

بررسی میزان شیوع اندومتریس تحت بالینی در گاوهای مبتلا به کیست تخمدانی و تأثیر آن بر میزان باروری

بهرام سلاسل^۱، مسعود خسروی^۲، تقی تکتاز^۳، عادل مختاری^{۴*}

۱- استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج- ایران.
 ۲- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد- ایران.
 ۳- استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد- ایران.
 ۴- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد- ایران.
 *نویسنده مسئول: adelmkh2008@yahoo.com
 دریافت مقاله: ۱۳ اردیبهشت ۸۹، پذیرش نهایی: ۱۴ مرداد ۸۹

Determining the prevalence and impact of subclinical endometritis in dairy cow with ovarian cyst

Salasel, B.¹, Khosravi, M.², Taktaz, T.³, Mokhtari, A.^{4*}

¹Assistant professor, Department of Animal Clinical Sciences, faculty of Veterinary Medicine, Azad University, Karaj branch, Karaj- Iran.

²DVM, Department of animal clinical sciences, faculty of Veterinary Medicine, Azad University, Shahrekord branch, Shahrekord- Iran.

³Assistant professor, Department of animal clinical sciences, faculty of Veterinary Medicine, Azad University, Shahrekord branch, Shahrekord- Iran.

⁴DVM, Department of animal clinical sciences, faculty of Veterinary Medicine, Azad University, Shahrekord branch, Shahrekord- Iran.

Abstract

The objectives of the study were to the use of endometrial cytology (EC) to diagnose the relationship between subclinical endometritis (SE) in clinically normal postpartum dairy cows with ovarian cyst and to measure the impact of subclinical endometritis on reproductive performance in the cows. The development of cystic ovaries may be related to postparturient diseases and intrauterine infections. Holstein cows from dairy farm were examined after 40 days in milk (DIM) and clinically normal cows (n=36), based on the absence of abnormal discharge on external inspection, were selected. The reproductive tract of selected cows was evaluated by transrectal palpation and EC. The cysts were determined to be follicular or luteal with ultrasonography according to diameter of follicular wall. Endometrial cytology was performed with lavage of uterus after 50 ml normal saline infusion. The collected solution centrifuged and then a drop of precipitate on a slide was stained with giemsa and examined microscopically for percentage of polymorpho nuclear cells (PMNs). All cows in the study were subsequently followed for reproductive performance data for a minimum of 4 months. A generalized linear model was used to derive a case definition of subclinical endometritis, based on factors associated with decreased relative pregnancy rate. Positive EC (?3% PMN) was associated with a significant reduction in the relative pregnancy rate and identified cows with ovarian cyst which have subclinical endometritis. Cows with subclinical endometritis had a relative pregnancy rate of 13% (P=0.002), compared to cows without subclinical endometritis. In conclusion, subclinical endometritis in cows with ovarian cyst, diagnosed by EC, was associated with reduced relative pregnancy rate and there was a possible role of intrauterine infection and inflammation in the pathogenesis of ovarian cyst in postpartum dairy cows. *Vet. Res. Bull.* 6,2:107-114, 2011.

Keywords: ovarian cyst, subclinical endometritis, endometrial cytology, conception rate.

چکیده

هدف این مطالعه سیتولوژی اندومتر رحم به عنوان یک ابزار تشخیصی جهت اندومتریس تحت بالینی در راستای تعیین ارتباط التهاب و عفونت رحمی با عارضه کیست تخمدانی بود. در این بررسی گاوهای مبتلا به کیست تخمدانی (حضور فولیکول با قطر بیش از ۲۵ میلی متر و فقدان جسم زرد فعال) از روز ۴۰ بعد از زایمان بر پایه عدم حضور ترشحات غیر عادی در ملامسه رکتال و تشخیص کیست تخمدانی با استفاده از اولتراسونوگرافی جهت بررسی انتخاب شدند. نوع کیست (فولیکولاریا لوتئال) از طریق اولتراسونوگرافی و ارزیابی قطر دیواره کیست معین گردید. به منظور سیتولوژی رحم اقدام به تزریق ۵۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به داخل رحم می گردید و مایع تخلیه و سانتریفیوژ می گردید و یک قطره از رسوب بر روی لام قرار داده می شد و رنگ آمیزی گیمسا صورت می گرفت. در بررسی های میکروسکوپی در صد سلول های چند هسته ای تعیین می گردید. با استفاده از رگرسیون خطی مشخص گردید که مواردی از سیتولوژی اندومتر رحم که به طور متوسط ۴۰ ± ۹۰ روز بعد از زایمان صورت گرفت، با میزان نوتروفیل ۳٪ همراه با کاهش معنی دار میزان آبستنی بود (P=۰/۰۱۸) و به عنوان اندومتریس تحت بالینی در نظر گرفته شدند. گاوهای با کیست تخمدانی و میزان نوتروفیل ۳٪ شانس آبستنی ۱۳٪ و گاوهای با درصد نوتروفیل کمتر از این مقدار شانس آبستنی ۷۸٪ در تلقیح اول بعد از نمونه گیری داشتند (P=۰/۰۰۲). در نتیجه، اندومتریس تحت بالینی تشخیص داده شده به وسیله سیتولوژی اندومتر یوم رحم در گاوهای مبتلا به کیست تخمدانی همراه با کاهش میزان آبستنی بود و بر اساس یافته های سیتولوژیکی این مطالعه، احتمالاً عفونت رحمی و التهاب در شکل گیری کیست تخمدانی در گاوهای شیری بعد از زایمان نقش دارد. پژوهشنامه دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶، شماره ۲، ۱۱۴-۱۰۷.

