

Köpeklerde Seksüel Siklus Dönemleri, Gebelik ve Pyometrada Endometrial Sitoloji Bulguları

Ayhan BAŞTAN

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Yunus ÇETİN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Van - TÜRKİYE

Örsan GÜNGÖR

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

Dilek ARSOY BAŞARAN

Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi, TAEK, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 08.04.2002

Özet: Bu araştırmanın amacı, seksüel siklusun farklı dönemlerinde, gebelikte ve pyometrada uterustaki hücresel değişiklikleri endometrial sitoloji ile ortaya koymaktır.

Bu amaçla materyal olarak farklı ırk, yaş ve seksüel siklusun değişik evrelerinde (Grup I proöstrus n = 5, Grup II östrus n = 5, Grup III diöstrus n = 5, Grup IV anöstrus n = 5), açık serviks pyometralı (Grup V, n = 5) ve gebe (Grup VI, n = 5) olan, toplam 30 adet uterus örneği değerlendirildi. Gruplar vaginal sitoloji ve ultrasonografik muayene yapıldıktan sonra, çok sayıda örnekler arasından seçilerek oluşturuldu. Operasyon öncesi serum progesteron seviyelerini belirlemek için kan örnekleri (10 ml) v. cephalica antibrachii' den alındı. Laparotomi sonrası çıkartılan uterus cornularından longitudinal kesitlerle endometrium ortaya çıkarıldı ve pamuk swaplar yardımı ile endometrium üzerinde döndürme hareketleri yapılarak örnekler alındı ve lam üzerine yayılarak Papanicolau boyama yöntemiyle boyandı. Endometrial sitolojide, kriter olarak nötrofil, eritrosit, bakteri ve endometrial epitel hücreleri kullanıldı. Hücreler yoğunluklarına göre 0 ile 4 (0 = hiç hücre yok, 1 = çok az hücre, 2 = az sayıda hücre, 3 = orta derecede hücre, 4 = çok sayıda hücre) arasında bir değer ile derecelendirildi. Çalışmada hücre tip ve yoğunlukları siklusun değişik dönemlerinde, gebelik ve pyometrada değişiklik gösterdi. Siklusun proöstrus döneminde en fazla eritrosit, az sayıda nötrofil, endometrial epitel hücreleri ve bakteri, östrusda az sayıda nötrofil ve eritrosit, orta yoğunlukta bakteri, diöstrusda az sayıda endometrial epitel hücreleri ve nötrofil, anöstrusda orta yoğunlukta dejeneren endometrial epitel hücreleri, nötrofil ve bakterilere, gebelikte çok az epitel hücre ve az sayıda nötrofil, pyometra olgularında ise yoğun bakteri, dejeneren epitel hücresi ve nötrofil tesbit edildi. Siklusun progesteron dominant evresinde nötrofil sayısında, östrüs dönemine oranla belirgin bir azalma vardı.

Sonuç olarak endometrial sitoloji ile endometriumdaki fizyolojik ve patolojik değişikliklerin kolaylıkla saptanabileceği, transservikal yol ile uterusu ulaşmanın mümkün olacağı tekniklerin geliştirilmesi durumunda bu yönteminin pratik, ucuz ve güvenli bir uterus hastalıkları tanı yöntemi olacağı kanısına varıldı.

Anahtar Sözcükler: Köpek, endometrial sitoloji, seksüel siklus, gebelik, pyometra

Endometrial Cytology Findings at Different Stages of Sexual Cycle, Pregnancy and Pyometra in Bitches

Abstract: The purpose of this study was to investigate cellular changes of the uterus during pregnancy, pyometra and different phases of the sexual cycle in dogs using endometrial cytology.

