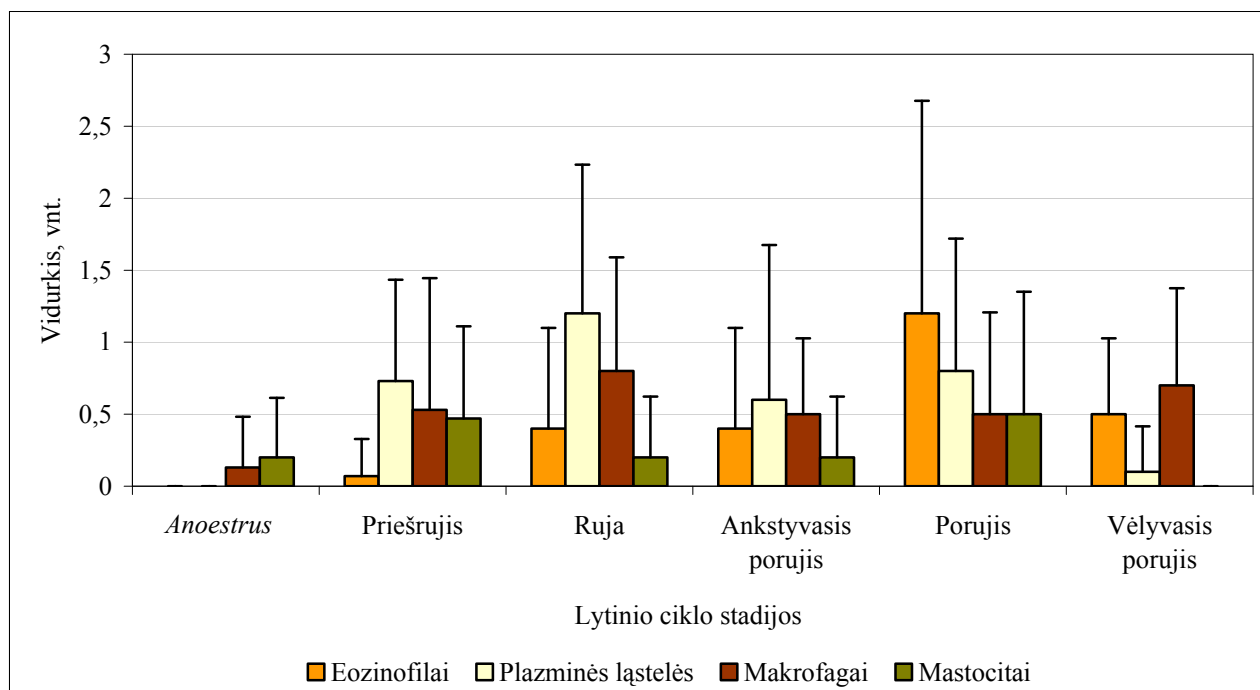
Kitų imuninių ląstelių kiekio svyravimai gimdos endometriume stromoje ir liaukiniame audinyje skirtingų lytinio ciklo stadijų bei *anoestrus* metu pateikti 2 ir 3 pav.

Daugiausia eozinofilų endometriume stromoje nustatyta porujo metu, o visai šių ląstelių nerasta *anoestrus* metu ( $p < 0,05$ ). Eozinofilų liaukiniame endometriume sluoksnyje daugiausia buvo ankstyvojo porujo metu, o visai jų nerasta porujo, priešrujo ir *anoestrus* metu ( $p < 0,001$ ).