واژه های کلیدی: اندومتریس تحت بالینی، کیست تخمدانی، میزان باروری، سیتولوژی اندومتر یوم رحم.



مقدمه

کیست‌های تخمدانی یک عامل مهم در ناباروری گاوهای شیری هستند و باعث افزایش فاصله بین دو زایش می‌گردند (۱۹). سبب شناسی کیست تخمدانی در گاوهای شیری موضوع بسیاری از مطالعات در این زمینه بوده است (۲۰۴). شکل گیری کیست‌ها به بیماری‌های بعد از زایمان و عفونت‌های رحمی مرتبط می‌باشد، هر چند مکانیسم دقیقی که عفونت‌های رحمی کنترل اندوکورینی فولیکولوژنز و تخمک گذاری را مختل می‌کنند مشخص نگردیده است. در بررسی نقش عفونت رحمی در بیماری‌زایی کیست تخمدانی یک ارتباط سببی استنباط شده است ولی این امر به وضوح مشخص نگردیده است (۲۰۴).

تأثیر بیماری‌های رحم بر روی فعالیت تخمدان احتمالاً از طریق محور تخمدان - هیپوتالاموس - هیپوفیز می‌باشد (۱۸). در سطح هیپوتالاموس - هیپوفیز اندوتوکسین باکتری مانع از غلیان LH می‌گردد و می‌تواند ترشح GnRH از هیپوتالاموس و پاسخ دهی هیپوفیز به GnRH را مختل کند (۱۰، ۱۳، ۱۶). میزان باروری پایین در گاوهای درگیر اندومتريت تحت بالینی یا بعد از رفع بیماری‌های رحمی احتمالاً پیامدی از تخریب مسیرهای اندوکورینی و فیزیولوژیکی است که به خوبی وابسته به التهاب رحمی می‌باشند (۱۸).

اندومتريت تحت بالینی نیز یک روند التهابی مزمن اندومتريوم با نسبت بالایی از سلول‌های التهابی می‌باشد که باروری گاوها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اساس تشخیص اندومتريت تحت بالینی بازیابی نوتروفیل‌ها از طریق شستشوی رحمی و یا سیتوبراش و بررسی نسبت نوتروفیل‌ها به سایر سلول‌ها می‌باشد (۵، ۷، ۱۷). جهت ارزیابی سیتولوژی اندومتريوم سلول‌های التهابی و اندومتريوم را از طریق روش‌های مختلفی از جمله بیوپسی رحم، لاواژ رحمی و سیتوبراش می‌توان بدست آورد. بیوپسی رحمی یک روش مناسب جهت بازیابی سلول‌هاست ولی یک روش وقت گیر، گران و تأثیر گذار بر باروری است. سیتوبراش بک روش قابل اعتماد و مناسب جهت ارزیابی سیتولوژی رحم نسبت به لاواژ رحمی می‌باشد ولی نیاز به وسایل خاص دارد. لاواژ رحمی سلول‌ها را از یک سطح رحمی وسیع جمع‌آوری می‌کند و روش ساده‌تری نسبت به سیتوبراش است ولی ممکن است تا حدی باعث تحریک اندومتريوم گردد (۸).

هدف این تحقیق بررسی ارتباط وقوع کیست تخمدانی بعد

از زایمان و اندومتريت تحت بالینی از طریق سیتولوژی اندومتريوم رحم می‌باشد.

مواد و روش کار

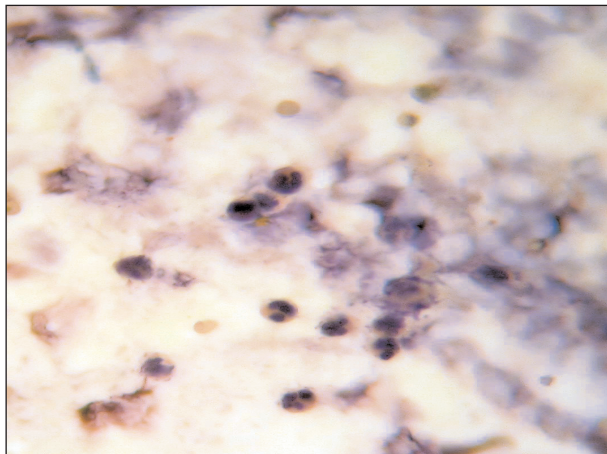
این مطالعه در فاصله زمانی مهر ۸۷ تا مرداد ۸۸ در یک گاوداری صنعتی واقع در شهرکرد بر روی ۳۶ رأس گاو شیری مبتلا به کیست تخمدانی صورت گرفت. در این گاوداری سیستم مدار باز اجرا می‌گردید و گاوها در بهاربندهای غیر مسقف نگهداری می‌شدند. دوره انتظار تلقیح (Voluntary waiting period) در این گله برای گاوها ۵۰ روز و برای تلیسه‌ها ۶۰ روز بعد از زایمان بود.