We used 30 uteruses from bitches of different ages and breeds and at heterogeneous stages of the sexual cycle (Group 1 proestrus n = 5, Group 2 estrus n = 5, Group 3 diestrus n = 5, and Group 4 anestrus n = 5) as well as animals with open cervix pyometra (Group 5 n = 5), and that were pregnant (Group 6 n = 5). The sexual cycle stage of the bitches was identified by vaginal cytology prior to ovariohysterectomy. The groups were selected from a large number of samples following vaginal cytology and ultrasonographic scanning. Blood samples (10 ml) were collected from the bitches by puncturing the v. cephalica antibrachii before surgery. The endometrium was revealed by longitudinal dissection of uterine horns after laparotomy. Uterine wall swabs were obtained from the mid part of one horn by rotating the cotton swabs on the endometrial surface. Cotton swabs were smeared over

microscopic slides and the samples were dyed using the Papanicolaou technique. The neutrophils, erythrocytes, bacteria and endometrial epithelial cells were evaluated for endometrial cytology. Cell scores were given that ranged from 1 to 4 according to frequency. In this study, variations in the type and density of cells according to stages of the sexual cycle, as well as pregnancy and pyometra cases, were observed. In the proestrus stage, an excessive number of erythrocytes, and a few neutrophils, endometrial epithelial cells and bacteria were found. In the estrus stage, a few neutrophils and erythrocytes and a moderate density of bacteria were observed, while in the diestrus stage, a few endometrial epithelial cells and neutrophils were noted. In the anestrus stage, a moderate density of degenerated endometrial epithelial cells, neutrophils and bacteria were observed. During pregnancy, a few epithelial cells and neutrophils were found. In pyometra cases, dense bacteria degenerated epithelial cells and neutrophils were identified. The number of neutrophils was lower in the progesterone dominated phase than in the estrus stage.

In conclusion, endometrial cytology can be used to determine physiological and pathological changes in the endometrium and that when transcervical cannulation techniques are fully developed they will constitute a practical, cheap and reliable diagnostic tool to identify uterine disorders.

Key Words: Bitch, endometrial cytology, sexual cycle, pregnancy, pyometra

Giriş

Endometrial sitoloji, insan ve atlarda endometritis, endometrial hiperplazi, endometrial adenokarsinom gibi uterus hastalıklarının teşhisinde değerli bir tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır (1-3). Köpeklerde vaginanın uzun, serviksin vaginanın tabanına doğru bakması, dar ve cranial bir portio kısmına sahip olması gibi anatomik güçlükler vagina yolu ile uterusu ulaşmayı zorlaştırmaktadır. Bu anatomik durum, köpeklerde bazı tanı yöntemleri ile uterus hastalıklarının teşhis olasılığını sınırlamaktadır. Watts ve Wright (4) ve Watts ve ark. (5) köpeklerde transservikal yol ile uterusu ulaşmak amacıyla birtakım yöntem ve aletler geliştirmişler, bu teknik ile uterus mikroflorası, fizyolojik ve patolojik durumlarını ortaya koymuşlardır. Endometrium ve myometrium hormonal değişikliklere bağlı olarak siklusun farklı dönemlerinde değişik morfolojik ve fizyolojik özellikler göstermektedir (6). Köpeklerde seksüel siklus dönemine göre salgılanan hormonların etkisiyle uterus ve vagina mukozasındaki bakteri, nötrofil ve epitel hücrelerin sayı ve yapılarında birtakım değişiklikler olmaktadır (7).

Bu araştırmada amaç köpeklerde gebelik, pyometra ve seksüel siklusun değişik dönemlerinde, endometrial sitoloji ile uterusu görülen hücresel değişiklikleri değerlendirmek, ileriki zamanlarda transservikal yol ile uterusu ulaşmanın mümkün olduğu durumda, bu yöntemin insan ve kısıraklarda olduğu gibi köpeklerde de değerli bir uterus hastalıkları tanı yöntemi olabileceğine dikkat çekmekti.