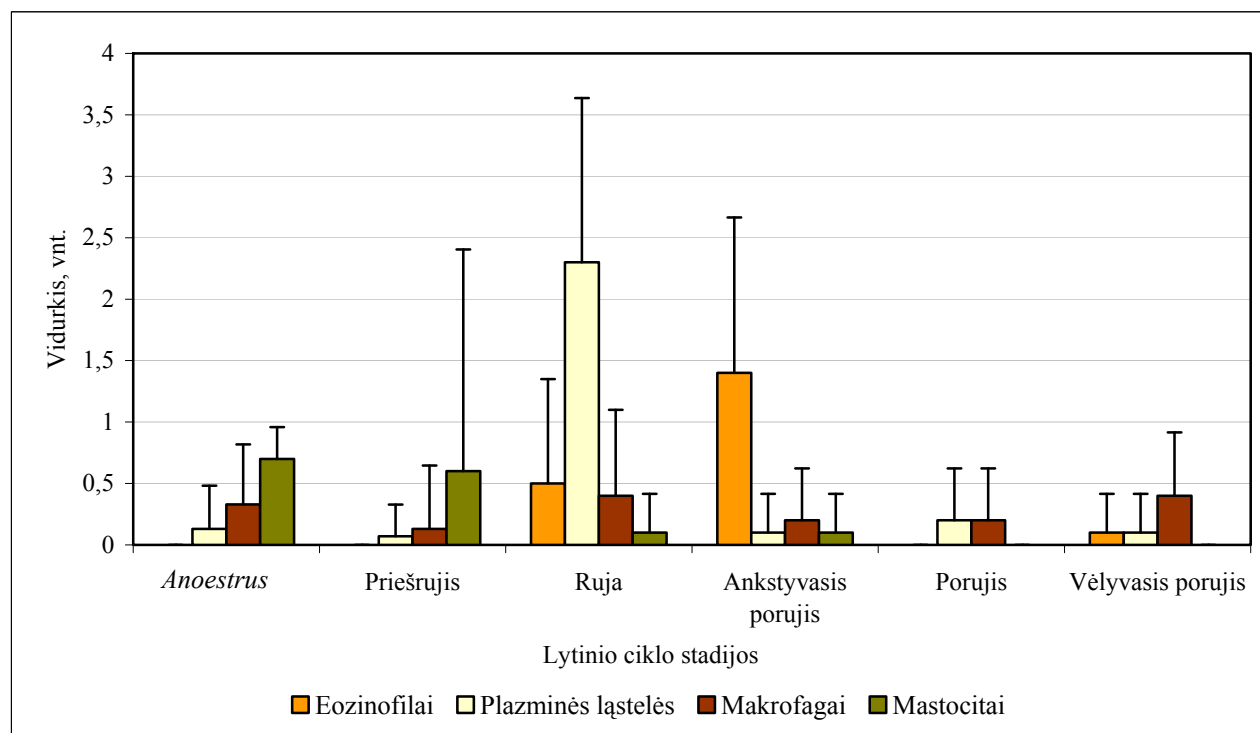
Daugiausia plazminių ląstelių endometriume stromoje bei liaukiniame sluoksnyje nustatyta rujos metu, bet jų

kiekis ( $p < 0,05$ ) skirtingų lytinio ciklo stadijų metu buvo skirtingas. Patikima teigiama plazminių ląstelių ir limfocitų kiekio koreliacija tarpusavyje nustatyta endometriume paviršiniame epitelyje, stromoje bei liaukiniame sluoksniuose ( $r=0,3$ ;  $p < 0,05$ ).

Tarp makrofagų bei mastocitų kiekio endometriume audiniuose skirtingų lytinio ciklo stadijų metu statistiškai patikimo skirtumo nenustatyta.



2 pav. Imuninių ląstelių kiekio dinamika endometriumo stromoje skirtingų lytinio ciklo stadijų bei *anoestrus* metu



3 pav. Imuninių ląstelių kiekio dinamika endometriumo liaukiniame audinyje skirtingų lytinio ciklo stadijų bei *anoestrus* metu

**Aptarimas ir išvados.** Fiziologiniai ir citologiniai pokyčiai, vykstantys įprasto lytinio ciklo metu kiaulių gimdoje, buvo tyrinėti R. J. Bischof ir kitų mokslininkų (1994), D. M. Blackwell ir grupės bendradarbių (2003), o K. Kaeoket su kolegomis (2000; 2002) tyrė imuninių lą-

stelių išsidėstymą kiaulių endometriume įprasto ir ankstyvojo paršingumo metu. Jie nustatė, kad imuninių ląstelių kiekis ir pasiskirstymas yra veikiami lytinio ciklo stadijos ir jų metu vyraujančių lytinių steroidų – estradiolio-17 $\beta$  ir progesterono. Mūsų tyrimo tikslas buvo nustatyti, kaip

imuninės ląstelės pasiskirsto reprodukcijos sutrikimų turinčių kiaulių endometriumo audiniuose lytinio ciklo ir *anoestrus* metu.

Keičiantis lytinio ciklo stadijai, atskiruose gimdos sluoksniuose vyksta kiekybiniai ir kokybiniai ląstelių pokyčiai (Blackwell et al., 2003). Žiurkių gimdos audiniuose daugiausia makrofagų ir granulocitų nustatyta rujos metu endometriumo stromoje ir liaukiniame epitelyje, kai kraujyje estradiolio-17  $\beta$  koncentracija buvo didžiausia, o porujo metu, kai vyraujančiu hormonu tampa progesteronas, šių ląstelių kiekis sumažėja (Kaushic et al., 1998).