در این بررسی گاوهای مبتلا به کیست تخمدانی (حضور فولیکول با قطر بیش از ۲۵ میلی‌متر و فقدان جسم زرد فعال) از روز ۴۰ بعد از زایمان جهت بررسی انتخاب شدند. گاوها از نظر حضور ترشحات رحمی و وضعیت رحمی بررسی می‌گردیدند. در بررسی سونوگرافی گاوها، در صورت مشاهده مایعات اکوژن در رحم به عنوان اندومتريت کلینیکی در نظر گرفته می‌شدند. تنها گاوهای با ترشحات و وضعیت رحمی طبیعی جهت مطالعه انتخاب می‌گردیدند. تشخیص کیست تخمدانی و نوع آن در گاوهای سالم از نظر کلینیکی از طریق معاینات رکتال و نیز با استفاده از اولترا سونوگرافی (SIUI-CTS-900V) انجام می‌گرفت. کیست فولیکولی با مشخصات دیواره نازک کمتر از ۳ میلی‌متر و مایع فولیکولی غیر اکوژن و کیست لوتئال دیواره ضخیم بیشتر از ۳ میلی‌متر به صورت حاشیه اکوژن و نقطه‌ها و ساختارهای رشته‌ای اکوژن در مایع فولیکولی تشخیص داده می‌شدند (۶). گاوها در صورتی که در طی هفت روز قبل از معاینه آنتی بیوتیک سیستمیک دریافت کرده بودند یا ناهنجاری‌های تولید مثلی نظیر چسبندگی داشتند از مطالعه حذف می‌گردیدند.

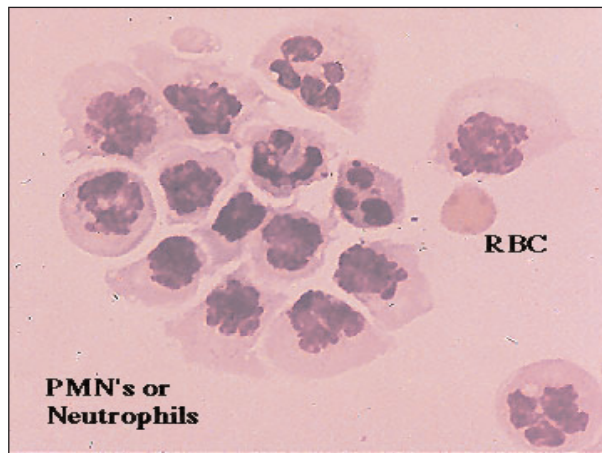
در این مطالعه دام‌های مبتلا به کیست طبق روال عادی تحت درمان‌های مرسوم توسط متخصص مربوطه قرار می‌گرفتند.

نمونه‌های سیتولوژی رحم با استفاده از روش شستشوی رحم (lavage) بدست می‌آمد. در این روش مقدار ۵۰ سی سی محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد استریل با استفاده از یک سوند تزریقی رحمی وارد رحم می‌گردید. به منظور جلوگیری از انتقال آلودگی، ناحیه فرج با استفاده از دستمال کاغذی مرطوب تمیز





شکل ۲- تصویر سلولهای نوتروفیل و اپیتلیال جمع آوری شده از داخل رحم با استفاده از روش لاواژ رحمی.



شکل ۱- تصویر سلولهای نوتروفیل جمع آوری شده از داخل رحم با استفاده از روش لاواژ رحمی.

انجام گردید. متغیرها شامل نوع کیست، فاصله زایمان تا اولین تلقیح، نحوه زایمان، جفت ماندگی بودند که تأثیر آن‌ها بر میزان نوتروفیل‌ها با استفاده از روش رگرسیون خطی تعمیم یافته (GENERALIZED LINEAR MODEL) بررسی گردید. تأثیر میزان نوتروفیل‌ها و فاصله زایمان تا نمونه‌گیری بر آبستنی در تلقیح اول بعد از نمونه‌گیری با استفاده از روش رگرسیون لجستیک بررسی گردید. سطح معناداری نتایج، ($p < 0.05$) در نظر گرفته شد. نوع آزمون مورد استفاده جهت بررسی اثر نوع کیست بر تعداد نوتروفیل‌ها kaplan-meier بود. همچنین برای استفاده از ROC analysis، مناسب ترین حد آستانه برای تشخیص اندومتريت تحت بالینی در نظر گرفته شد که نتایج این آنالیز به صورت زیر می‌باشد: $AUC: 0.931$ ، $P=0.0001$ ، مناسب ترین حد آستانه (بر اساس شانس آبتن شدن) به این صورت می‌باشد که ۳ درصد نوتروفیل به عنوان گاوهای نرمال و ۳ درصد نوتروفیل به عنوان گاوهای مبتلا به اندومتريت تحت بالینی در نظر گرفته شود. با در نظر گرفتن این حد آستانه برای تعیین شانس آبتن شدن، حساسیت (sensitivity) ۷۲/۷ درصد و ویژگی (specificity) ۹۱/۳ درصد می‌باشد.

