



*Sveriges lantbruksuniversitet*  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper

# En histologisk jämförelse av kärlförsörjning i friskt och cystiskt förändrat endometrium hos tik

Johanna Appelgren

*Uppsala*

*2013*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2013:2*



En histologisk jämförelse av  
kärlförsörjning i friskt och  
cystiskt förändrat endometrium hos tik

A histological comparison of  
the vascularisation of healthy and  
cystically altered canine endometrium

Johanna Appelgren

*Handledare: Bodil Ström Holst, Institutionen för kliniska vetenskaper*

*Biträdande handledare: Elisabeth Persson, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi*

*Examinator: Ragnvi Hagman, Institutionen för kliniska vetenskaper*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2013  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper  
Kurskod: EX0736, Nivå A2E, 30hp*

*Nyckelord: Hund, Reproduktion, CEH, Pyometra, Kärl, Vaskularisering, Livmoderslemhinna, Histologi  
Key words: Dog, Bitch, Reproduction, CEH, Pyometra, Uterus, Vessels, Histology*

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>  
ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2013:2*



# INNEHÅLL

SAMMANFATTNING .....	1
SUMMARY .....	2
INLEDNING .....	3
BAKGRUND .....	3
Normal löpningscykel hos tik och livmoderns histologi .....	3
Proöstrus .....	5
Östrus .....	5
Diöstrus .....	6
Anöstrus .....	6
Endometriets proliferationsfaser .....	6
Sekretproduktion under olika stadier av löpningscykeln .....	7
Sjukliga förändringar i livmodern hos tik - histopatologi .....	7
Histopatologisk indelning enligt Dow .....	8
Histopatologisk indelning enligt De Bosschere .....	10
PEH - ytterligare en klass av uteruspatologi? .....	11
Sjukliga förändringar i livmodern hos tik - patogenes .....	11
Hormoner .....	11
Bakterier .....	13
Predisponerande faktorer .....	13
Olika käriltyper och dess uppbyggnad .....	14
Artärer .....	14
Kapillärer .....	15
Vener .....	15
Livmoderns vaskularisering .....	15
Vaskularisering vid patologiska förändringar .....	16
HYPOTES .....	17
MATERIAL OCH METODER .....	17
Materialinsamling .....	17
Analys av insamlat material .....	18
Statistik .....	19
RESULTAT .....	20
Kärl i bindväven i preparat utan patologiska förändringar .....	20
Kärl i bindväven i preparat med patologiska förändringar .....	22
Statistiska beräkningar .....	23
DISKUSSION .....	24
Felkällor och förändringsförslag till vidare studier .....	26
REFERENSER .....	28



## SAMMANFATTNING

*Cystisk endometriehyperplasi (CEH)*, är en mycket vanligt förekommande patologisk förändring hos framför allt äldre tika, som innebär att körtelgångar i livmoderslemhinnan fokalt dilateras och fylls med sekret så att cystor bildas. Dessa cystor kan bli uppemot en centimeter i diameter, ibland större, och anses uppkomma under diöstrusfasen av löpningssyckeln. Drabbade tika är ofta symptomlösa men de kan uppvisa nedsatt allmäntillstånd, flytning och oförmåga att bli dräktiga. De har även en ökad risk att utveckla allvarligare uteruspatologier såsom varbildande livmoderinflammation (pyometra). I denna studie har vi försökt bidra till kartläggningen av vad som händer i endometriet under utvecklingen av cystiska förändringar.

Det finns olika sätt att histologiskt klassificera uteruspatologier. Dow föreslog 1957 en fyrgradig indelning, där *grupp I* innebär CEH, *grupp II* innebär CEH med inflammatoriskt cellinfiltrat och *grupp III & IV* inkluderar olika typer av varbildande livmoderinflammation.

Trots att CEH är en vanlig patologisk förändring hos tika, och trots att konsekvenserna kan bli allvarliga, är patogenesen ännu inte helt utredd. Det är känt att tika som inte har valpat är predisponerade, att det finns en genetisk komponent, samt att framför allt äldre tika under diöstrusfasen drabbas. Varför vissa körtelgångar omvandlas till cystor står dock obesvarat.

