

BADANIE ROZMAZÓW POCHWOWYCH KRÓW, BARWIONYCH METODĄ PAPANICOLAOU

WŁADYSŁAW GŁÓD

Instytut Zootechniki, Pracownia Fizjologii Rozrodu, Katedra Zoohigieny
WSR — Kraków
Kierownik: prof. dr Władysław Bielański

Zastosowanie cytodiagnozy rozmazów pochwowych znane jest od przeszło 60 lat.

Dokładniejsze badania na ten temat przeprowadzili Papanicolaou i Stockard w 1917 r. na świnkach morskich. Na krowach pierwsze badania przeprowadzili Murphey (1924), Frei i Metzger (1926) oraz Hansel, Asdell i Roberts (1949). Autorzy ci opisywali zmiany jakie zachodzą w rozmazach pochwowych u krowy w czasie cyklu płciowego.

Celem niniejszej pracy było stwierdzenie czy na podstawie rozmazów pochwowych można oznaczyć czas owulacji u krów oraz wykazanie jakie zmiany zachodzą w nabłonku pochwy w czasie cyklu płciowego, kontrolowanego klinicznie.

MATERIAŁ I METODYKA DOŚWIADCZENIA

Badania przeprowadzono w oborach ZZD Instytutu Zootechniki w Czechnicy, Kołudzie Wielkiej i Lipowej, w okresie od września 1955 r. do października 1956 r. na krowach klinicznie zdrowych w wieku od trzech do 10 lat, u których cykle płciowe przebiegały prawidłowo.

Ogółem przebadano 22 cykle płciowe u 11 krów rasy nizinnej oraz 17 cykli u 7 krów rasy czerwonej polskiej.

Oprócz cytologicznych badań rozmazów każdorazowo kontrolowano przez prostnicę stan jajników.

Rozmazy pochwowe pobierano w przerwach międzyruiowych co drugi dzień. Trzy dni przed rozpoczęciem rui i trzy dni po zakończeniu zewnętrznych objawów pobierano je co 24 godz., zaś w okresie samej rui — co 12 godzin.

Rozmazy pobierano przy użyciu wziernika pod kontrolą oka przy pomocy pipety szklanej w sposób następujący: pipetą szklaną zakończoną na drugim końcu balonikiem gumowym aspirowano treść znajdującą się na błonie śluzowej na tylnym sklepieniu pochwy. Po pobraniu materiał rozprowadzano na szkiełku przedmiotowym i następnie utrwalano i barwiono metodą Papanicolaou.

Zasadą tej metody jest barwienie trójbarwne. Wyraźne wybarwienie jądra otrzymuje się przez barwienie hematoksyliną Harrisa. Kontrastowe barwienie cytoplazmy otrzymuje się barwieniem oranżem G, oraz alkoholowym roztworem eozyny żółtej i zieleni jasnej.

Po zabarwieniu preparat zamykano w balsamie kanadyjskim. Za podstawę do oceny rozmazów przyjęto następujące kryteria:

- 1) stosunek ilościowy komórek zasadochłonnych do kwasochłonnych,
- 2) kształt komórek,
- 3) pyknozę jąder,
- 4) występowanie w rozmazach leukocytów.

WYNIKI DOŚWIADCZENIA

W rozmazach pochwowych pobieranych przez cały czas cyklu płciowego wyróżniono następujące elementy komórkowe:

1) komórki zasadochłonne o jądrach wybarwionych na niebiesko z wyraźną ziarnistością chromatyny, cytoplazma tych komórek wybarwia się blado niebiesko,

2) komórki kwasochłonne o cytoplazmie wybarwionej na różowo, jądra tych komórek są mniejsze jakby nieco zamazane,

3) komórki kwasochłonne o plazmie barwiącej się na pomarańczono, przechodzące w kolor żółty, posiadające jądra pyknotyczne, czasem mało widoczne,