Didesnis limfocitų ir monocitų kiekis palyginti su granulocitais nustatytas šiaurės elnių ir karvių gimdos kraujagyslėse ir audiniuose rujos metu. Apvaisinus limfocitų ir monocitų sumažėjo, o granulocitų padaugėjo, ypač ženkliai padaugėjo eozinofilų (Borisenkov and Mongalev, 2006).

Mes tyrimais nustatėme, kad reprodukcijos sutrikimų turinčių kiaulių endometriume lytinio ciklo ir *anoestrus* metu vyravo limfocitai ir neutrofilai, taip pat rasta nedaug eozinofilų, plazminių ląstelių, makrofagų ir mastocitų. Didžiausią kiekį neutrofilų, kurių daugiausia sveikų kiaulių gimdos audiniuose randama porujo metu, kai vyraujančiu hormonu tampa progesteronas (Borisenkov and Mongalev, 2006), mes nustatėme *anoestrus* būklės kiaulių paviršiniame ir liaukiniame epitelyje, nors progesterono buvo labai mažai.

*Anoestrus* būklės kiaulių gimdos audiniuose mes neradome eozinofilų, tuo tarpu K. Kaeoket (2002) sveikų kiaulių gimdos paviršiniame epitelyje šių ląstelių nustatė daug. Reprodukcijos sutrikimų turinčių kiaulių gimdos audiniuose mūsų nustatytos imuninių ląstelių rūšys koreliuoja su K. Kaeoket (2002) tyrimų metu rastomis ciklinių kiaulių gimdos audiniuose vyraujančiomis ląstelėmis, tačiau skiriasi ląstelių kiekis ir pasiskirstymas endometriume. Manome, kad to priežastis yra mūsų tirtų kiaulių lytinio ciklo endokrininio reguliavimo sutrikimas. Reprodukcijos sutrikimų turinčių kiaulių kraujo plazmos estradiolio-17  $\beta$  koncentracija rujos metu buvo tik  $43,03 \pm 19,94$  pmol/l, – net 8 kartus mažesnė už normą. Dėl šios priežasties šių kiaulių ruja kliniškai taip pat nenustatyta, nes trūkstant estradiolio-17 $\beta$  rujos požymiai nepasireiškia. *Anoestrus* būklės kiaulių kraujyje ir estradiolio-17 $\beta$  ir progesterono buvo bazinis kiekis.

Progesterono kiekis veikia specifinių limfocitų populiacijos mažėjimą gimdos endometriume (Majewski, Hansen, 2002). B. Padua su bendradarbiais (2005) iškėlė hipotezę, kad progesteronas gimdoje turi imunosupresinį poveikį, nes daro įtaką gimdos audiniuose sekretuojamų limfocitoinhibitorinių molekulių gamybai.

Mūsų tyrimo metu daugiausia limfocitų nustatyta paviršiniame endometriumo epitelyje, stromoje bei liaukiniame sluoksnyje rujos metu. Limfocitų kiekis paviršiniame endometriumo epitelyje teigiamai koreliavo su limfocitų kiekiu stromoje bei liaukiniame sluoksnyje ( $r=0,4$  ir  $r=0,2$ ;  $p<0,01$ ). Daugėjant progesterono, limfocitų kiekis pradėjo mažėti. Šią tendenciją tyrimais nustatė ir mokslininkai C. R. Wira su R. M. Rossoll (1995).

Limfocitų kiekio pokyčiai (sumažėjimas) nustatyti ir moterų nėštumo (King et al., 1998), graužikų (Head,

1996), taip pat kiaulių (Engelhardt and King, 1996) endometriume paršingumo metu.

*Anoestrus* metu daugiausia neutrofilų rasta endometriumo liaukiniame bei paviršiniame epitelyje sluoksniuose. Nors neutrofilų energijos kiekis labai ribotas, ir kai jie nukeliauja į savo lokalizacijos vietą jų aktyvumas susilpnėja, žinoma, kad pagrindinė neutrofilų funkcija yra fagocitozė. Sustiprėjusią neutrofilų infiltraciją audinyje inicijuoja citokinai ir chemotaksio veiksniai, išskirti kitų aktyvuotų imuninių ląstelių (Salmi and Jalkanen, 1997; Kaeoket, 2002).

