

مقایسه روشهای بیوپسی و آندوسکوپی در ارزیابی تغییرات دستگاه تناسلی مادیان در مراحل مختلف سیکل استروس

دکتر محمود بلورچی^۱، دکتر علی افخمی روحانی^۱، دکتر پرویز مورشتی^۱، دکتر سیدعبدالمحمد حسینی طباطبایی^۱، دکتر پرویز اهورایی^۲

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۳، شماره ۱ و ۲، ۴۱-۴۷، (۱۳۷۷)

بیشتری انجام شود. همخوانی بین تشخیص دو مرحله استروس و دی استروس در روش آندوسکوپی با روش تلقیق فحلی یابی - آزمایش رکتال در حدود ۸۱ درصد بدست آمد. اختلاف بین تعیین مراحل ذکر شده با استفاده از روش هیستروسکوپی و روش تلقیق فحلی یابی - آزمایش رکتال، معنی دار بوده و در حدود ۸۱ درصد بدست آمد. در حالیکه بین تعیین مراحل ذکر شده با استفاده از روش هیستروسکوپی و تلقیق فحلی یابی - آزمایش رکتال، اختلاف معنی داری وجود نداشت. ضریب کاپا برای روش هیستروسکوپی ۶ درصد بدست آمد که برای پذیرش آزمایش قابل قبول می باشد. در کشت هوازی آندومتریوم رحم مادیانهای آنستروس، اشریشیاکلی و الکالیونز جدا شد و در کشت هوازی آندومتریوم مادیانهای سیکلیک، استرپتوکوک، استافیلوکوک، الکالیونز و اشریشیاکلی جدا شد. در مورد کشت نیمه هوازی در مجاورت دی اکسید کربن در محیط چارکول آگار باکتری جدا نشد. نتیجه، اینکه آندوسکوپی آندومتر رحمی مادیان در شرایط کشورمان علیرغم گران بودن دستگاه روشی بسیار مفید در تعیین تغییرات مختلف آندومتر بوده و مادیانها براحتی آن را تحمل می کنند. در مطالعه انجام شده معلوم شد که مرحله دی استروس برای انجام آن مناسبتر بوده و در صورتی که شرایط دقیق بهداشتی و ضد عفونی رعایت شده و متعاقب انجام آن از پروستاگلاندین $F_{2\alpha}$ استفاده شود خطر عفونت رحمی وجود نداشته و میزان باروری دام به مخاطره نمی افتد. بعلاوه چنین بنظر می رسد که تغییرات ماکروسکوپییک دستگاه تناسلی مادیان نسبت به تغییرات میکروسکوپییک آن در ارتباط با تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس از اعتبار بیشتری برخوردار است. واژه های کلیدی: بیوپسی، آندوسکوپی، مادیان، دستگاه تناسلی، سیکل استروس

تحقیقی برای بردن به وضعیت دستگاه تناسلی مادیانهای آمیخته ترکمن و تعیین مزایا و معاینه آندوسکوپی و بیوپسی آندومتر رحمی با توجه به شرایط اسبدریهای ایران انجام گرفت. طی مدت یکسال رحم ۲۱ رأس مادیان با توانایی باروری، با سابقه یا بدون سابقه زایمان قبلی در فصل استراحت جنسی (اواسط مهر تا اواسط بهمن) و فصل تولیدمثل (اواسط فروردین تا اواسط شهریور) آزمایش و نمونه گیری شد. مادیانها در دامنه سنی ۱۳-۲ سال بودند و وضعیت دستگاه تناسلی میزان باروری آنها از روی سابقه، آزمایش رکتال کشت باکتریایی، بیوپسی و سیتولوژی از آندومتریوم مشخص شد. مراحل مختلف سیکل استروس با فحلی یابی روزانه توسط نریان و آزمایش رکتال مشخص می شد و سپس با تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس از روی یافته های آندوسکوپییک و هیستولوژییک مقایسه می شد. کشت باکتریایی در آزمایشگاه به دو صورت هوازی و نیمه هوازی انجام گرفت. از ۲۱ رأس مادیان مورد مطالعه ۱۲ مورد در استروس و ۹ مورد در دی استروس بودند. از ۲۱ نمونه بیوپسی مورد بررسی، سه مورد در Grade I و ۱۸ مورد در Grade II براساس جدول طبقه بندی Kenney و Doig (۱۹۸۶) قرار گرفتند. همخوانی بین تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس در روش بیوپسی با روش تلقیق فحلی یابی - آزمایش رکتال در حدود ۷۱ درصد بود. بین تعیین مراحل مختلف سیکل استروس با استفاده از روش بیوپسی و روش تلقیق فحلی یابی - آزمایش رکتال، اختلاف معنی داری وجود داشت. ضریب کاپا برای روش بیوپسی ۴۷ درصد بدست آمد. در نمونه های بیوپسی شده، شش مورد علیرغم اینکه در استروس بودند، دی استروس تشخیص داده شدند و تمامی آنها مربوط به مادیانهای بالای نه سال بود. از آنجایی که فیبروز بافتی از نتایج اجتنابناپذیر افزایش سن است (۲). بنظر می رسد تشخیص مرحله سیکل استروس از روی نمونه های بیوپسی بخصوص در مادیانهای بالای نه سال، باید با احتیاط

۱) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۲) مؤسسه تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی حصارک کرج، کرج - ایران.



آزمایش رکتال مشخص می‌شد. در ارتباط با فحلی‌یابی (Teasing) مادیانها از لحاظ نشان‌دادن علائم استروس به چهار دسته تقسیم می‌شدند:

۱. مادیانهایی که رفتار خشونت‌آمیز نسبت به نریانها نشان داده و هیچیک از علائم فحلی را نداشتند (-)
۲. مادیانهایی که یکی از رفتارهای جفت‌پذیری را در مقابل نریان نشان می‌دادند (+)
۳. مادیانهایی که دو علامت استروس را بطور همزمان در مقابل نریان نشان می‌دادند (++)
۴. مادیانهایی که بیش از دو علامت استروس را بطور همزمان در مقابل نریان نشان می‌دادند (+++).