نتایج

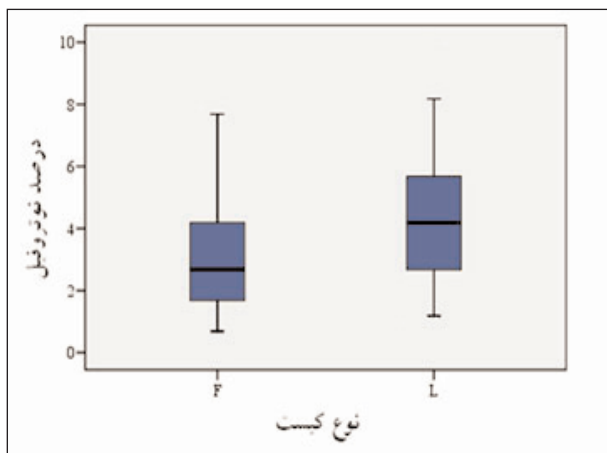
در طی نمونه‌گیری سوند تزریق رحمی از سرویکس تعدادی از گاوها به علت بسته بودن سرویکس عبور نکرد و نمونه‌گیری از آن‌ها امکان پذیر نبود. متوسط زمان نمونه‌گیری (40 ± 90) روز بعد از زایمان بود. از تعداد ۳۶ گاو ۲۰ رأس (۵۷ درصد) واجد کیست فولیکولی و ۱۶ رأس (۴۴/۴) واجد کیست لوتئال بودند. از ۲۰ رأس گاو واجد کیست فولیکولی، ۷ رأس (۳۵ درصد) و از ۱۶

می‌گردید و جهت جلوگیری از انتقال آلودگی از واژن به رحم، یک غلاف پلاستیکی بر روی سوند تزریق رحمی کشیده می‌شد. سوند به همراه غلاف تا دهانه خارجی سرویکس هدایت می‌گردید و در آنجا سوند از غلاف خارج می‌گردید و از حلقه‌های سرویکس عبور داده می‌شد تا به ابتدای رحم می‌رسید. سپس ۵۰ سی سی محلول کلرید سدیم از طریق یک سرنگ به داخل رحم وارد می‌گردید و بعد از ماساژ رحم به آرامی به مدت ده ثانیه، با استفاده از فشار منفی که توسط سرنگ ایجاد می‌گردید مایع داخل رحم تخلیه می‌گردید و در صورتی که مایع به راحتی خارج نمی‌گردید تلاشی برای خارج کردن حجم بیشتری از مایع صورت نمی‌گرفت. مایع بدست آمده به داخل لوله‌های پلاستیکی استریل ریخته شده و حداکثر طی مدت ۴ ساعت جهت ادامه کار به آزمایشگاه منتقل می‌گردید.

در آزمایشگاه لوله‌ها در سانتی‌فیوژ با دور ۱۵۰۰ به مدت ۶ دقیقه قرار داده می‌شدند. بعد از سانتی‌فیوژ یک قطره از مایع ته لوله روی لام قرار داده و با حرارت ملایم شعله خشک می‌شد. نمونه‌ها با استفاده از الکل متانول به مدت دو دقیقه ثابت (فیکس) می‌شدند و با استفاده از رنگ گیمسا به مدت ۱۰ دقیقه رنگ آمیزی می‌شدند. بررسی سیتولوژی به وسیله شمارش ۲۰۰ سلول (به جز گلبول‌های قرمز) با بزرگنمایی ۱۰۰ میکروسکوپ (Nikon) انجام می‌گرفت و نسبت نوتروفیل‌ها به سایر سلول‌ها تعیین می‌گردید (شکل ۱ و ۲). جهت اطمینان بیشتر از صحت نتایج، هر لام توسط دو نفر مورد شمارش سلولی قرار می‌گرفت.

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۵





نمودار ۲- میزان نوتروفیل متناظر با چارک اول، سوم و همچنین میانه در گاوهای باکیست لوتئال (N، نسبت به گاوهای باکیست فولیکولار F، بیشتر می باشد.

اندومتریوت تحت بالینی و باروری را نشان می دهد.

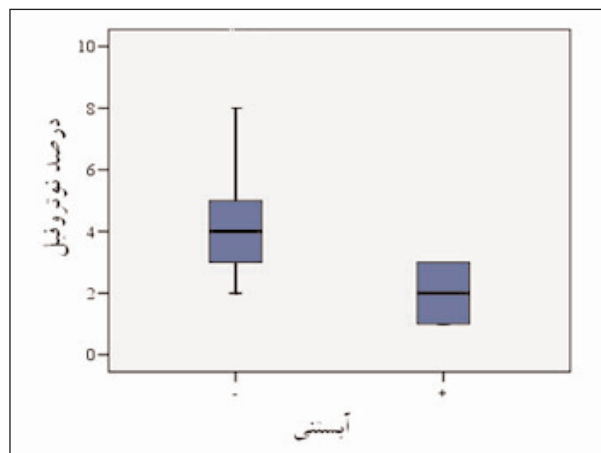
تأثیر فاصله از زایمان تا نمونه گیری بر میزان آبستنی به این صورت بود که با افزایش این فاصله شانس آبستنی بودن در تلقیح بعد از نمونه گیری افزایش می یافت ($p=0/051$) (جدول ۳).

جهت بررسی فاکتورهای تأثیر گذار بر میزان نوتروفیل ها تأثیر نوع کیست، فاصله زایمان تا اولین تلقیح، فاصله زایمان تا نمونه گیری، عفونت رحمی بعد از زایمان، نحوه زایش و جفت ماندگی بر درصد نوتروفیل ها بررسی گردید و مشخص گردید که نوع کیست، نحوه زایش، فاصله زایمان تا اولین تلقیح و عفونت رحمی بعد از زایمان به طور معناداری بر میزان نوتروفیل ها تأثیر دارند. گاوهای با کیست لوتئال درصد نوتروفیل بیشتری نسبت به گاوهای با کیست فولیکولار داشتند ($p=0/066$) (نمودار ۲).