Daugiausia eozinofilų nustatyta ciklinių kiaulių gimdos endometriume rujos laikotarpiu (Rothenberg and Hogan, 2006). Mūsų tyrimais, daugiausia eozinofilų endometriumo stromoje yra porujo metu. Liaukiniame endometriumo sluoksnyje daugiausia eozinofilų buvo nustatyta ankstyvo porujo metu, o iš viso jų nerasta porujo, priešrujo ir *anoestrus* būklės metu. Pastebėta, kad eozinofilai lokalizuojasi endometriumo stromoje, greta paviršinio stulpinio ir liaukinio epitelių, taip pat ir perėjimo iš endometriumo į miometriumą vietoje (Rothenberg and Hogan, 2006). Iširta, kad eozinofilų kiekis priklauso nuo kiaušidžių išskiriamų steroidinių hormonų koncentracijos. Manoma, kad eozinofilai dalyvauja gimdai ruošiantis priimti apvaisintą kiaušialąstę. Mokslininkų nuomone (Gound-Evans et al., 2001; Gu et al., 2005; Rothenberg and Hogan, 2006), apvaisinus vyksta eozinofilų infiltracija į endometriumą, šios ląstelės atlieka svarbų vaidmenį palaikant motinos organizmo imuninę toleranciją blastocistoms implantacijos procese.

Mūsų tyrimo metu daugiausia makrofagų rasta sutrikusios reprodukcijos paršavedžių endometriumo paviršiniame ir liaukiniame epitelyje rujos laikotarpiu. Nustatytas teigiamas abipusis ryšys tarp makrofagų ir limfocitų kiekio ( $p<0,01$ ). *Anoestrus* būklės paršavedžių endometriume makrofagų nerasta.

J. Jiwakanon su kitais tyrėjais (2006) makrofagų rado žindančių paršavedžių gimdos liaukiniame epitelyje, o visai jų nerado kiaušidžių endometriume. Žinoma, kad makrofagų paskirtis ne tik fagocituoti ir suardyti antigeną, bet ir perduoti signalą T, o vėliau – B limfocitams. Tik po šios informacijos limfocitai pradeda proliferuoti ir diferencijuotis į specifines antikūnus gaminančias ląsteles (Mackler et al., 2000). Atskirų mokslininkų nustatyti skirtingi makrofagų kiekiai skirtinguose audiniuose gali būti paaiškinami jų savybe migruoti iš endometriumo į miometriumą, ir atvirkščiai. Makrofagų sintetiniai prostaglandinai turi įtakos ir lytinio ciklo eigai (Jiwakanon et al., 2006).

Mastocitų vaidmuo nėra iki galo išaiškintas, tačiau kai kurie mokslininkai teigia, kad šios ląstelės dalyvauja angiogenezės, uždegiminiuose bei audinių diferenciacijos biologiniuose procesuose ir yra susiję su lytinio ciklo metu endometriume vykstančiais pokyčiais (Jeziorska et al., 1995; Kaeoket et al., 2002). Endometriumo stromoje vėlyvojo porujo metu, o liaukiniame sluoksnyje – ir porujo metu mes mastocitų nenustatėme. Kitų lytinio ciklo stadijų metu jų radome mažiau.

Tyrimai parodė, kad sutrikusio lytinio ciklo ir patologinės *anoestrus* būklės paršavedžių gimdoje vykstantys

procesai skiriasi nuo ciklišku, fiziologiškai normalių kiauilių ir yra veikiami per mažos lytinių steroidų – estradio-lio-17  $\beta$  ir progesterono – atitinkamai lytinio ciklo stadijai sekrecijos.

#### Išvados.

1. Sutrikusios reprodukcijos kiauilių rujos metu endometriumo paviršiniame epiteliniam bei liaukiniame sluoksniuose vyravo limfocitai, kurių kiekis paviršiniame endometriumo epitelyje teigiamai koreliavo su limfocitų kiekiu stromoje bei liaukiniame sluoksnyje ( $r=0,4$  ir  $r=0,2$ ;  $p<0,01$ ).
2. Endometriumo paviršiniame epitelyje, stromoje bei liaukiniame sluoksnyje nustatyta patikima teigiama plazminių ląstelių ir limfocitų kiekio koreliacija ( $r=0,3$ ;  $p<0,05$ ).
3. Porujo metu endometriumo stromoje, o ankstyvojo porujo metu – liaukiniame sluoksnyje vyravo eozinofilai.
4. Patologinės *anoestrus* metu endometriumo paviršiniame bei liaukiniame epitelinuose sluoksniuose ryškiausia buvo neutrofilų infiltracija, o eozinofilų bei makrofagų nerasta nė viename endometriumo sluoksnyje ( $p<0,05$ ).