در آزمایش رکتال قوام رحم و گردن رحم تعیین شده و ابعاد تقریبی تخمدانها و در صورت وجود فولیکول، قطر تقریبی آن مشخص می‌شد و وضعیت قرارگرفتن دستگاه تناسلی خارجی و وضعیت ناحیه میان دو راه نیز مورد بررسی قرار می‌گرفت. پس از شستشو و ضد عفونی کردن ناحیه فرج، بوسيله سوآب دو غلافه استریل (Uterine Culture Swab Equi. Vet. Denmark) جهت کشت باکتریایی از رحم نمونه‌برداری می‌شد. حدود ۳۰ ثانیه مخاط آندومتریموم با انتهای آزاد سوآب در تماس بود و نمونه گرفته شده در مجاورت شعله بداخل محیط کشت تیوگلیکولات منتقل شده و به آزمایشگاه میکروبیولوژی فرستاده می‌شد. نمونه سیتولوژی مشابه نمونه باکتریولوژی تهیه می‌شد. با این تفاوت که انتهای سوآب کاملاً در سطح مخاط آندومتریموم چرخانده می‌شد و پس از خروج با یک قطره سرم فیزیولوژیک استریل مرطوب شده و دو گسترش روی لام تهیه می‌شد. نمونه‌ها توسط الکل متیلیک ثابت شده و پس از ثبت مشخصات و تاریخ جهت رنگ‌آمیزی گرام و گیمسا به آزمایشگاه ارسال می‌شد. در رنگ‌آمیزی گیمسا سلولهای اپیتلیال و درصد احتمالی سلولهای آماسی (نوتروفیلیا، لمفوسیتها و انواع دیگر سلولهای آماسی) نسبت به سلولهای اپیتلیال مشخص می‌شد و در رنگ‌آمیزی گرام وجود احتمالی عوامل باکتریایی مورد بررسی قرار می‌گرفت. نمونه‌های سیتولوژی و باکتریولوژی جهت تطبیق با دیگر یافته‌های بالینی و تعیین سلامت دستگاه تناسلی و اثبات عدم ابتلاء به عوامل عفونی تهیه می‌شد و در مواردی که آزمایشهای فوق بیانگر ابتلاء به بیماری خاص دستگاه تناسلی بودند، حیوان از جمعیت مورد بررسی حذف می‌شد.

برای بررسی هیستروسکوپی از آندوسکوپ مدل VFS-3 (VFS 3911002) با لوله‌ای بطول ۱۱۰ سانتیمتر و قطر خارجی ۲ سانتیمتر که شامل کانال بیوپسی به قطر ۵/۳ سانتیمتر بود استفاده می‌شد (سوند بیوپسی آن ۲/۳ میلیمتر قطر و ۱۶۰ سانتیمتر طول داشته و مجهز به امکانات تزریق داخل رحمی، شستشوی رحم و تخلیه مایعات رحمی نیز بود). جهت ارسال تصویر آندوسکوپییک به صفحه تصویر و تهیه فیلم ویدئویی از دوربین فیلمبرداری مدل Sony Handycam (Video Camera recorder) مدل Video 8, ccd-F500E استفاده شد و برای اتصال دوربین به آندوسکوپ، وسیله مخصوصی توسط دانشکده مکانیک دانشگاه تهران ساخته شد. آندوسکوپ به منبع نوری و پمپ هوای استریل (Illuminator model 1185A - 150 Watt EJA) ساخت کارخانه Schott Fiber Optic Inc متصل می‌شد.

محل دو شاخه‌شدن شاخهای رحمی پس از ورود لوله آندوسکوپ بداخل رحم مشخص می‌شد. سپس آندوسکوپ بداخل هر یک از شاخها وارد شده و نهایتاً به قسمت قدامی شاخ (Uterotubal papilla) هدایت می‌شد. بعد از خاتمه معاینه به مادیانهایی که در مرحله دی‌استروس بودند، مقدار یک سی‌سی (۷/۵ میلی‌گرم) از یک آنالوگ سنتتیک پروستاگلاندین $F_{2\alpha}$ بنام Luprositol, Proslpvin، ساخت کارخانه Intervet تزریق می‌شد تا با عمل لوتسولیز و برقراری استروس در مادیان باعث کاهش احتمال ایجاد

توانایی مشاهده مستقیم قسمتهای داخلی بدن برای کمک به تشخیص، همیشه مورد توجه بوده است. برای اولین بار در اواسط قرن بیستم (۱۹۶۴) Aubinais سعی بر مشاهده مستقیم قسمتهای داخلی بدن نمود. بالاخره همکاری اطباء و فیزیكدانان، منتهی به ساخت آندوسکوپهای فیبراپتیک قابل انعطاف (Flexible fiberoptic endoscope) شد. این وسایل باعث ایجاد تحولی در شناخت فعالیت‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک اندامهای مختلف، تنفسی، تولیدمثلی، معدی - روده‌ای، ادراری - تناسلی و حتی ساختمانهای کوچکتری مانند عروق خونی گردید. امروزه معاینات آندوسکوپی رحم در انسان، از روشهای معمول تشخیص علل نازایی بشمار می‌رود.

با استفاده از مشاهده رحم از طریق لاپاروسکوپی (Laparoscopic hystereroscopy) تصاویری از زندگی قبل از تولد انسان توسط Nilsson (۱۹۹۰) تهیه شد که برای افراد متخصص و همچنین غیرمتخصص مفید بوده است. در مادیان معاینات هیستروسکوپی با استفاده از آندوسکوپهای غیرقابل انعطاف (Rigid fiberoptic endoscope) (Leidl و همکاران ۱۹۷۶) و قابل انعطاف (Wilson ۱۹۸۳ و Brandt and Manning ۱۹۶۹) انجام گرفته و در ارتباط با ارزیابی میزان باروری رحم مادیانهای نابارور متعاقب درمان نیز از معاینات آندوسکوپییک استفاده شده است (Matter و همکاران ۱۹۷۹) (۱).