Syftet med detta arbete var att studera graden av vaskularisering i normalt endometrium jämfört med i cystiskt förändrat endometrium utan inflammation (Dow grupp I). Hypotesen var att det finns fler kapillärer i normalt endometrium än i cystiskt förändrat endometrium.

Patologiskt förändrad uterusvävnad från fem tika samt normal uterusvävnad från fem tika i diöstrus undersöktes histologiskt avseende förekomst av olika stora kärl. *Små kärl* innebar att två eller färre endotelkärnor var synliga vid tvärsnittat kärl och *stora kärl* innebar tre eller fler synliga kärnor. I tvärsnittspreparat från dessa livmödrar räknades kärlförekomsten i det endometriella stromat i representativt fördelade synfält motsvarande 20-34 % av den endometriella snittytan i de tio preparaten.

Det fanns ett signifikant större antal små kärl i de normala preparaten jämfört med de cystiskt förändrade ( $p=0,0367$ ). Ingen signifikant skillnad förelåg i förekomsten av stora kärl hos de olika grupperna. De små kärlen återfanns framför allt i nära anslutning till körtelgångar, där kapillärer förekom i ansenlig mängd i preparaten från friskt endometrium. Runt de dilaterade körtelgångarna i preparaten med cystiska förändringar var kapillärförekomsten synbart lägre.

En spekulering angående cystornas patogenes som kan göras utifrån detta resultat är att sämre blodförsörjning kring körtelgångar skulle kunna leda till att sekretet inuti körtelgångarna får ökad viskositet, som leder till fokala utvidgningar av körtelgångarna genom obstruktion. Detta skulle överensstämja med att cystorna anses uppkomma i diöstrus när sekretionen påtagligt minskar. Det skulle även vara förenligt med dräktighet som skyddande faktor då den medför ett bättre utvecklat kärlnät i livmodern vilket till viss del kvarstår också efter dräktigheten.

## SUMMARY

*Cystic endometrial hyperplasia (CEH)*, is a very common pathological alteration in the uterus of the adult bitch. In CEH, glandular tubules in the endometrium are focally dilated and filled with glandular secretion so that cysts are formed. These cysts have a diameter of up to one centimeter, occasionally larger, and are thought to arise during the dioestral phase of the oestrous cycle. Affected bitches are often asymptomatic but may present with a mildly reduced general condition, vulvular discharge and infertility. They also have an increased risk of developing more severe lesions of the uterus such as pyometra. In the present survey, we have tried to contribute to a better understanding of the development of endometrial cysts.

There are various ways to classify uterine pathologies histologically. In 1957, Dow suggested a four-point division, where *group I* means CEH, *group II* consists of CEH with inflammatory cellular infiltrates and *group III & IV* includes different types of pyometra.

Although CEH is a frequently seen pathological alteration in the bitch, and although the consequences may be severe, the pathogenesis is not yet completely understood. It is known that nulliparous bitches are predisposed, that there are some genetic components, and that especially elderly bitches are affected during the dioestral phase. However, why segments of the glandular ducts are converted into cysts still remains unanswered.

The purpose of this study was to quantify the vascularization in normal endometrium compared with cystically altered endometrium without inflammation (Dow group I). The hypothesis was that there are more capillaries in the normal endometrium than in cystically altered endometrium.

Uterine tissue from five bitches with CEH and from five healthy bitches in dioestrus was examined histologically for presence of vessels of different size. *Small* vessels meant that two or fewer endothelial cell nuclei were visible in cross section, while *large* vessels had three or more visible nuclei. Evenly distributed areas corresponding to 20-34 % of the area were analysed for vessel density in the ten transversely sectioned samples of the endometrium.