درصد نوتروفیل به طور متوسط در گاوهای مبتلا به کیست و با سابقه عفونت رحمی بعد از زایمان (۵ درصد) و در گاوهایی که عفونت نداشتند (۲/۵ درصد) بود ($p=0/800$).

در دامهایی که فاصله زایمان تا اولین تلقیح بالا بود، درصد نوتروفیل بیشتری در زمان نمونه گیری داشتند و این افزایش در گاوهایی که عفونت رحمی پس از زایمان داشتند، بیشتر بود ($p=0/017$).

درصد نوتروفیل گاوهایی که به طور غیر طبیعی زایمان کردند به طور متوسط (۴ درصد) و در گاوهای با زایش طبیعی (۲/۵ درصد) بود ($p=0/066$).



نمودار ۱- درصد نوتروفیل ها به ازای گاوهای آبستن (+) و غیر آبستن (-). خطی که به صورت افقی درون مستطیل نشان داده شده است، میانه می باشد. ضلع پایین و بالای مستطیل بترتیب مربوط به مقادیر ۲۵ درصد و ۷۵ درصد می باشد و با نام های چارک اول و چارک سوم شناخته می شوند. میزان نوتروفیل متناظر با چارک اول، سوم و همچنین میانه در گاوهای غیر آبستن نسبت به گاوهای آبستن بیشتر می باشد.

رأس گاو واجد کیست لوتئال، ۴ رأس (۲۶ درصد) در اولین تلقیح بعد از نمونه گیری آبستن شدند. ۲۵ رأس (۷۱/۴ درصد) گاوها به طور طبیعی زایمان کرده و ۱۰ رأس (۲۸/۶ درصد) آن ها به درجاتی سخت زایی را تجربه کرده اند. ۴ رأس (۱۱/۴ درصد) از دامها مبتلا به جفت ماندگی و ۳۱ رأس (۸۸/۶ درصد) بدون جفت ماندگی بودند. میزان آبستنی پس از درمان های معمول و در اولین تلقیح بعد از نمونه گیری ۳۱/۴ درصد (۱۱ رأس) بود.

پس از بررسی تأثیر عواملی مانند نوع کیست، فاصله زایمان تا اولین تلقیح، نحوه زایمان، جفت ماندگی، میزان نوتروفیل ها و فاصله زایمان تا نمونه گیری بر میزان آبستنی در تلقیح بعد از نمونه گیری مشخص گردید که تنها دو فاکتور درصد نوتروفیل و فاصله زایمان تا نمونه گیری به طور معنی داری بر میزان آبستنی تأثیر گذارند. تأثیر درصد نوتروفیل ها بر میزان آبستنی در تلقیح بعد از نمونه گیری به این صورت بود که با افزایش درصد نوتروفیل ها میزان آبستنی در اولین تلقیح بعد از نمونه گیری به طور معنی داری کاهش یافت ($p=0/018$) (نمودار ۱).

با بررسی مقادیر مختلف درصد نوتروفیل و میزان آبستنی در تلقیح بعد از نمونه گیری (جدول ۱) مشخص گردید که گاوهای با میزان نوتروفیل بیشتر یا مساوی (۳ درصد) شانس آبستنی آن ها در اولین تلقیح بعد از نمونه گیری (۱۳ درصد) و کمتر از این مقدار شانس آبستنی آن ها (۷۲ درصد) بود ($p=0/002$).

جدول (۲) با استفاده از رگرسیون لجستیک رابطه میان



جدول ۲- معنی داری تأثیر اندومتريت تحت باليني روی باروری.

فاکتور	تعداد	میزان باروری	ضریب پارامتر	آماره آزمون	درجه آزادی	سطح معناداری	(95% CI)
							Odds ratio
فاقد اندومتريت تحت باليني	۱۰	٪۸۰	-	-	۱	-	Reference
واجد اندومتريت تحت باليني	۲۴	٪۱۲/۵	-۳/۳۳۲	۱۱/۰۳۸	۱	۰/۰۰۱	۰/۰۳۶ -۰/۲۵۵ (۰/۰۰۵)

۳درصد) میزان آبستنی کمتر داشتند و به عنوان اندومتريت تحت باليني در نظر گرفته شدند. البته باید به غیر از شرایط التهابی رحم وضعیت اندوکرینی حیوان و شرایط متابولیکی هم در این ارتباط دخیل داشت.

Gilbert و همکاران با استفاده از روش لاواژ رحم نتیجه گرفتند حضور نوتروفیل‌ها بیشتر از (۵درصد) در رحم ۴۰ تا ۶۰ روز بعد از زایمان همراه با اندومتريت تحت باليني بوده و منجر به افزایش متوسط روزهای باز تا ۳۹ روز و کاهش بازده تولید مثلی می‌گردد (۵).

Kasimanickam و همکاران با استفاده از روش سیتوبراش نتیجه گرفتند که حضور نوتروفیل‌ها بیشتر از (۱۸ درصد) و (۱۰درصد) به ترتیب در (۲۰-۳۳) و (۳۴-۴۷) روز بعد از زایمان همراه با اندومتريت تحت باليني می‌باشد و باعث افزایش متوسط روزهای باز به ترتیب تا ۲۹ و ۶۲ روز می‌گردد (۷). مطالعه حاضر که با فاصله بیشتر از زایمان صورت گرفته نشان می‌دهد که میزان (۳درصد) نوتروفیل به همراه شرایط اندوکرینی که باعث بروز کیست گردیده است منجر به کاهش باروری می‌گردد.