از آنجایی که تا بحال در ایران تجربه‌ای درباره استفاده از روشهای آندوسکوپی و بیوپسی رحمی در نژادهای مختلف مادیان، بخصوص ترکمن و آمیخته آن انجام نشده است، تحقیقی با هدفهای زیر انجام گرفته است:

۱. بدست آوردن تعریفی دقیق از وضعیت فیزیولوژیکی آندومتر رحمی مادیانهای آمیخته ترکمن بعنوان اولین قدم برای تشخیص دقیق موارد پاتولوژیک
۲. تعیین و بررسی ارتباط تغییرات ماکروسکوپییک (با استفاده از آندوسکوپ) و میکروسکوپییک (با استفاده از بیوپسی) و دقت هر کدام از این روشها در تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس
۳. بررسی مزایا و معایب عملی آندوسکوپی و بیوپسی آندومتر رحمی با توجه به شرایط اسبدریهای کشور
۴. بررسی اثرات سوء احتمالی بر میزان باروری بعدی مادیانها بدنبال معاینات انجام شده.

مواد و روش کار

طی مدت یکسال، از بین مادیانهای غیرآبستن واقع در اسبدریهای اطراف تهران تعداد ۲۱ رأس مادیان با توانایی باروری که در دامنه سنی ۳-۱۳ سال قرار داشته و دارای زایمان قبلی (Parous) یا بدون زایمان (Maiden) بودند. در فصل استراحت جنسی (اواسط مهر تا اواسط بهمن ماه) و فصل تولیدمثل (اواسط فروردین تا اواسط شهریور ماه) بررسی شدند. وضعیت توانایی باروری مادیانها از روی سابقه، آزمایش رکتال، کشت باکتریایی، بیوپسی و سیتولوژی از آندومتریموم مشخص می‌شد. مادیانهایی که اختلالات مادرزادی حداقل در دو نسل پیش از آنها وجود نداشته و آزمایشهای فوق بیانگر وضعیت سلامتی دستگاه تولیدمثل و باروری آنها بود، در جمعیت مورد بررسی قرار می‌گرفتند.

جهت بررسی ماکروسکوپییک دستگاه تناسلی و ارتباط آن با یافته‌های بافت‌شناسی آندومتریموم و علائم رفتاری، معاینات هیستروسکوپییک، در مادیانهای مزبور انجام گرفت.

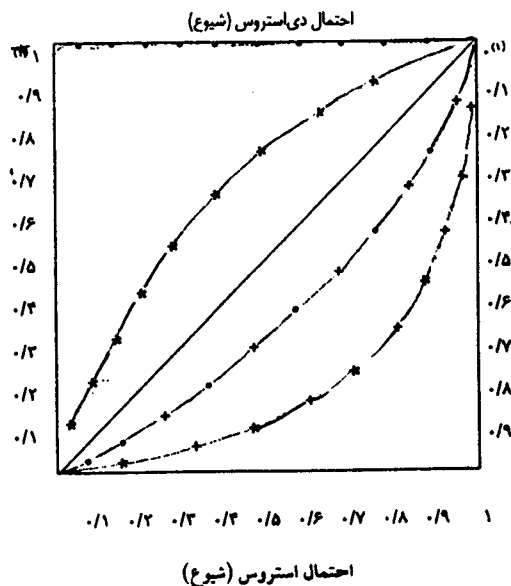
مادیانهایی که در زمستان مورد معاینه قرار گرفتند، بعنوان آنستروس و مادیانهایی که در فصل جفت‌گیری طی فحلی و همچنین بین روزهای ۷ تا ۱۲ بعد از تخمگذاری معاینه شدند، بر ترتیب بعنوان استروس و دی‌استروس تلقی شدند. مراحل مختلف سیکل استروس با فحلی‌یابی روزانه توسط نریان و



میکروسکوپی (نتایج بیوپسی) و یافته‌های ماکروسکوپی (نتایج آندوسکوپی) مقایسه گردید. مادیانهایی که دارای سیکلهای استروس منظمی بودند و در فحلی یابی علائم فحلی را نشان می‌دادند و ملامسه از طریق رکتوم نیز فحلی حیوان را تأیید می‌کرد، بشرطی که در آن استروس تخمک‌گذاری معلوم می‌شد، بعنوان مادیانهایی فحل و مادیانهایی که ۷ تا ۱۲ روز از آخرین تخمک‌گذاری آنها می‌گذشت و در فحلی یابی علائم استروس را نشان نمی‌دادند و ملامسه از راه رکتوم نیز عدم استروس را تأیید می‌کرد، بعنوان مادیانهایی واقع در مرحله دی استروس تلقی شدند.

در مقایسه روش بیوپسی با روش تلفیق فحلی یابی - آزمایش رکتال، نتایج نشان داد که احتمال اینکه دام واقعاً در مرحله استروس باشد و بیوپسی نیز استروس تشخیص بدهد ۵۳/۸۵ درصد است، و احتمال اینکه دام در مرحله دی استروس باشد و نیز بیوپسی دی استروس تشخیص بدهد ۱۰۰ درصد می‌باشد. همخوانی (Agreement) بین تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس در روش بیوپسی با مجموعه فحلی یابی - آزمایش رکتال در حدود ۷۱ درصد بود. اختلاف معنی‌داری بین تعیین مرحله سیکل استروس با استفاده از بیوپسی و مجموعه فحلی یابی - آزمایش رکتال وجود داشت. وضرب کاپا برای روش بیوپسی ۴۷ درصد بود.

در مقایسه روش آندوسکوپی با مجموعه فحلی یابی - آزمایش رکتال نتایج نشان داد که احتمال اینکه دام واقعاً در مرحله استروس باشد و آندوسکوپی استروس نیز تشخیص بدهد ۹۱/۶ درصد است، و احتمال اینکه دام در مرحله دی استروس باشد و آندوسکوپی نیز دی استروس تشخیص بدهد ۶۶ درصد است. همخوانی بین تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس در روش آندوسکوپی با روش تلفیق فحلی یابی - آزمایش رکتال در حدود ۸۱ درصد بود. اختلاف معنی‌داری بین تعیین مرحله سیکل استروس با استفاده از روش هیستروسکوپی و مجموعه فحلی یابی - آزمایش رکتال وجود نداشت. وضرب کاپا برای روش هیستروسکوپی ۶ درصد بود.