Materyal ve Metot

Bu çalışma, seksüel siklusun değişik evrelerinde (Grup I proöstrus n = 5, Grup II östrus n = 5, Grup III diöstrus

n = 5, Grup IV anöstrus n = 5), Grup V açık serviks pyometralı (n = 5) ve Grup VI gebe (n = 5) olan toplam 30 adet uterus örneği üzerinde gerçekleştirildi. Örnekler, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'na ovariohysterectomie amacıyla getirilen, alınan anamnez ve yapılan klinik muayenede herhangi bir problemi olmayanlar (Grup I, II, III, IV) ile yapılan klinik ve ultrasonografik muayenede pyometra (Grup V) ve gebelik saptanan (Grup VI) köpeklerden alındı. Köpeklerin seksüel siklus dönemleri, operasyondan önce yapılan vaginal sitolojik muayene ile belirlendi. Gruplar ise vaginal sitoloji ve ultrasonografik muayene yapıldıktan sonra çok sayıda örnekler arasından seçilerek oluşturuldu. Materyaller her köpektan 2 ayrı swap kullanılarak alındı ve Papanicolaou boyama yöntemiyle boyandı. Köpeklerden operasyon öncesi v. cephalica antibrachi'den 10 ml kan alınarak progesteron ölçümü için serum çıkartıldı. Endometrial sitolojide kriter olarak nötrofil, eritrosit, bakteri ve endometrial epitel hücreleri değerlendirildi. Hücrelerin sınıflandırılmasında, Watts ve ark.(1)'ın belirttiği kriterlerden faydalanıldı. Bu sınıflandırmaya göre smearde görülen hücreler yoğunluklarına göre 0 ila 4 (0 = hiç hücre yok, 1 = çok az hücre, 2 = az sayıda hücre, 3 = orta derecede hücre, 4 = çok sayıda hücre) arasında bir değer ile derecelendirildi.

Bulgular

Çalışma bulguları incelendiğinde, hücre tip ve yoğunlukları siklusun dönemine, gebelik ve pyometra gibi fizyolojik ve patolojik durumlara göre değişiklik göstermekteydi. Endometrial epitel hücreleri preparatlarda gruplar halinde, çoğunlukla oval ve büyük

bir çekirdeğe sahipti, aynı zamanda sayıları seksüel siklusun dönemine göre değişiklik göstermekteydi. Siklusun proöstrus döneminde, en fazla görülen hücre eritrosit idi (Skor 3). Bu hücrenin yanında az sayıda nötrofil (Skor 2), endometrial epitel hücresi (Skor 1) ve bakteri (Skor 1) tespit edildi. Östrus evresinde, az sayıda nötrofil (Skor 2), eritrosit (Skor 2) ve orta yoğunlukta bakteri (Skor 3) saptandı. Diöstrus evresinde, az sayıda endometrial epitel hücresi (Skor 2) ve nötrofile (Skor 2) rastlandı. Anöstrus döneminde, orta yoğunlukta dejenere endometrial epitel hücresi (Skor 3), nötrofil (Skor 2) ve bakteri (Skor 1), gebelikte yok denecek kadar az epitel hücre (Skor 1) ve az sayıda nötrofil (Skor 2), pyometra olgularında ise yoğun bakteri (Skor 4), yoğun dejenere epitel hücresi (Skor 4), yaygın nötrofil (Skor 4) tespit edildi (Tablo). Pyometralı köpeklerde yapılan sitolojik muayenede yoğun nötrofil, yoğun bakteri invazyonu ve dejeneratif epitel hücreleri belirlendi. Siklusun progesteron dominant evresinde nötrofil sayısında, östrus dönemine oranla belirgin bir azalma vardı.

Çalışmada seksüel siklus dönemi, gebelik ve pyometrada hücre çeşitleri, yoğunlukları ve kan progesteron düzeyleri Tablo'da verilmiştir.