#### Literatūra

1. Bischof R. J., Brandon M. R., Lee C-S. Studies on the distribution of immune cells in the uteri of prepubertal and cycling gilts. *Journal of Reproductive Immunol.*, 1994. Vol. 24. P. 111–129.
2. Bischof P., Planas-Basset D., Meisser A., Campana A. Investigations on the cell type responsible for the endometrial secretion of complement component 3 (C3). *Hum. Reprod.*, 1994. Vol. 9 (9). P. 1652–1659.
3. Blackwell D. M., Speth R. C., Mirando M. A. Morphometric Analysis of the Uterine Endometrium of Swine on days 12 and 16 postestrus. The anatomical record part A, 2003. Vol. 270 A. P. 59–66.
4. Borisenkov M. F. and Mongalev N. P. *J. Evol. Biochem. Physiol.*, Vol. 42. N. 3. 2006. P. 319–323.
5. Dalin A.-M., Gidlund K., Eliasson-Selling L. Post-mortem examination of genital organs from sows with reproductive disturbances in a sow-pool. *Acta Vet. Scand.*, 1997. N. 38. P. 253–262.
6. Dalin A. M., Kaeoket K., Persson E. Immune cell infiltration of normal and impaired sow endometrium. *Anim. Reprod. Sci.*, 2004. N. 82–83. P. 401–13.
7. Engelhardt H. and King G. J. Uterine natural killer cells in species with epitheliochorial placentation. *Nat. Immunol.*, 1996. Vol. 15. P. 53–69.
8. Geisert R. D., Thatcher W. W., Roberts R. M., Bazer F. W. Establishment of pregnancy in the pig: III. Endometrial secretory response to estradiol valerate administered on day 11 of the estrous cycle. *Biol. Reprod.*, 1982. Vol. 27 (4). P. 957–965.
9. Geisert R. D., Chamberlain C. S., Vonnahme K. A., Malayer J. R. and Spicer L. J. Possible role of kallikrein in proteolysis of insulin-like growth factor binding proteins during the oestrous cycle and early

pregnancy in pigs. *Reprod.*, 2001. Vol. 121. P. 729–733.

10. Gound-Evans V., Pollard J. W. Eotaxin is required for eosinophil homing into the stroma of the pubertal and cycling uterus. *Endocrinol.*, 2001. Vol. 142. P. 4515–21.
11. Gu W., Janssens P., Holland M., Seemark R. and Kerr P. Lymphocytes and MHC class II positive cells in the female rabbit reproductive tract before and after ovulation. *Immunol. Cell Biol.*, 2005. N. 83. P. 596–606.
12. Head J. R. Uterine natural killer cells during pregnancy in rodents. *Nat. Immun.*, 1996. Vol. 15. P. 7–21.
13. Hiller M. A., Lin T. Y., Wood C. and Fuller M. T. Developmental regulation of transcription by a tissue-specific TAF homolog. *Genes DeVol.*, 2001. Vol. 15. P. 1021–1030.
14. Hussein A. M., Newby T. J., Stokes C. R., Bourne F. J. Quantitation and origin of immunoglobulins A, G and M in the secretions and fluids of the reproductive tract of the sow. *J. Reprod. Immunol.*, 1983. Vol. 5 (1). P. 17–26.
15. Hussein A. M., Newby T. J., Bourne F. J. Immunohistochemical studies of the local immune system in the reproductive tract of the sow. *J. Reprod. Immunol.*, 1983. Vol. 5 (1). P. 1–15.
16. Jeziorska M., Salamonsen L. A., Woolley D. E. Mast cell and eosinophil distribution and activation in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Biol. Reprod.*, 1995. Vol. 53 (2). P. 312–320.
17. Jian Tan, Bibhash C. Paria, Sudhansu K. Dey and Sanjoy K. Das. Differential Uterine Expression of Estrogen and Progesterone Receptors Correlates with Uterine Preparation for Implantation and Decidualization in the Mouse. *Endocrinol.*, 1999. Vol. 140. N.11. P. 5310–5321.
18. Jiwakanon J., Persson E. and Dalin A.-M. The sow endosalpinx at different stages of the oestrous cycle and at anoestrus: studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. *Reprod. Dom. Anim.*, 2005. Vol. 40. P. 28–39.
19. Jiwakanon J., Persson E. and Dalin A.-M. The Endometrium of the Anoestrus Female Pig: Studies on Infiltration by Cells of the Immune System. *Reprod. Dom. Anim.*, 2006. Vol. 41. P. 191–195.
20. Kaeoket K. The Sow endometrium: studies on Morphological Changes and infiltration by cells of the immune system. SLU, Uppsala, 2000. P. 9–54.
21. Kaeoket K., Persson E., Dalin A. M. The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle: studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. *Anim. Reprod. Sci.*, 2001. Vol. 65 (1-2). P. 95–114. Corrected and republished