منحنی ۱ - مقایسه میزان استروس و دی استروس واقعی و مقادیر برآورده شده آن برحسب هر یک از دو روش هیستروسکوپی و بیوپسی. ۲) احتمال تشخیص دی استروس (احتمال دی استروس بودن به شرط اینکه تست دی استروس تشخیص دهد) ۳) احتمال تشخیص استروس (احتمال استروس بودن به شرط اینکه تست استروس تشخیص دهد)

آندومتریتهای باکتریایی ناشی از ورود عوامل عفونی به همراه آندوسکوپ به رحم شود. بیوپسی از آندومتریم در آخرین مرحله و توسط پنس مخصوص Amolds و S.W. Inox انجام و نمونه‌ها از قسمت بالایی بدنه رحم در نزدیکی محل دو شاخه شدن آن تهیه می‌شد. بافت‌های جدا شده حداقل بمدت دو ساعت در محلول بوین Bouins fluid و سپس در فرمالین ۱۰ درصد بمدت ۲۴-۴۸ ساعت، ثابت می‌شدند و مقاطع تهیه شده بروش هماتوکسیلین، انوزین رنگ آمیزی و زیر میکروسکوپ بررسی شده و براساس تقسیم‌بندی Doig و Kenney (۱۹۸۶) طبقه‌بندی می‌شدند (۵).

کشت باکتریایی در آزمایشگاه بدو صورت هوازی (Aerophilic) و نیمه‌هوازی (Microaerophilic) انجام می‌گرفت. برای جداسازی باکتریهای هوازی از محیط‌های Pepton broth, Blood agar و MC Canky استفاده و برای کشت باکتریهای نیمه‌هوازی از محیط‌های Bacto charchol agar در جار حاوی گاز کربنیک استفاده می‌شد.

مرحله سیکل براساس شکل و وضعیت غدد رحمی، ضخامت لایه اپیتلیال رحم و میزان ادم در لایه زیر مخاطی تعیین می‌شد. نمونه‌هایی که در آنها سلولهای اپیتلیال رحم و غدد بصورت کشیده و استوانه‌ای بودند و اپیتلیوم غدد بلندتر، رنگ‌پریده‌تر و دارای هسته‌های بزرگتر بوده و ساختمان بافت‌شناسی آنها نشان‌دهنده فعالیت بافتی بود، به مرحله استروس مربوط بوده و نمونه‌هایی که سلولهای اپیتلیال رحم و غدد بصورت مکعبی یا استوانه‌ای کوتاه بودند و انشعابات غده‌ای بشکل رشته‌های مرواریدی (String of pearls) و ساختمان بافت‌شناسی نشان‌دهنده فعالیت بافتی کمتری بود، مرحله دی استروس را نشان می‌داد. جهت تجزیه و تحلیل‌های آماری از آزمونهای مک‌نمار (۱۱)، کاپا (۶ و ۱۶) و تئوری بیز (Baye's theory) (۱۵) مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج

در فصل تولیدمثلی از ۲۱ مادیان مورد بررسی، ۱۲ رأس در استروس و ۹ رأس در دی استروس بودند که از طریق فحلی یابی و آزمایش رکتال تعیین شدند. در مرحله آنستروس تنها از ۵ مادیان، نمونه‌برداری شد. در آندوسکوپی دستگاه تناسلی مادیانهایی آنستروس، سرویکس رنگ‌پریده و شل مشاهده شد ولی ادماتوز نبود. در این مرحله آندومتریم نیز رنگ‌پریده و نازکتر از آندومتریم مادیانهایی سیکلیک بود. پایبندی محل اتصال شاخ به اویدوکت رنگ‌پریده و سفت بنظر می‌رسید.

در مادیانهایی استروس، سرویکس ادماتوز بود و در کف واژن قرار داشت. آندومتریم رنگ صورتی واضحی داشت و چین‌های آن مشخص و منظم بوده و بعلت ادم، ضخیم بنظر می‌رسیدند. ترشحات چسبناک کمی روی مخاط آندومتریم دیده می‌شد. پایبندی محل اتصال شاخ به اویدوکت ادماتوز بود. آندومتریم، نسبت به محرکهای فیزیکی حساسیت بالایی داشته و بشدت منقبض می‌شد. بعلت افزایش ادم و شل بودن سرویکس و در نتیجه خروج هوا، آندوسکوپی مادیانهایی استروس مشکلتز از مادیانهایی بود که در فاز پروژسترونی قرار داشتند.

در دی استروس، سرویکس سفت و رنگ‌پریده بوده و در مرکز واژن قرار داشت. در این مرحله، تجمع مایع در رحم هیچیک از مادیانها مشاهده نشد. پایبندی محل اتصال شاخ رحم به اویدوکت رنگ‌پریده، سفت و برجسته بنظر می‌رسید. با ورود هوا، رحم کاملاً متسع و قابل رؤیت می‌شد (برخلاف زمان استروس) و در مرحله دی استروس قابلیت انقباض آن کمتر از مرحله استروس بود. از ۲۱ نمونه بیوپسی‌شده مورد مطالعه در فصل تولیدمثلی سه مورد در Grade I و ۱۸ مورد Grade II طبقه‌بندی Doig و Kenney قرار داشتند.

برای بررسی ارتباط تغییرات ماکروسکوپی در تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس، تلفیق یافته‌های توشه رکتال و فحلی یابی بعنوان شاهد، تست (State of the nature) در نظر گرفته شد و بطور جداگانه با یافته‌های



بحث

ارزش پیشگویی روش بیوپسی در درجات مختلف میزان اشاعه استروس بالاتر از ارزش پیشگویی روش هیستروسکوپی برای تشخیص استروس می‌باشد در حالیکه ارزش پیشگویی روش هیستروسکوپی بهتر از ارزش پیشگویی بیوپسی در تشخیص دی‌استروس است (منحنی ۱). از طرف دیگر بین نتایج حاصله از بیوپسی و تلفیق فحلی‌یابی - آزمایش رکتال در تشخیص مرحله سیکل استروس در مادیان اختلاف معنی‌داری وجود دارد در حالیکه اختلاف معنی‌داری بین نتایج حاصله از هیستروسکوپی و تلفیق فحلی‌یابی - آزمایش رکتال وجود ندارد. ضریب کاپا پس از حذف شانس همخوانی و توافق بین تعیین مرحله سیکل استروس برای استفاده از روش بیوپسی و روش تلفیق فحلی‌یابی - آزمایش رکتال ۴۷ درصد بود که این میزان برای روش هیستروسکوپی و روش تلفیق فحلی‌یابی - آزمایش رکتال بالاتر (۶ درصد) است. بدین ترتیب در این بررسی بنظر می‌رسد که تغییرات ماکروسکوپییک دستگاه تناسلی مادیان در طی مراحل سیکل استروس نسبت به بیشتر از تغییرات میکروسکوپییک آن با نتایج حاصله از روش تلفیق فحلی‌یابی - آزمایش رکتال همخوانی دارد.