Tartışma

Seksüel siklus dönemine göre salgılanan hormonların etkisiyle uterus mukozasındaki bakteri, nötrofil, epitel hücrelerinin sayı ve yapılarında birtakım değişiklikler olmaktadır. Östrojen uterus cornularının uzamasına, endometriumun kalınlaşmasına ve hemorajik değişikliklere neden olmakta, bu değişikliklerle beraber nötrofillerin uterusu göçü ve fagositik aktivitelerini arttırarak, uterusun savunma sistemini güçlendirmektedir. Oysa progesteron uterus savunma sistemini baskılamaktadır (8-10). Watts ve ark. (1), yaptıkları bir çalışmada endometrial epitel hücresi sayı ve yoğunlukları, nötrofil, eritrosit, bakteri sayısının siklusun dönemi ve gebeliğe bağlı olarak değiştiğini, endometrium epitel hücrelerinin sayısında diöstrus sonunda ve anöstrus döneminde artış, dejenerasyon, nötrofillere proöstrus,

Tablo. Çalışma Bulguları

Grup	Vaginal Sitoloji	P4(ng/ml)	Uterus Sitolojisi
Proöstrus	Az sayıda süperfisial hücre, bakteri ve nötrofil, yoğun eritrosit orta derecede parabazal ve intermedier hücre	0,8 ± 0,2	Çok miktarda eritrosit, yer yer nötrofil, az sayıda endometrial epitel hücresi, yer yer bakteri
Östrus	Yoğun keratinize süperfisial hücre, az sayıda bakteri, bazen az sayıda eritrosit	10,5 ± 4,2	Az sayıda nötrofil, orta yoğunlukta bakteri
Diöstrus	Bol miktarda nötrofil, intermedier ve parabazal hücre, kirli geri plan	23,4 ± 14	Tek veya topluluklar halinde endometrial epitel hücresi ve az sayıda nötrofil
Anöstrus	Parabazal ve intermedier hücre, nötrofil, temiz arka plan	0,6 ± 0,4	Orta yoğunlukta dejenere epitel hücresi, orta yoğunlukta nötrofil, az sayıda bakteri
Gebelik	İntermedier, parabazal hücre ve nötrofil, eritrosit yok, mukus	30 ± 3,5	Yok denecek kadar az sayıda epitel hücresi, az sayıda nötrofil
Pyometra	Yoğun dejenere nötrofil ve mukus, bazen eritrosit, parabazal ve intermedier hücre	4,5 ± 2,9	Yaygın bakteri ve dejenere nötrofil, bazen eritrosit, yoğun dejenere epitel hücresi, mukus ve kirli geri plan

östrüs ve gebeliğin erken dönemlerinde, bakterilere ise yaygın olarak proöstrüs ve östrüs döneminde rastladıklarını bildirmektedirler. Çalışma bulguları incelendiğinde hücre tip ve yoğunlukları siklusun dönemine, gebelik ve pyometra gibi fizyolojik ve patolojik durumlara göre değişiklik göstermektedir. Siklusun proöstrüs döneminde en fazla görülen hücre eritrosit idi (Skor 3). Bu hücrenin yanında az sayıda nötrofil (Skor 2), endometrial epitel hücreleri (Skor 1) ve bakteri (Skor 1) tesbit edildi. Östrüs evresinde az sayıda nötrofil (Skor 2), eritrosit (Skor 2) ve orta yoğunlukta bakteri (Skor 3) saptandı. Diöstrüs evresinde, az sayıda endometrial epitel hücreleri (Skor 2) ve az sayıda nötrofillere (Skor 2) rastlandı. Anöstrüs döneminde orta yoğunlukta dejenere endometrial epitel hücreleri (Skor 3), nötrofil (Skor 2) ve bakterilere (Skor 1), gebelikte yok denecek kadar az epitel hücre (Skor 1) ve az sayıda nötrofil (Skor 2), pyometra olgularında ise yoğun bakteri (Skor 4), yoğun dejenere epitel hücresi (Skor 4), yaygın nötrofiller (Skor 4) tesbit edildi. Pyometralı köpeklerde yapılan sitolojik muayenede yoğun nötrofil, yoğun bakteri invazyonu ve dejeneratif epitel hücreleri belirlendi. Bulgular Watts ve ark. (1)'nin bulgularına benzerdir. Nötrofiller özellikle diöstrüs dönemindeki ve pyometralı köpeklerde yüksek yoğunluklarda bulunmaktaydı. Bu durum nötrofillerin endometriumdaki, hücresel döküntüleri temizlediğini ve uterusu bakteri invazyonlarına karşı koruduğunu göstermektedir. Bulgular, bize köpeklerde siklus dönemi ve bazı patolojik durumlarda endometrium yapısında bazı değişikliklerin olduğunu, bu değişikliklerin özellikle uterus yangılarının tanısı amacıyla değerlendirilebileceği fikrini vermektedir.