A significantly larger number of small vessels were found in normal uterine tissue compared with cystically altered tissue ( $p = 0.0367$ ). No significant difference was found between the large vessel density of the normal and the CEH tissue samples. The small vessels were found particularly in close proximity to glandular ducts, especially in the samples from healthy endometrium. Around the dilated glandular ducts in samples with cystic alterations, the vessel density was visibly lower.

One speculation regarding the pathogenesis of the cysts that can be made from these results is that lower blood supply around the glands could lead to increased viscosity of the fluid inside the glandular ducts and thus be the cause of the focal enlargements of these, by obstruction. This would be consistent with the assumption that the cysts are considered to arise in dioestrus when the glandular secretory activity of the bitch apparently decreases. It would also be consistent with pregnancy being a protective factor, giving rise to a more developed uterine vascularisation that to some extent remains also after the pregnancy.



## INLEDNING

"It's the little details that are vital. Little things make big things happen." – John Wooden

Aldrig är väl detta påstående så sant som inom histologins värld! De celler och strukturer som kan ses i mikroskopet bygger tillsammans upp hela vävnader, organ och organismer. Genom att studera histologiskt hur celler skiljer sig från varandra och hur de förändras under ett biologiskt förlopp kan mycket information och förståelse vinnas om fysiologi och patologi.

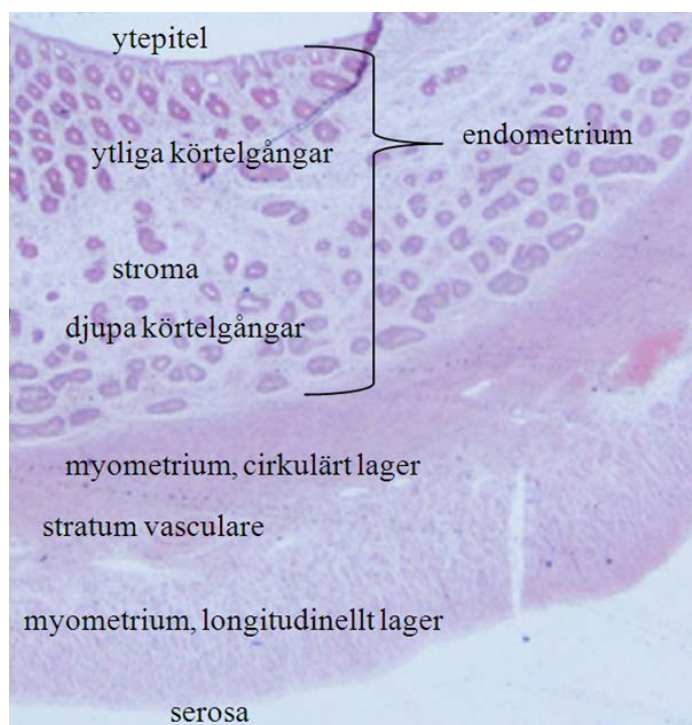
I denna studie har kärl i livmodersslemhinnan studerats och kvantifierats. Detta gjordes då preliminära observationer indikerade att kapillärernas placering och antal verkade skilja sig mellan friskt och cystiskt förändrat endometrium. I friskt endometrium tycktes de i hög utsträckning ligga nära körtlar. Det verkade även finnas ett större *antal* kapillärer i friskt endometrium.

Syftet med studien blev därför att studera graden av vaskularisering i normalt endometrium jämfört med i cystiskt förändrat endometrium utan inflammation. Kan en försämrad blodförsörjning till livmodersslemhinnans körtelgångar vara en del i patogenesen bakom cystisk endometriehyperplasi?

## BAKGRUND

### Normal löpningscykel hos tik och livmoderns histologi

Livmodern är ett tubulärt parigt organ bestående av två horn, *cornua*, och en kropp, *corpus*. Centralt finns en lumen. Livmoderväggen består av olika vävnadslager med olika funktion (se figur 1). Yttersta skiktet hos livmodern kallas i bäckenhålan för *adventitia*, och består endast av bindväv. Yttersta skiktet hos livmodern kallas i bukhålan för *perimetrium* och är försett med ett utvändigt mesotellager, d.v.s. peritoneum.