در ارتباط با هیستروسکوپی، همه مادیانها این روش را براحتهی تحمل می‌کردند بجز مواردی که رحم کاملاً متسع شده و حیوان اندکی احساس ناآرامی می‌کرد. گاهی لوله آندوسکوپ با جداره آندومتریم برخورد کرده، باعث پرخونی موضعی خفیف می‌شد. Allen (۱۹۹۱) معتقد است که معاینات هیستروسکوپی بهتر است در مرحله دی‌استروس انجام شود زیرا سرویکس کاملاً منقبض بوده و مانع از خروج هوا می‌شود و رحم براحتهی قابل اتساع و مشاهده است. علاوه بر این، بررسیهای بافتشناسی رحم جهت تخمین پتانسیل تولیدمثلی حیوان در مرحله دی‌استروس با دقت بیشتری نسبت به مرحله استروس انجام‌پذیر است. از طرفی Wilson (۱۹۸۳) توصیه کرده است

$$P(S / \text{Biopsy } S) = 1 - (PD / \text{Biopsy } S)$$

$$P(S / \text{Hyster } S) = 1 - (PD / \text{Hyster } S)$$

$$P(S / \text{Biopsy } D) = 1 - (PD / \text{Biopsy } D)$$

$$P(S / \text{Hyster } D) = 1 - (PD / \text{Hyster } D)$$

محاسبه منحنیهای $P(S / \text{Biopsy } S)$ و $P(S / \text{Hyster } S)$ از فرمول زیر انجام

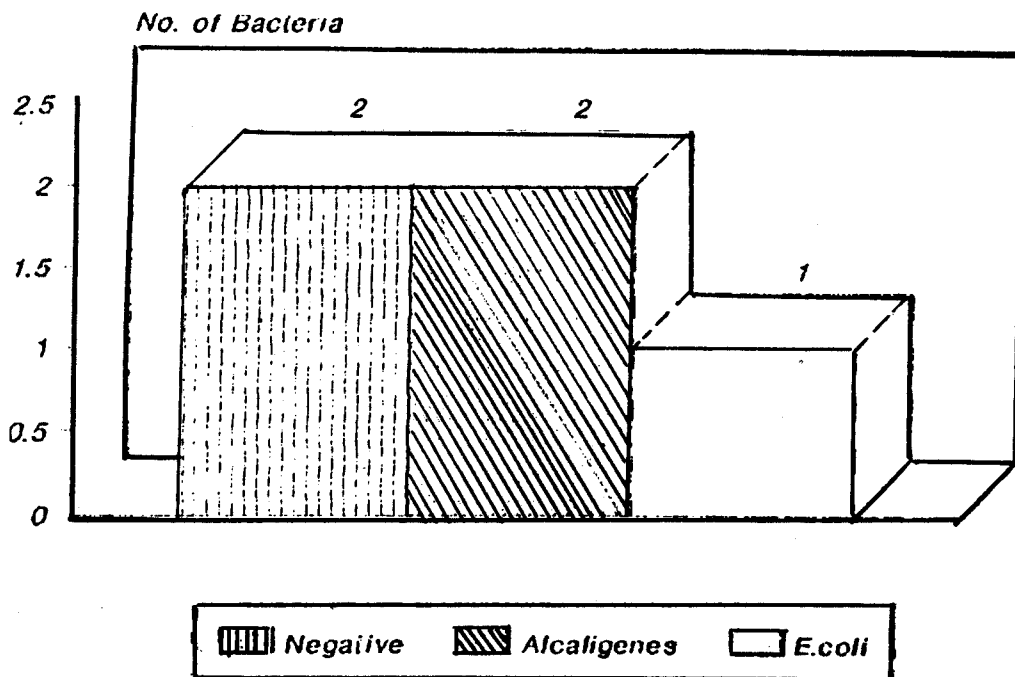
$$T(+) = \frac{PD \times \text{Sensitivity}}{PD \times \text{Sensitivity} + [(1 - PD) \times (1 - \text{Specificity})]}$$

شده است (۱۴). محاسبه منحنیهای $P(S / \text{Biopsy } D)$ و $P(S / \text{Hyster } D)$ از

فرمول زیر انجام شده است (۱۴):

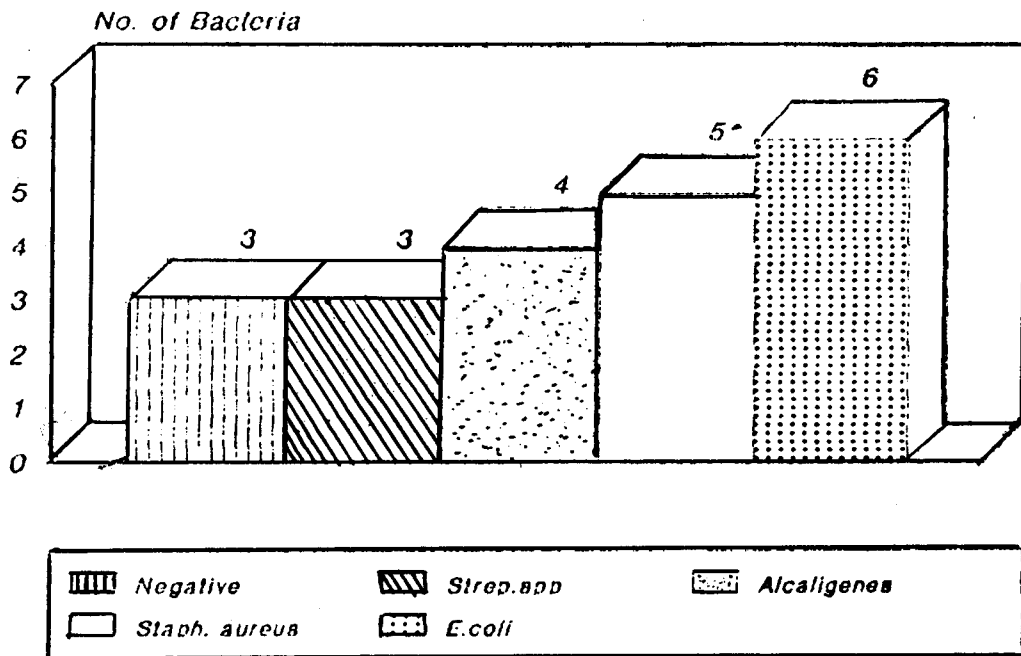
$$P(D + / T-) = \frac{PD \times (1 - \text{Sensitivity})}{PD \times (1 - \text{Sensitivity}) + [(1 - PD) \times (\text{Specificity})]}$$