Dhaliwal ve ark. (11) pyometra olgularında yaptıkları histopatolojik muayenede endometrium epitel hücrelerinde şiddetli yıkımlanma ve yaygın mononükleer hücre ve nötrofil saptamışlardır. Araştırmacılar uterus enfeksiyonlarında yangının derecesi ve neden olan bakteri veya suşlarına bağlı olarak epitel hücrelerindeki yıkım ve antienflamatuar hücre yoğunluğunun değişebileceğini belirtmektedirler. Araştırmacılar (11), uterus yangılarının tanısında histopatolojik muayenenin önemine dikkat çekmişlerdir. Rekha ve Krishnappa (12), ise pyometralı uterus ovariectomide sonunda bakteriyolojik örnek almışlar ve hepsinde bakterilere rastlamışlardır. Araştırmacılar çoğunlukla *E. coli* izole ettiklerini belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada (13) ise uterusu bir

kateter yardımıyla steril serum fizyolojik verilmiş ve aspire edilen sıvılardan yapılan ekimde bakteri izolasyonuna gidilmiştir. Bu yöntem ile uterusdaki bakteri izolasyonu ve antibiyogramı yapılmış sonuçta yapılan tedavide hastalığın prognozunun daha olumlu seyrettiği belirlenmiş ve bu yöntemin oldukça faydalı ve güvenli bir tanı yöntemi olduğu açıklanmıştır. Feldman ve Nelson (9), endometritislerin vaginal smear ile indirekt teşhisinin, etken izolasyonu ve antibiyogram için vaginadan alınan örneklerden kültür yapılabileceğini bildirmektedir. Oysa üriner sistem yangılarında benzer tablo ile karşılaşılması bu yöntemin bir dezavantajı olarak kabul edilmektedir. Aynı şekilde normal vaginada da benzer bakterilerin saprofit olarak bulunması nedeniyle vaginadan alınan örneklerin çokta güvenli tanı yöntemi olmamaktadır (9).

Bu araştırmada pyometra olgularında ise yoğun bakteri (Skor 4), yoğun dejenere epitel hücresi (Skor 4), yaygın nötrofiller (Skor 4) tesbit edildi. Bulgular Pradhart ve ark., (13), Rekha ve Krishnappa (12) ve Dhaliwal ve ark. (11)'nin bulgularını destekler niteliktedir. Çalışma verilerinden, uterusu alınan örnekler direkt olarak uterusdaki değişiklikleri ve florayı yansıtacağından, uterus yangılarında endometrial sitolojinin daha değerli bir anlam taşıyacağı uterus bozukluklarının tanısında endometrial sitoloji ve uterusu kültür örneği alınmanın daha güvenli bir tanı yöntemi olacağını göstermektedir. Bu durum bizim Feldman ve Nelson (9)'dan farklı düşünmemize yol açmıştır. Ayrıca bu araştırmada nötrofiller özellikle, pyometra olgularında yüksek yoğunlukta saptandı. Uterus hastalıklarının tanısında bu hücrelerin varlığı tek başına teşhis için yeterli olmasa da, diğer tanı yöntemlerini (USG, vaginal akıntı, vaginal sitoloji) destekleyici olarak kullanılabilir.