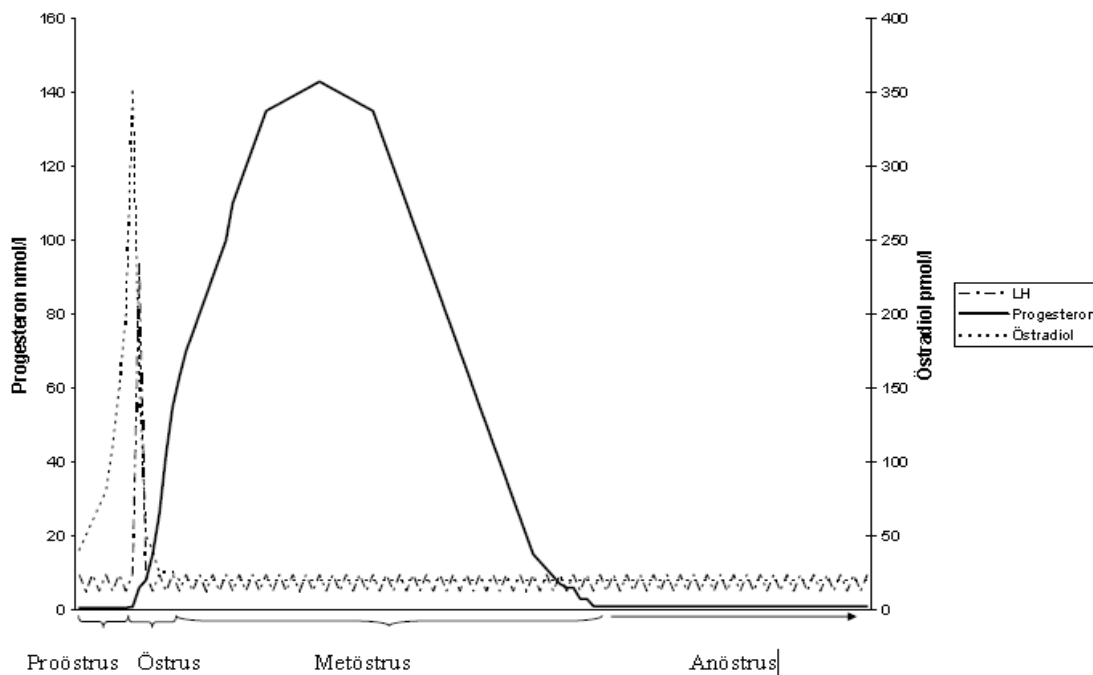
Figur 1. Normal histologi hos tvärsnittad livmodervägg från tik.

Innanför bindväven finns muskellagret, *myometrium*. Detta är uppbyggt av ett tunt yttre lager med longitudinell muskelriktning och ett kraftigare inre lager med cirkulär riktning på muskelfibrerna (Mulligan, 1942). Däremellan finns ett lager med större kärl, *stratum vasculare*.

Luminalt om myometriet finns en livmoderslemhinna, *endometrium*. Denna är uppbyggd av ett vävnadslager som består av bindväv, *stroma*, gensatt av långa tubulära körtelgångar som sträcker sig genom hela endometriet. Histologiskt ses en tydlig skillnad mellan de *ytliga* och *djupa körtellagren* där de ytliga delarna är rakare och de djupa delarna av körtelgångarna är mer vindlande. Längst lumbalt finns ett ytepitel, som under vissa stadier i löpningscykeln är mycket lågt cylinderepitel och i andra stadier pseudostratifierat epitel. Ytepitelets celler är övervägande *cilierade*, till skillnad från körtelgångsepitelet där de flesta celler har en *sekretorisk* funktion. Utseendet och funktionen hos endometriet ändras under löpningscykelns olika stadier.