با توجه به منحنی شماره ۱ ارزش پیشگویی روش بیوپسی در تشخیص استروس در درجات مختلف میزان اشاعه استروس ۱۰۰ درصد می‌باشد در حالیکه ارزش پیشگویی روش هیستروسکوپی در میزان اشاعه پایین استروس در جمعیت ضعیف است، به عبارت دیگر در کلیه مقادیر اشاعه استروس ارزش پیشگویی روش بیوپسی برای تشخیص استروس بیشتر از روش هیستروسکوپی است در حالیکه ارزش پیشگویی روش هیستروسکوپی برای تشخیص دی‌استروس در کلیه مقادیر اشاعه دی‌استروس بهتر از بیوپسی می‌باشد. در راستای کاربرد تکنیکهای آندوسکوپی و بیوپسی با استفاده از سوآب‌های دو غلافه استریل از آندومتریم رحم کشت باکتریایی نیز بعمل آمد. از نمونه‌ها در شرایط میکروآنروفلیک حاوی CO_2 با استفاده از محیط Bacto charchol agar نیز کشت بعمل آمد و در هیچیک از موارد باکتری جدا نشد.



منحنی ۲- باکتریهای جدا شده از ۵ مورد کشت رحمی مادیانها در زمان استروس





منحنی ۳- باکتریهای جدا شده از آندومترיום رحم مادیانهای سیکلیک (n=۲۱)

می شود. حدت میکروارگانیزم و عکس العمل بافت رحم باعث ایجاد سندرمهای مختلفی می گردد که از آلودگی سطحی غیر معنی دار تا آندومتریومهای مختلف است. متأسفانه در حال حاضر محققین قادر به اندازه گیری حدت پاتوژنهای خاص و میزان دقیق واکنش آندومترיום به عفونت نیستند. البته گسترشهای سیتولوژی رحم برای افزایش میزان دقت تشخیص مفید می باشند و با آزمایش دستگاه تناسلی، از نظر وجود نوتروفیلها، آلودگیهای سطحی بی ضرر را می توان از آندومتریس تشخیص داد (۳).

در بررسی دیگری از ۶۵ درصد موارد، باکتری از سوابهای بدون غلاف جدا شده که از این میزان ۱۸ درصد از لحاظ سیتولوژیک شواهدی دال بر آندومتریس را نشان می دادند (۴). بررسی دیگری نیز دوباره کشت باکتری بیهوازی در مادیانها انجام شد که از ۶۱ درصد سوابها، باکتری جدا شد. در این بررسی ۲۰ درصد مادیانها تغییر سیتولوژیکی دال بر ابتلا به آندومتریس حاد را نشان می دادند که از این میزان ۸ درصد باکتری هوازی و بیهوازی، ۵ درصد صرفاً هوازی و ۵ درصد صرفاً بیهوازی و ۲ درصد بدون رشد باکتریایی بودند (۱۴).

ریزویگ و همکاران (۱۹۹۳) بین دیدن سلولهای چند هسته ای در آزمایش سیتولوژی و جداسازی باکتری پاتوژن ۷۶ درصد ارتباط پیدا کردند (۱۰) و این ارتباط را وینگفیلد و همکاران ۷۹ درصد، لاکور و اسپرینکل (۱۹۸۵) ۸۸ درصد و بروک (۱۹۸۵) ۷۹ درصد عنوان کردند (۱۰). کاترین هینریکس و همکاران (۱۹۹۰) در یک بررسی باکتریایی روی آندومترיום ۴۸ مادیان طبیعی در ۳۳ مورد (۶۹ درصد) باکتری جدا نکردند و در ۱۵ مورد مابقی باکتریهای کورینه باکتریوم، استافیلوکوک، استرپتوکوک آلفاهمولیتیک، استرپتوکوک بتاهمولیتیک، باسیلوس و نوکاردیا جدا کردند و نتیجه گرفتند که در صورت جداسازی ۱۰ پرگنه یا کمتر از انواع باکتریهای بدون قدرت تولید بیماری دستگاه تناسلی از نظر وضعیت باکتریایی طبیعی تلقی می شود (۸). در این بررسی در ۴۳ درصد موارد باکتریهای دارای پتانسیل برای ایجاد بیماری جدا شد (جدول ۱).

که هیستروسکوپي بهتر است در مرحله استروس انجام شود زیرا اولاً سرویکس براحتی باز می شود و ثانیاً به علت افزایش دفاع ایمنی رحم احتمال ابتلا به عوامل عفونی کم است (۲).

بررسیهای اولیه هیستروسکوپي رحم مادیان توسط Rowson و همکاران (۱۹۵۳) نشان داده که مادیانها در دی استروس (فاز پروژسترونی) یا آبستنی بیشتر از مادیانهای فصل، مستعد ابتلا به آندومتریس هستند (۲).