مطالعات بر روی اندومتريت تحت باليني بیانگر شیوع بین (۱۲درصد) تا (۹۴درصد) بوده است (۹). تفاوت در طراحی مطالعات و تعریف‌های متفاوت اندومتريت تحت باليني از یک ارزیابی معتبر از نتایج این مطالعات جلوگیری می‌کند. زمان نمونه‌گیری در این مطالعات از ۲۱ تا ۶۰ روز بعد از زایمان متفاوت بوده است. علاوه بر این تفاوت در گستره آستانه نوتروفیل‌ها که برای تعریف اندومتريت تحت باليني به کار رفته، متفاوت است. با توجه به این مطالب تفاوت در دامنه و حد آستانه میزان نوتروفیل‌ها در این تحقیق و سایر تحقیقات به دلیل تفاوت در زمان نمونه‌گیری می‌باشد. علاوه بر این عنوان شده است که در

جدول ۱- تعداد گاوهای آبستن و غیرآبستن به تفکیک مقادیر مختلف درصد نوتروفیل.

درصد نوتروفیل	وضعیت آبستنی		جمع
	آبستن	غیرآبستن	
۱	۰	۴	۴
۲	۲	۴	۶
۳	۵	۳	۸
۴	۶	۰	۶
۵	۵	۰	۵
۳	۰	۳	۶
۲	۰	۲	۸

جدول ۳- میزان آبستنی در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری.

فاصله از زایمان تا نمونه‌گیری	تعداد گاو آبستن	تعداد گاو غیرآبستن	آبستنی در اولین تلقیح بعد از نمونه‌گیری
۴۰-۸۰	۲	۸	٪۲۰
۸۰-۱۱۰	۳	۱۲	٪۲۰
۱۱۰-۱۴۰	۶	۵	٪۵۵

بحث و نتیجه‌گیری

هدف این مطالعه استفاده از سیتولوژی اندومتريوم به عنوان یک ابزار تشخیصی جهت اندومتريت تحت باليني در گاوهای سالم از نظر کلینیکی بر پایه عدم حضور ترشحات غیر عادی در ملامسه رکتال، در راستای یافتن ارتباط عفونت و التهاب رحمی در شکل‌گیری کیست تخمدانی بود.

سیتولوژی اندومتريوم به عنوان یک معیار تشخیصی جهت التهاب یا اندومتريت تحت باليني استفاده گردیده است. سیتولوژی رحم جهت ارزیابی التهاب در مراحل مختلف بعد از زایمان حتی با کاهش درصد نوتروفیل‌ها می‌تواند به کار گرفته شود (۷). البته فاکتورهایی ممکن است باعث تشخیص مثبت کاذب و منفی کاذب گردند؛ به ویژه تأثیر مراحل سیکل فحلی بر روی میزان نوتروفیل‌ها به خوبی روشن نگردیده و قابل بررسی است (۵).

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که تنها مواردی از سیتولوژی رحم که میزان نوتروفیل بیشتر و به تبع آن التهاب رحمی با حدت بیشتری همراه بود به طور معنی داری همراه با کاهش میزان آبستنی در تلقیح اول بعد از نمونه‌گیری بودند. با بررسی میزان نوتروفیل‌ها و میزان آبستنی در تلقیح بعد از نمونه‌گیری، گاوهای با درصد نوتروفیل بیشتر یا مساوی



مشکلات را تجربه نکرده بودند داشتند؛ اما وقوع این مشکلات الزاماً همراه با کاهش آبستنی نبود. این موضوع در توافق با یافته‌های LeBlanch و همکاران است که عنوان کردند که عواملی نظیر جفت ماندگی، سخت‌زایی و دوقلوزایی همراه با ترشحات رحمی بودند اما بر میزان آبستنی تأثیر نداشتند (۱۱). ولی در مقابل دیگر محققین عنوان کرده‌اند که مشکلات زایمانی با کاهش میزان آبستنی همراه بوده است (۷). گاوهای با کیست لوتئال به طور متوسط درصد نوتروفیل بیشتری نسبت به گاوهای با کیست فولیکولار (۴ درصد در مقابل ۲/۵ درصد) داشتند. به طور معمول پذیرفته شده است که الگوی چرخه هورمون‌های استروئیدی در طی مراحل مختلف سیکل فحلی بر پتانسیل بیماری‌زایی میکروارگانیزم‌ها در رحم تأثیر دارد (۳). ولی مکانیسم دقیق تأثیرات هورمون‌های استروئیدی به خوبی روشن نگردیده است و به علاوه عنوان گردیده است که تأخیر در نفوذ لوکوسیت‌ها به اندومتریم در طول مرحله لوتئال چرخه فحلی و در حضور عفونت رحمی وجود دارد (۳). پراگندگی تعداد نوتروفیل‌ها در ترشحات رحمی و فعالیت آن‌ها در مراحل مختلف چرخه فحلی در گاوهای سالم به خوبی روشن نگردیده است. به طور معمول تجمع نوتروفیل‌ها در رحم در طی مرحله مت استروس در مقایسه با مراحل دیگر چرخه فحلی بیشتر هستند. افزایش فعالیت بیگانه خواری نوتروفیل‌ها در طی مرحله استروژنی مشخص گردیده است ولی شواهدی وجود ندارد که مهاجرت و فعالیت نوتروفیل‌ها در طی دایستروس به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. احتمالاً افزایش پروتئین‌های سرکوب‌کننده ایمنی در حضور پروژسترون، منجر به کاهش فعالیت نوتروفیل‌ها می‌گردد (۳). در این مطالعه نشان داده شد که حضور کیست به همراه اندومتريت تحت بالینی باعث کاهش باروری گردیده است. در این ارتباط گزارشاتی مبنی بر بروز کیست یا عدم تخمک‌گذاری متعاقب عفونت‌های رحمی انتشار یافته است.