Tikens löpncykel kan delas in i fyra på varandra följande stadier; proöstrus (förlöpsperioden), östrus (löpningen), diöstrus (efterlöpsperioden) och anöstrus (viloperioden). Förloppet styrs av könshormoner (se figur 2), och durationen av de olika stadierna varierar mycket mellan olika raser och individer. Cyklusstadium hos en tik kan avgöras med hjälp av tikens beteende, vaginalcytologi och progesteronkoncentrationer i serum.

Den cykliska aktiviteten tar sin början när tiken är mellan 6 och 20 månader gammal (Noakes *et al.*, 2001). Tiden för en cykel kan variera mellan 3,5 och 13 månader, men för de flesta tikan är durationen mellan 5 och 11 månader (Feldman & Nelson, 2004).



Figur 2. Hormonernas samspel under löpningscykelns faser hos tik (Axné, 2010, publicerad med tillstånd).

## **Proöstrus**

När folliklarna i tikens äggstockar uppnår en viss grad av mognad börjar de producera östrogen (Feldman & Nelson, 2004). Efter två till tre dagar av ökande östrogennivåer börjar tiken att uppvisa tecken såsom ödem i vulva och vagina och blodflytning. Både tiken och omgivande hanar uppvisar förändrat beteende, men tiken tillåter inte parning (Concannon, 2011). Denna fas varar från att blodflytningen börjat tills att tiken accepterar parning, vilket i genomsnitt är nio dagar. Vaginalcytologi visar en heterogen cellbild med parabasalceller, intermediärceller och superficialceller i varierande proportion, samt erythrocyter.

När östrogenkoncentrationen stiger, ökar även livmoderslemhinnan i volym och vikt (Barrau *et al.*, 1975). Körtelgångarna växer genom att körtelepitelet prolifererar, samtidigt som dessa epitelceller hypertrofierar och differentierar till fullt utvecklade sekretoriska celler. Höjden på epitelet förändras från att ha varit mycket lågt cylinderepitel till att bli ett högt sådant. De endometriella blodkärlen ökar i diameter och mitosaktiviteten i ytepitelet ökar (Galabova, 2003). I det endometriella stromat ses ödem och hyperemi (Mulligan, 1942). Blodflytningen uppkommer då röda blodkroppar läcker ut från endometriella *venulae* som under proöstrus ej har intakt basallamina (Walter *et al.*, 2011). Kapillärerna är dock intakta.

## **Östrus**

Östrus definieras som den tid då tiken accepterar parning, vilket vanligen är under cirka fem till nio dagars tid, men stora variationer förekommer (Feldman & Nelson, 2004). Blodflytningarna avklingar, tiken flaggar med svansen och uppvisar ståreflex. Vulva mjuknar och blir slapp och veckad, med halmfärgad till rosa flytning. Vaginalcytologiskt ses en homogen cellbild med 98-100 % superficialceller (Concannon, 2011).

En till två dagar före östrus börjar östrogennivåerna att sjunka kraftigt (Feldman & Nelson, 2004). Östrus börjar med att hormonet LH, *luteiniserande hormon*, utsöndras i stora mängder under en mycket kort tid. Detta sänder signaler till folliklarna om ovulation, vilken inträffar 24-72 timmar senare. Redan innan LH-toppen inträffar börjar folliklarna att luteiniseras och producera progesteron. Detta sker genom en ändring i enzymaktiviteten i granulosa-cellerna vilket gör att mindre östrogen och mer progesteron produceras (Concannon, 2011). Halterna av detta hormon fortsätter sedan att stiga under en till tre veckor. Detta är mycket användbart kliniskt, då progesteronkoncentrationen i serum kan ge vägledning om optimal parningsdag. Vid ovulationen har progesteronkoncentrationerna nått en nivå på 12-24 nmol/l.

Under de sista dagarna av proöstrus samt första dagarna av östrus avstannar endometriets tillväxt (Barrau *et al.*, 1975). Halvvägs in i östrus ökar den dock på nytt, med dramatisk tillväxt i alla lager. Det djupa körtellagret blir dock, relativt sett, ännu tjockare och de tubulära gångarna blir mer ringlande. Epitelhöjden ökar också, från cylinderepitel till pseudostratifierat epitel (Mulligan, 1942). Många mitoser kan ses i både ytepitel och körtelepitel. Ödemet i bindväven ersätts av bindvävsmatrix och förtjockas ytterligare. Hyperemi kan inte längre ses, men vaskulariseringen ökar (Feldman & Nelson, 2004).