در تفسیر نتایج کشت، علیرغم اینکه سوبه های اشریشیاکلی و استرپتوکوک را می توان بعنوان عوامل ایجادکننده عفونتهای رحمی در مادیان دانست، (۳ و ۸) این باکتریها از ۴۳ درصد موارد (۹ مورد از ۲۱ نمونه) طبیعی جدا شدند. از سال ۱۹۲۰ که اولین بار باکتری را از دستگاه تناسلی مادیان جدا کردند، تا بحال درباره تفسیر یافته های رحمی بحثهای زیادی شده است. ابتدا فکر می کردند در صورت جدا شدن باکتری از هر قسمت دستگاه تناسلی باید اقدام به درمان کرد حتی اگر علائم بالینی وجود نداشته باشد. این عقیده پس از تحقیقات بعدی رد شد و معلوم شد، دستگاه تناسلی مادیانهای طبیعی نیز ممکن است در قسمتهای خاص، بخصوص در مهبل، دارای جمعیت باکتریایی زیادی داشته باشند. در یک بررسی کشتارگاهی که ۱۰۰ مورد ترشحات آندومترיום مادیانها را بعد از مرگ، کشت دادند، ۳۳ مورد باکتری از آندومترיום جدا شد. بررسیهای جدید دیگر با استفاده از شستشو، با سوابهای غلاف دار نشان داده است که حتی در شاخهای رحم مادیانهای طبیعی نیز ممکن است مقدار کمی باکتری وجود داشته باشد. معمولاً هنگام جفتگیری و زایمان هجوم موقتی باکتریایی به رحم وجود دارد، ولی این آلودگی توسط آندومترיום طبیعی، زود برطرف می شود. شواهد ضد و نقیضی در ارتباط با باقی ماندن دائمی باکتری در رحم وجود دارد. بعضی از مادیانها در عین حال که آلوده هستند، آبستن می شوند، ولی بسیاری از آنها سقط می کنند و کرههایی سبتهای سمیک بدنی می آورند. جالب است که بعضی از مادیانها مایعات جنینی و جفت آلوده دارند و کره های سالمی بدنی می آورند. در مورد اثرات مختلف آندومترיום از یک طرف و عوامل باکتریایی از طرف دیگر حالات متفاوتی دیده



تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران که بودجه تحقیقاتی طرح را در اختیار قرار دادند تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Barlow, D.E. Fibropitic instrument technology. Small animal endoscopy, the C.V. Mosby Company, 1-23, (1990).
2. Bracher, V. and Allen, W.R. Videoendoscopic evaluation of the mares uterus. I. Finding in normal fertile mare, Equine Vet. Jour 24(4): 274-278, (1992).
3. Brook, D. Uterine cytology, Equine Reproduction, Edited by A.O. Mckinnon, Lea & Febiger, Philadelphia, London, 246-254, (1993).
4. Carleton Cotla, L. and Threlfall Walter, R. Mares genital tract, Equine endoscopy, Edited by Josie L. Traub-Dargatz. the C.V Mosby company, 157-172, (1990).
5. Doig, P.A. Waelch, R.O. Endometrial biopsy, Equine Reproduction, edited by O. McKinnon. Lea & Febiger, Philadelphia, (1993).
6. Fleiss, J.L. Statistical methods for rates and Proportions. 2nd ed, John wiley & Sons, ISBN O-471-06428-9, 212-225, (1994).
7. Ginther, O.J. Reproductive anatomy of the mare (Uterus, Cervix, Vaginal Vulva), Reproductive biology of the mare, second edition. Published and distributed by : Equiservices, (1992).
8. Hinrichs, K., Cummings, M.R., Sertich, P.L. and Kenney, R.M. Clinical significance of aerobic bacterial flora of the uterus, vagina, vestibul and clitoral fossa of clinically normal mare, J. Am., Vet., Med. Asso, 193, 72-75, (1988).
9. Leblanc, M.M. Endoscopy, Equine Reproduction Edited by A.O. Mckinnon, Lea & Febiger, Philadelphia, London, 255-257, (1994).
10. Reiswig, J.D., Threlfall, W.R. and Rosol, T.J. A comparison of endometrial biopsy, culture and Cytology during estrous and diestrous in the horse, Equine Vet. Jour. 25(3), 240-241, (1993).
11. Remington and Schork. CHI-square tests for frequency data, Statistics with applications to the biological and health sciences, by prentice - Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J., 229-249, (1970).
12. Ricketts, S.W. and Alsonso. Assessment of the breeding prognosis of mares using paired endometrial biopsy techniques. Equine Vet. Jour. 23(3), 185 - 188, (1991).
13. Ricketts, S.W. and Alsonso. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease, Equine Vet. Jour. 23(3), 189-192, (1991).
14. Ricketts, S.W. Young, A. and Medici, E.B. Uterine and clitoral culture, Equine reproduction, Angus O. Mckinnon, Lea & Febiger, Philadelphia, London, 238-245, (1993).

جدول ۱ - جدول مقایسه‌ای درصد موارد باکتریهای جدا شده از دستگاه تناسلی مادیه‌های سالم در چند گزارش مختلف

نام محقق	باکتری جدا شده	روش نمونه برداری
Scatt P., 1971	٪۳۳	بررسی کشتارگامی
Digb W. & Ricketts S.W, 1982	٪۶۵	سوابهای بدون غلاف
Ricketts S.W., 1987	٪۶۱	بررسی کشتهای بی‌هوازی
Hinrichs K., 1990	٪۳۱	سوابهای غلاف‌دار
Bolourchi B. & Afkhami et al	٪۲۳	سوابهای غلاف‌دار*

* در مطالعه حاضر

شش مورد از نمونه‌های بیوپسی شده علیرغم اینکه در استروس بودند، دی‌استروس تشخیص داده شدند و تمامی آنها مربوط به مادیه‌های بالای ۹ سال بودند. از آنجایی که Alsona Ricketts (۱۹۹۱) معتقدند فیبروز بافتی در رحم از پی‌آمدهای اجتناب‌ناپذیر افزایش سن در مادیه‌هاست (۱۳) و مادیه‌های بالای ۹ سال علائم فیبروز را نشان داده (۱۲) و بافت‌های فیبروتیک تغییرات بافتی را که نشان‌دهنده فعالیت غده‌ای و استروس می‌باشد، بخوبی نشان نمی‌دهند. بنابراین چنین بنظر می‌رسد که ممکن است تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس از روی نمونه‌های بیوپسی، بخصوص در گروه سنی مادیه‌های بالای ۹ سال باید با احتیاط بیشتری انجام شود.