کاهش باروری در گاوهای مبتلا به اندومتريت تحت بالینی یا بعد از رفع بیماری‌های رحمی احتمالاً پیامدی از اختلال در مسیرهای اندوکرینی و فیزیولوژیکی می‌باشد که با التهاب رحم مرتبط است (۱۷). اندومتريت بالینی یا تحت بالینی با مهار رهاسازی گنادوتروپین‌ها (GnRH-LH) بر فعالیت تخمدان‌ها (اختلال در فولیکولوژنز و تخمک‌گذاری) در دوره بعد از زایمان تأثیر گذارند (۱۵). عوامل مختلفی که به طور غیرمستقیم

گاوهای شیری میزان اندومتريت که به وسیله سیتولوژی تشخیص داده شده، بعد از اولین تخمک‌گذاری کمتر از زمان قبل از تخمک‌گذاری است (۱۶). با توجه به این مسئله، گاوهایی که زودتر تخمک‌گذاری می‌کنند نسبت به گاوهایی که با تأخیر تخمک‌گذاری می‌کنند التهاب رحمی بعد از زایمان را سریعتر رفع می‌کنند. این امر احتمالاً به دلیل فحلی‌های بیشتری است که رخ می‌دهد و منجر به رفع التهاب می‌گردد. یکی دیگر از دلایل کاهش میزان نوتروفیل‌ها در این تحقیق وقوع فحلی‌های بیشتر به دلیل افزایش فاصله از زایمان تا نمونه‌گیری نسبت به سایر تحقیقات است. البته در بین مطالعاتی که در این زمینه انجام گردیده است توافق اکثر محققین بر کاهش میزان آبستنی و بازده تولید مثلی بوده است.

عواملی که از رفع التهاب تا زمان تلقیح (breeding period) جلوگیری می‌کنند به خوبی مشخص نگردیده‌اند (۵). همچنین اندومتريت تحت بالینی بعد از زایمان ممکن است تا قبل از تلقیح اول رفع گردد و متقابلاً گاهی گاوهای بدون اندومتريت ممکن است که در زمان تلقیح‌های بعدی مجدداً آلوده شوند (۹). در این مطالعه با افزایش فاصله زایمان تا نمونه‌گیری احتمال آبستنی در اولین تلقیح بعد از نمونه‌گیری افزایش می‌یافت که با کاهش میزان نوتروفیل نیز همراه بود. Gilbert و همکاران نشان دادند که اندومتريت تشخیص داده شده از طریق سیتولوژی با افزایش فاصله از زایمان کاهش می‌یابد به طوری که میزان آن دو هفته بعد از زایمان (۱۰۰ درصد)، در هفته چهارم (۸۹ درصد)، هفته ششم (۷۳ درصد) و هفته هشتم بعد از زایمان (۴۱ درصد) بود (۵). همچنین Santos و همکاران میزان اندومتريت تحت بالینی را در گاوهای گوشتی در دو هفته بعد از زایمان (۸۸ درصد)، بین هفته دوم تا هفتم (۷۷ درصد) و بعد از هفته هفتم بعد از زایمان (۱۷ درصد) عنوان کردند (۱۶). عواملی از قبیل دوقلوزایی، سخت‌زایی و جفت ماندگی باعث عفونت رحمی در نتیجه سستی رحمی و اختلال در فعالیت نوتروفیل‌ها می‌گردند (۷). مطالعاتی که بر روی گیرنده‌های سطحی سلول‌ها و تغییرات توانایی عملکردی نوتروفیل‌ها صورت گرفته عنوان می‌کنند که به علت صدمات و ضربات از قبیل سخت‌زایی و جفت ماندگی نوتروفیل‌ها کاملاً فعال نیستند و ویژگی‌های ضد میکروبی آن‌ها کاهش می‌یابد (۸). در این مطالعه گاوهای با مشکلات بعد از زایمان مانند جفت ماندگی، سخت‌زایی و دوقلوزایی درصد نوتروفیل بیشتری نسبت به سایر گاوها که این



کیست است که منجر به بقاء التهاب و تداوم آن می‌گردد.