## **Diöstrus**

Diöstrus är en 50-80 dagar lång progesterondominerad fas som börjar vid den tid då tiken inte längre är parningsvillig (Concannon, 2011). Andelen superficialceller i ett vaginalutstryk sjunker fort och ersätts av intermediärceller och leukocyter. Progesteronproduktionen är hög cirka två veckor in i diöstrus, därefter ses en nedgång. Diöstrus är slut när gulkropparna har tillbakabildats till den grad att progesteronet återigen har sjunkit till basalnivåer. Cervix sluts, varpå producerat sekret hålls kvar i livmodern och flytningarna avtar. Vissa tikar blir skendräktiga vilket visar sig genom juvertillväxt och beteendeförändringar.

Så länge progesteronet ökar fortsätter även livmoderns tillväxt för att förbereda för fostrens försörjning (Feldman & Nelson, 2004). Livmodern har som störst volym omkring två veckor efter diöstrus början, då också progesteronkoncentrationerna är maximala. Körtelgångarna prolifererar under början av diöstrus och utvecklar även förgreningar (Barrau *et al.*, 1975). De djupa körtelgångarna blir ännu mer ringlande och veckar sig i endometriet.

Cirka två veckor in i diöstrus påbörjas endometriets nedbrytningsfas (Barrau *et al.*, 1975). Stromat bryts ned och endometriet blir tunnare. Epitelcellerna i ytepitelet samt i körtelgångarna krymper ganska snabbt till normal storlek för anöstrus, men det tar längre tid för körtelgångarnas längd att återställas. Cellerna i ytepitelet, och i kryptorna närmast detta, ackumulerar lipiddroppar, vilket är ett tecken på degeneration. Kärnorna är apikalt placerade. Dessa celler stöts sedan av och ersätts av nytt epitel från körtelgångarna (Mulligan, 1942).

## **Anöstrus**

Anöstrus är löpningscykelns längsta fas som hos de flesta tikar varar cirka 80 till 240 dagar (Concannon, 2011). Diöstrus går över i anöstrus när progesteronnivåerna åter är basala. Detta är livmoderns vilofas under vilken endometriet kan repareras. Sparsamt med parabasalceller och enstaka neutrofiler syns vid vaginalcytologi. Endometriet är tunt och inaktivt. Epitelet är åter ett lågt cylinderepitel och körtelgångarna är rakare, kortare och har en mindre diameter (Barrau *et al.*, 1975). Epitelcellerna har låg differentieringsgrad.

## **Endometriets proliferationsfaser**

År 2004 gjorde van Cruchten *et al.* en studie där infästning av proliferationsmarkören Ki-67 kvantifierades samt antalet mitoser räknades i de olika strukturerna i tikens endometrium. I likhet med Barrau *et al.* (1975) identifierade de två proliferationsfaser 1) från proöstrus början till proöstrus slut, och 2) halvvägs in i östrus till omkring två veckor in i diöstrus. De såg dock att det förelåg skillnader i vilka strukturer som prolifererade mest under olika stadier. I ytepitel, stroma, blodkärl samt ytliga körtelgångar uppmättes högst proliferation under första tillväxtfasen. Dessa strukturers tillväxt uppvisade korrelation med ökande östrogenkoncentrationer i blodet. De djupa körtlarna uppvisade högst proliferation under den andra tillväxtfasen och tillväxten korrelerade med ökande progesteronkoncentrationer. Proliferationen hos olika strukturer i endometriet antas således vara styrd av olika hormoner. Östrogen och progesteron verkar på de olika strukturerna i endometriet via östrogenreceptorer (ER) och progesteronreceptorer (PR). Dessa har hos tik visats uppregleras av höga östrogenkoncentrationer och nedregleras av höga progesteronkoncentrationer (Lessey *et al.*, 1981).