- in: *Anim. Reprod. Sci.*, 2002. Vol. 73 (1–2). P. 89–107.
22. Kaeoket K., Mwanza A. M., Razdan P., Einarsson S., Persson E., Dalin A. M. Study of the distribution of inflammatory cells in the sow endometrium: effect of intravenous administration of adrenocorticotropin hormone. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 2002. Vol. 49 (1). P. 19–21.
23. Karvelienė B., Žilinskas H., Riškevičienė V. Post-mortem examination of sows genital organs culled for reproductive disturbances and immunohistochemical studies on ER  $\alpha$  and PR-A receptors in the anoestral sows uterus. *Reprod. Dom. An.*, 2007. Vol. 42. N. 3. P. 275–281.
24. Kaushic C., Frauendorf E., Rossoll R. M., Richardson J. M., Wira C.R. Influence of the estrous cycle on the presence and distribution of immune cells in the rat reproductive tract. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1998. N. 39 (3). P. 209–16.
25. King G. J. Reduction in uterine intra-epithelial lymphocytes during early gestation in pigs. *J. Reprod. Immunol.*, 1988. Vol. 14. P. 41–46.
26. King A., Burrows T., Verma S. Human uterine lymphocytes. *Hum. Reprod.*, 1998. Vol. 4. P. 480–485.
27. Leiser R., Zimmermann W., Sidler X., Christen A. Normal cyclical morphology of the endometrium and ovary of swine. *Tierarztl. Prax.*, 1988. Vol. 16 (3). P. 261–280.
28. Mackler A. M., Green L. M., McMillan P. J., Yellon S. M. Distribution and activation of uterine mononuclear phagocytes in peripartum endometrium and myometrium of the mouse. *Biol. Reprod.*, 2000. Vol. 62 (5). P. 1193–1200.
29. Majewski A. C., Hansen P. J. Progesterone inhibits rejection of xenogeneic transplants in the sheep uterus. *Horm. Res.*, 2002. Vol. 58(3). P. 128–135.
30. Padua B. M., Tekin S., Spencer T. E., Hansen P. J. Actions of progesterone on uterine immunosuppression and endometrial gland development in the uterine gland knockout (UGKO) ewe. *Molecular reprod. and developm.*, 2005. Vol. 71. P. 347–357.
31. Perry J. S. and Crombie P. R. Ultrastructure of the uterine glands of the pig. *J. Anat.*, 1982. Vol. 134. P. 339–350.
32. Persson E., Rodriguez-Martinez H. Immunocytochemical localization of growth factors and intermediate filaments during the establishment of the porcine placenta. *Microsc. Res. Tech.*, 1997. Vol. 38 (1–2). P. 165–175.
33. Rothenberg M. E. and Hogan S. P. The Eosinophil. *Annu. Rev. Immunol.*, 2006. Vol. 24. P. 147–174.
34. Salmi M. and Jalkanen S. How do lymphocytes know where to go: current concepts and enigmas of lymphocyte homing. *Advol. Immunol.*, 1997. Vol. 64. P. 139–218.
35. Sidler X., Zimmermann W., Leiser R. Das normale zyklische Geschehen im Endometrium des Schweines. Eine Histologische -, Transmissions - und Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung. Dissertation thesis. Klinik für Nutztiere der Universität Bern, Switzerland, 1986. S. 1–103.
36. Sinowatz F. and Friess A. E. Uterine glands of the pig during pregnancy. An ultrastructural and cytochemical study. *Anat. Embryol.*, 1983. Vol. 166. P. 121–134.
37. Wira C. R. and Rossoll R. M. Antigen-presenting cells in the female reproductive tract: influence of the estrous cycle on antigen presentation by uterine epithelial and stromal cells. *Endocrinology*, 1995. Vol. 136. P. 4526–4534.

Gauta 2010 03 30

Priimta publikuoti 2010 05 25