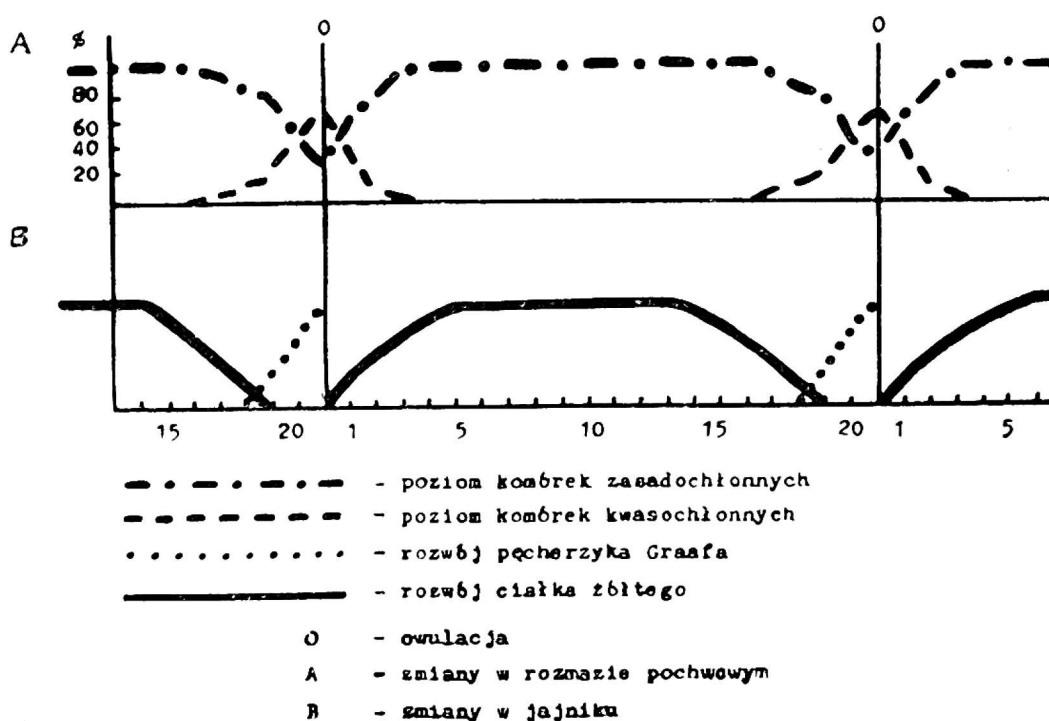
4) komórki cylindryczne barwiące się na niebiesko o dużym jądrze położonym ekscentrycznie,

5) oprócz komórek nabłonka w rozmazach spotyka się leukocyty z jądrem dobrze wybarwionym na ciemno niebiesko z blado niebieską plazmą.

Na podstawie przebadanego materiału stwierdzono:

W okresie gdy w jajniku znajduje się ciało żółte w rozmazach pojawiają się komórki zasadochłonne. Gdy ciało żółte zaczyna zanikać, co ma miejsce na 72 godz. przed wystąpieniem zewnętrznych objawów rui, w rozmazach zaczynają pojawiać się komórki kwasochłonne. (Wykres 1). Początkowo pojawiają się one pojedynczo, stopniowo ilość ich wzrasta i w okresie rozpoczęcia rui ilość ich dochodzi do 50% ogólnej ilości komórek w rozmazie. Najwyższy poziom komórek kwasochłonnych zbiega

się z okresem wystąpienia owulacji i wynosi średnio 67%. Owulacja każdorazowo została stwierdzona przez palpację jajników. Oprócz komórek kwasochłonnych o płazmie wybarwionej na różowo w czasie rui pojawiają się pojedyncze komórki wybarwione na pomarańczowo, niekiedy pozawijane na brzegach z jądrem wyraźnie pyknotycznym.



Wykres 1

Po owulacji komórki kwasochłonne zaczynają stopniowo zanikać. W 24 godz. po owulacji występują one jeszcze w ilości do 40%. W 48 godz. po owulacji już tylko w około 10%, w trzecim dniu pojawiają się komórki kwasochłonne pojedynczo i w następnych dniach obserwujemy tylko komórki zasadochłonne.

Komórki cylindryczne pojawiają się pojedynczo przez cały czas cyklu i pochodzą przypuszczalnie z szyjki macicy.

Leukocyty w rozmazach obserwowano w zmiennej ilości i na podstawie przebadanego materiału można wnioskować, że największa ilość leukocytów występuje w trzecim dniu po owulacji. Ta duża ilość leukocytów utrzymuje się do dziesiątego dnia, po owulacji w późniejszym okresie leukocyty pojawiają się w rozmazach już tylko pojedynczo.

WNIOSKI

1. Na podstawie oceny rozmazów pochwoowych można w przybliżeniu wnioskować o czasie owulacji, gdyż czas owulacji zbiega się z najwyższym poziomem komórek kwasochłonnych w rozmazach, nie można jednak na tej podstawie dokładnie określić czasu owulacji.

2. Ocena rozmazów pochwowych barwionych metodą Papanicolaou pozwala na określenie stanów czynnościowych jajników krowy dzięki wpływowi hormonów przez nie wydzielanych na błonę śluzową pochwy.

INVESTIGATIONS OF VAGINAL SMEARS OF COWS STAINED BY THE METHOD OF PAPANICOLAOU

Conclusions

1. On the basis of vaginal smears, it is possible to approximately estimate the time of ovulation, as this time coincides with the highest level of acid absorbing cells in the smears. On this basis, however, it is not possible to definitely determine the time of ovulation.

2. Estimation of vaginal smears stained by means of the Papanicolaou method allows for a determination of the functional state of ovaries in cows due to the influence of hormones secreted on to the mucous membrane of the vagina.