در بررسی مزایا و معایب عملی آندوسکوپی یکی از روش‌های مفید و قابل دسترس برای مشاهده و تشخیص تغییرات محوطه داخلی دستگاه تناسلی مادیه می‌باشد و بدین ترتیب می‌توان با شناخت تغییرات فیزیولوژیک و طبیعی قسمتهای داخلی دستگاه تناسلی، تشخیص بالینی علل ناباروری را در مادیه با وقت بیشتری انجام داد. معتقدند، روش آندوسکوپی نه تنها تغییرات قابل مشاهده را در طول سیکل نشان می‌دهد بلکه روندهای پاتولوژیک را نیز معلوم می‌کند (۷). چسبندگی داخل رحم (Intrauterine Synechia) مناطق رنگ‌پریده و اتساع محل اتصال شاخ به اویدوکت تنها با آندوسکوپی قابل تشخیص می‌باشند. قسمتهای برآمده در سطح آندومتریم، مانند کیستهای لمفاتیک یا پولیپ (Polyp) با اولتراسونوگرافی نیز قابل تشخیص هستند ولی برای برداشت این قسمتها بهترین روش استفاده از آندوسکوپ می‌باشد (۷). برخی از موارد خاص، مانند چسبندگیهای داخل رحم، آپلازیهای موضعی، کیستهای کوچک آندومتریم، تومورها و اختلالات پاییلای محل اتصال شاخ رحم به اویدوکت را با روشهای دیگر نمی‌توان تشخیص داد (۲). از نظر جنبه‌های آموزشی نیز آندوسکوپی وسیله باارزشی می‌باشد کارکردن با آن ساده است و اطلاعات سریع و قابل مشاهده‌ای از تمام سطح آندومتریم بدست می‌دهد. محل تهیه نمونه بیوپسی را می‌توان مشاهده کرد (از نظر اینکه ضایعه کانونی وجود نداشته باشد) و همچنین در صورت وجود حالت غیرطبیعی، وسعت درگیری رحم نیز معلوم می‌شود.

مهمترین محدودیت استفاده از این روش قیمت بالای آندوسکوپ است. به همین دلیل آندوسکوپ بیشتر در مراکز بزرگ درمانی و مؤسسات تحقیقاتی وجود دارد. از معایب دیگر استفاده از این روش وقت‌گیر بودن آن می‌باشد در موارد کار با این وسیله رعایت نکات بهداشتی از اهمیت زیادی برخوردار است. اگر چه معتقدند در صورت استفاده صحیح از آن احتمال ابتلا به عفونتهای رحمی کم است (۹).

در مورد اثرات سوء احتمالی معاینات انجام شده بر روی میزان باروری بعدی مادیه با توجه به اینکه کلیه مادیه‌های مورد بررسی بعد از آندوسکوپی و بیوپسی آریستن شدند بنظر می‌رسد که در صورت استفاده صحیح از این روشها و رعایت نکات بهداشتی آندوسکوپی اثر قابل توجهی بر آینده تولیدمثلی حیوان ندارند.



15. Smith, R.D. Evaluation of diagnostic tests, Veterinary clinical epidemiology, A problem oriented approach, by Butterworth, Heinemann. ISBN 0-7506-9182-4, (1991).
16. Williams, A.C. and Richardson, P.H. The U.K. working party diagnostic criteria for atopic dermatitis, H. Observer variation on clinical diagnosis and signs of atopic dermatitis, British Journal of Dermatology, 131, 394-405, (1994).

Evaluation of the cyclic changes in mare reproductive system comparing biopsy and endoscopic methods

Bolourchi M.¹, Afkhami Roohani A.¹, Hovareshti P.¹, Hassani Tabatabaei A.M.¹, Gharagozloo F.¹, Ahooraei P.²
¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran. ²Diagnostic Center Razi Institute, Hesark, Karaj, Iran

During a period of one year, reproductive status of twenty one healthy maiden and parous Turkaman cross bred mares were studied during breeding and nonbreeding seasons. The reproductive health and fertility of the mares ranging 3 -13 years of age were confirmed by taking history, performing rectal palpation and studying endometrial culture, cytology and histology. Stages of the oestrous cycles were determined by daily teasing and rectal palpation, the findings were compared with those of the hysteroscopic and histologic alternations of the endometrium. Aerophilic and microaerophilic bacterial cultures were prepared from endometrial swabs. Twelve cases of 21 mares were in estrous and 9 cases were in diestrous periods. Three biopsy specimens out of 21 were diagnosed in grade 1 and 18 cases in grade IIA of the

Kenney & Doig (1986) classification. There was 71% agreement between the diagnosis of estrous using biopsy and teasing - rectal palpation methods. There was a statistically significant difference between the diagnosis of the stage of estrous cycle using biopsy and compared with teasing - rectal palpation methods, (kappa coefficient=0.47). There were six cases in estrous which diagnosed diestrous using biopsy method, However, they were more than nine years of age. Chronic degenerative endometrial disease is an inevitable result of senility. It seems that detection of the estrous cycle using endometrial biopsy samples should be conducted cautiously, especially in mares over 9 years of age. There was an 81% agreement between diagnosis of estrous cycle by comparing endoscopic with teasing - rectal palpation methods. Using McNemar test, there was no significant difference between diagnosis of estrus cycle by endoscopic and teasing - rectal palpation methods. kappa coefficient test was 0.6. *E. coli* and *Alcaligenes* were isolated from endometrial cultures in anestrus, whereas *Strep spp*, *Staph spp*, *Alcaligenes* and *E. coli* were isolated in cyclic mares. No bacteria were isolated from microaerophilic cultures in charcoal agar having CO₂. Endoscopic examinations were well tolerated by all the mares and no adverse effects were noted. The clinicians are recommended to perform hysteroscopic examination during diestrous injecting a prostaglandin F_{2α} analogue after the examination to induce luteolysis and rapid return to estrous. In conclusion, endoscopic evaluation of the uterus is a useful method to ascertain the reproductive health and has the advantage to that of microscopic method.

Key words : Biopsy, Endoscopy, Mare, Reproductive system, Estrous cycle