Yapılan bir çalışma sonucunda (14), progesteronun yüksek olduğu durumlarda uterusun fagositik yeteneğinin azaldığı görülmüştür. Çalışmamızda özellikle progesteronun yüksek olduğu siklus dönemlerinde endometriumdaki daha az nötrofil saptanması benzer sonucu desteklememize yol açmıştır.

Sonuç olarak endometrial sitoloji ile endometriumdaki fizyolojik ve patolojik değişikliklerin kolaylıkla saptanabileceği, transservikal olarak uterusu ulaşmanın mümkün olacağı tekniklerin geliştirilmesi durumunda bu yöntemin pratik, ucuz ve güvenli bir tanı yöntemi olacağı kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Watts, J.R., Wright, P.J., Lee, C.S.: Endometrial Cytology of the Normal Bitch Throughout the Reproductive Cycle. *J. Small Anim. Pract.* 1998; 39: 2-9.
2. Ohwada, M., Suzuki, M., Onagawa, T., Ishida, A., Kawai, T., Sato, I.: Primary Malignant Lymphoma of the Uterine Corpus Diagnosed by Endometrial Cytology: A Case Report. *Acta Cytologica* 2000; 44: 1045-1049.
3. Dijkhuizen, F.P.H.L.J., Mol, B.W.J., Brölmann, H.A.M., Heintz, A.P.M.: The Accuracy of Endometrial Sampling in the Diagnosis of Patients with Endometrial Carcinoma and Hyperplasia. *Cancer* 2000; 89: 1765-1772.
4. Watts, J.R., Wright, P.J.: Investigating Uterine Disease in the Bitch: Uterine Cannulation for Cytology, Microbiology and Hysteroscopy. *J. Small. Anim. Pract.* 1995; 36: 201-206.
5. Watts, J.R., Wright, P.J., Whithear, K.G.: Uterine, Cervical and Vaginal Microflora of the Normal Bitch Throughout the Reproductive Cycle. *Small Anim. Pract.* 1996; 37: 54-60.
6. Allen, W.E.: Infertility in the Bitch. *In Pract.* 1986; 8: 22-26.
7. Davidson, A.P., Feldman, E.C.: Ovarian and Estrous Cycle Abnormalities in the Bitch. *In: Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat.* eds.: Ettinger, S.J., Feldman, E.C. W.B Saunders Company, London. 1995; p.1607-1613.
8. Farstad, W.: Bacterial Findings in the Genital Tract of Bitches with Reproductive Disorders. *Nord. Vet. Med.* 1982; 34: 451-456.
9. Feldman, E.C., Nelson, R.W.: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction.* W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1996.
10. Barrau, M.D., Abel, J.H., Verhage, H.G., Tietz, W.J.: Development of the Endometrium during the Estrous Cycle in the Bitch. *Am. J. Anat.*, 1975; 142: 47-65.
11. Dhaliwal, G.K., Wray, C., Noakes, D.E.: Uterine Bacterial Flora and Uterine Lesions in Bitches with Cystic Endometrial Hyperplasia (Pyometra). *Vet. Rec.* 1998; 12: 659-661.
12. Rekha, B.S., Krishnappa, G.: Bacterial Flora in Canine Pyometra. *Indian Vet. J.* 2001; 78: 773-774.
13. Pradhart, R.C., Barik, A.K., Ray, S.K.H., Das, S., Mishra, P.R.: Antibioqram of Uterine Microflora in Bitches with Endometritis-Pyometra Complex. *Indian Vet J.* 1999; 76: 982-985.
14. Baştan, A., Aslan, S., Çelebi, M.: Peripheral Plasma Progesterone Levels during Pregnancy in the Pure Breed Anatolian Shepherd Dogs. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1996; 43: 429-432.