## **Sekretproduktion under olika stadier av löpningscykeln**

I körtelgångarna produceras livmoderssekret som skiljer sig i sammansättning och viskositet under de olika stadierna i brunstcykeln. Sekretet hos däggdjur består av olika aminosyror, oorganiska joner och energisubstrat såsom glukos, laktat och pyruvat (Leese *et al.*, 2008). Sekretet är mycket kaliumrikt. Hos hund har även glykogen och mucin, ett s.k. *slemämne*, påvisats (Fitch, 1963; Ishiguro *et al.*, 2007).

Under anöstrus är endometriet vilande och minimalt med sekret produceras. I slutet av anöstrus när östrogenkoncentrationen i blodet börjar stiga, börjar körtelepitelet differentieras och bildar sekret (Barrau *et al.*, 1975). I början av proöstrus ökar sekretproduktionen och cellerna i epitelet blir vakuoliserade och positiva för PAS (Periodic Acid Schiff), som färgar glykogen och andra polysackarider inklusive slemämnen. Precis innan östrus tar vid minskar vakuoliseringen och vävnaden färgar in mindre för PAS, samtidigt som lumen fylls med PAS-positivt material. Detta kan indikera att vakuolerna med polysackarider/slemämnen tömmer sig ut i lumen precis innan tiken börjar acceptera parning. Körtelepitelet prolifererar inte nämnvärt i andra halvan av proöstrus eller under första halvan av östrus.

I mitten av östrus påbörjas dock en ännu kraftigare tillväxt, framför allt av de djupa körtlarna, då östrogendominansen övergår i progesterondominans. I de djupa körtlarna produceras stora mängder glykogen under första veckan i diöstrus, och Fitch publicerade 1963 en observation av ”pluggar” i körtellumen av diastas-resistent material, d.v.s. glykogen som inte kan brytas ner av enzymet diastas. I detta stadium kallas livmodersekreteret för *histotrof* eller *livmodermjolk* då det ska näringsförsörja embryon innan implantation har ägt rum (Roberts & Bazer, 1988). Detta sekret är rikt på bland annat aminosyror (Leese *et al.*, 2008).

Cirka två veckor in i diöstrus krymper körtelgångarna påtagligt, det sekretoriska epitelet får ett inaktivt utseende och hela endometriet dehydreras (Fitch, 1963; Barrau, 1975). Ishiguro *et al.* (2007) visade också att genuttrycket av mucin (ett s.k. slemämne) i endometriet hos tik minskade runt dag 10 i diöstrus. Denna dehydrering antas ske för att minska lumen och tillåta en bättre kontakt med livmoderväggen för eventuella blastocyster (Salleh *et al.*, 2005).

## **Sjukliga förändringar i livmodern hos tik - histopatologi**

År 1957, 1958 och 1959 publicerade den då blott 28-årige doktoranden Charles Dow, University of Glasgow, tre omfattande studier av patologiska förändringar som kan uppstå i hundens livmoder. Studierna, som innefattade 172 tikar, genererade svar på många tidigare obesvarade frågor rörande riskfaktorer, agens samt histologiska data. Han presenterade även en indelning av de histopatologiska förändringarna i fyra grupper, som alltsedan dess har använts av patologer, forskare och kliniker. Alla tikar i studien inom grupp II-IV var kliniska fall, medan allt material i grupp I var hämtat från *post mortem*-undersökningar av 400 tikar.

Han visade att uteruspatologier är vanligast i diöstrus, hos medelålders till äldre tikar som inte har valpat (Dow, 1957, 1958, 1959). Han lyckades även framkalla cystisk endometriehyperplasi (CEH) genom lång behandling med exogent progesteron. I sin artikelserie introducerade han också termen *cystic hyperplasia-pyometra complex*, då han menade att pyometra är en följd av cystisk endometriehyperplasi, CEH.