References

1. Battaglia, D. F., Bowen, J. M., Krasa, H. B., Thrun, L. A., Viguie, C., Karsch, F. J. (1997) Endotoxin inhibits the reproductive neuroendocrine axis while stimulating adrenal steroids: a simultaneous view from hypophyseal portal and peripheral blood. *Endocrinology*, **138**:4273-4281.
2. Bosu, W. T. K., Peter, A. T. (1987) Evidence for a role of intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, **28**:725-736.
3. Dhaliwal, G. S., Murray, R.D., Woldehiwet, Z. (2001) Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Animal Reproduction Science*. **67**:135-152.
4. Garverick, H. A. (1997) Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci*, **80**:995-1004.
5. Gilbert, R. O., Shin, S. T., Guard, C. L., Erb, H. N., Frajblat, M. (2005) Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, **64**:1879-1888.
6. Jeffcoate, I. A., Ayliffe, T. R. (1995) An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment. *Vet Rec*, **136**:406-410.
7. Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., Johnson, W. H. (2004) Endometrial cytology and ultrasonography for detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, **62**:9-23.
8. Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., Johnson, W. H. (2005) A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can Vet*, **46**:255-259.
9. Kaufmann, T. B., Drillich, M., Tenhagen, B. A., Forderung, D., Heuwieser, W. (2006) Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. *Theriogenology*, **71**:385-391.

رها سازی (GnRH-LH) را تحت تأثیر قرار می‌دهند در افزایش خطر تشکیل کیست تخمدانی مورد توجه هستند (۱۹). از جمله این عوامل بیماری‌های رحمی و به ویژه عفونت‌های رحمی هستند (۱۰، ۱۳). مکانیسم اساسی اثرات منفی عفونت‌های رحمی بردستگاه تولیدمثلی به دلیل واکنش‌های التهابی است که رخ می‌دهد (۱۵). تأثیرات بیماری‌های رحمی بر فعالیت تخمدان‌ها، در سطوح تخمدان-هیپوفیز-هیپوتالاموس نشان داده شده اند (۱۷). مطالعات پیشین شواهدی از ارتباط وقوع کیست تخمدانی با عفونت رحمی ارائه کرده اند (۱۳). نتایج ارائه شده نشان می‌دهد که عفونت رحمی قبل از تشکیل کیست وجود دارد که این امر بیانگر یک ارتباط و تأثیر متقابل بین کیست و عفونت است. همچنین ثابت گردیده است که طول دوره عفونت و شدت آن عامل تعیین کننده در شکل‌گیری کیست است (۱۳). مکانیسم دقیقی که عفونت رحمی منجر به تشکیل کیست می‌گردد به خوبی معلوم نگردیده است. میکروارگانیسم‌ها در رحم اندوتوکسین تولید می‌کنند. اندوتوکسین یا تولیدات ناشی از اثرات آن‌ها مثل پروستاگلاندین ترشح کورتیزول را تحریک می‌کنند که باعث مهار غلیان LH و تشکیل کیست می‌گردد (۲). در حمایت از این تئوری، peter و همکاران ثابت کردند که عفونت رحمی در گاوهای کیستی پیش از کیست حضور دارد و E.coli به طور معمول از رحم این گاوها جدا گردید و غلظت متابولیسم پروستاگلاندین (PGFM) و کورتیزول نیز پیش از شکل‌گیری کیست تخمدانی افزایش یافته بود (۱۱). با توجه به مطالب عنوان گردیده در ارتباط با نقش التهاب و عفونت در شکل‌گیری کیست تخمدانی و این که در این بررسی حضور نوتروفیل‌ها بیشتر از (۳٪) در رحم نشان دهنده التهاب تحت بالینی می‌باشد می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً بین التهاب رحمی و شکل‌گیری کیست تخمدانی یک ارتباط سببی برقرار است. در عین حال عنوان گردیده که گاوهای با وضعیت غیرعادی بعد از زایمان (متریت، اندومتریس، جفت ماندگی) دو برابر سایر گاوها دچار کیست می‌گردند. اما این وضعیت‌ها یک ریسک فاکتور برای کیست‌هایی که با تأخیر ایجاد می‌گردند نیستند (۱۲). با توجه به این مطلب و زمان نمونه‌گیری در این مطالعه (به طور متوسط ۹۰ روز بعد از زایمان)، این امکان وجود دارد که کیست‌هایی که در این زمان شکل می‌گیرند به عللی نظیر تغذیه، فصل یا میزان تولید شیر ایجاد می‌گردند و احتمالاً این حضور



10. Kesler, D. J., Garverick, H. A. (1982) Ovarian cysts in dairy cattle: a review. *J Anim Sci*, **55**:1147-1159.
11. LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S. (2002) Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci*, **85**:2223-2236.
12. López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J., Fenech, M., López-Béjar, M. (2002) Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology*, **58**:1623-1632.
13. Peter, A.T., Bosu, W.T.K., Dedecker, R.J. (1989) Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Am J Vet Res*, **50**:368-373.
14. Peter, A.T. (2004) An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod Domest Anim*, **39**:1-7.
15. Peter A.T., Vos P.L.A.M. Ambrose D.J. (2009) Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, **71**:1333-1342.
16. Santos, N.R., Lamb, G.C., Brown, D.R., Gilbert, R.O. (2009) Postpartum endometrial cytology in beef cows. *Theriogenology*, **71**:739-745.
17. Sheldon, I.M., Lewis, G., LeBlanc, S., Gilbert, R. (2006) Defining postpartum uterine disease in dairy cattle. *Theriogenology*, **65**:1516-1530.
18. Sheldon, I.M., Williams, E.J., Miller, A.N.A., Nash, D.M., Herath, S. (2008) Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal*, **176**:115-121.
19. Vanholder, T., Opsomer, G., de Kruif. (2006). Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod. Nutr. Dev*, **46**:105-119.