## **Histopatologisk indelning enligt Dow**

### *Grupp I: Cystisk endometriehyperplasi (CEH)*

Den lindrigaste formen av förändring är cystisk hyperplasi av körtelgångarna i endometriet (Dow, 1957, 1958, 1959). Cystor i endometriet uppkommer när körtelgångar fokalt utvidgas under diöstrus. Makroskopiskt ses en stor, ibland veckad, livmoder med multipla tunnväggiga cystor. Glandulära cystor av upp till en (ibland två) centimeters storlek bekläder invändigt endometriets yta. De är oftast jämnt utspridda i livmodern, men enligt Dow ibland mer framträdande kranialt i hornen och mindre framträdande i corpus.

Histologiskt ses en ökning av antalet körtlar, både i de ytliga och djupa delarna av endometriet. Dock har den normala morfologiska strukturen där man kan se skillnad på ytliga och djupa körtlar ofta gått förlorad. Normala körtlar ligger i direkt närhet till dilaterade och cystiska. I vissa fall kan man dock se en viss organisation i cystformationerna; ett tätt lager av små cystor närmast myometriet och ett ytligt lager med stora cystor, separerade av ett nästan körtelfritt mittlager av bindväv. Stromat prolifererar oftast inte (lågt mitosindex), utan blir ihoptryckt av cystorna, vilket ger en högre cellkärnedensitet. Hos tikar i grupp I finns inga tecken på inflammation i livmodern och cellinfiltrat saknas.

I *ytepitelet* hos en tik med CEH ses inga patologiska förändringar vare sig under anöstrus eller under proöstrus. I början av diöstrus är dock den normala proliferationen i epitelet förstärkt; cellerna blir ännu fler och ännu högre än vanligt. I friskt endometrium påbörjas en tillbakabildning av ytepitelet under tredje veckan i diöstrus; hos djur med CEH är detta dock mindre markant. Ytepitelet hos tikar med CEH går alltså i regression senare i cykeln än det hos normala tikar och vissa cellområden fortsätter att proliferera ut i lumen i så kallade ”*tuft-like projections*”.

Hos normala tikar degenererar ytepitelet och cellerna fylls av lipiddroppar. Dessa celler stöts sedan ut i lumen. Hos tikar i grupp I degenererar epitelceller även djupare ned i körtelgångarna, med de karaktäristiska fettdropparna även i körtelepitelet.

Invändigt är cystorna beklädda av ett kubiskt epitel, även under tidiga stadier av diöstrus, då epitelcellerna i körtelgångarna har sekretion som främsta uppgift och på grund av detta vanligen är ett högt cylinderepitel.

Dow återfann CEH hos tikar från alla olika stadier i löpcykeln men konstaterade att förändringen verkar uppkomma under diöstrus. Tikarna med CEH var fria från hematologiska avvikelser och kliniska sjukdomssymptom, utom en lindrig mukös flytning hos enstaka tikar i diöstrus. Medelåldern hos tikar med CEH var i studien  $8,1 \pm 3,1$  år, och inte en enda tik under tre års ålder med CEH påträffades (Dow, 1958). 16 % av de tikar som aldrig valpat hade cystiska förändringar i endometriet, jämfört med 7,5 % av de tikar som tidigare haft valpar. *E. coli* isolerades i 9 av 53 fall, i övriga hittades inga bakterier.

### *Grupp II: Cystisk endometriehyperplasi med plasmacellsinfiltrat*

När uteruspatologin hos en tik har aggraverat till stadium två finns i endometriet, förutom cystiska förändringar, även ett inflammationssvar (Dow, 1957, 1958, 1959). Makroskopiskt ses en hypertrofierad livmodervägg med ett förtjockat gråaktigt endometrium. Livmodern är dock ofta mindre än 3 cm i diameter. I lumen finns ibland små mängder mukös vätska, varifrån *E. coli* kan odlas fram i en majoritet av fallen.

Histologiskt ses glandulära cystor och, i omgivande bindväv, ett infiltrat av plasmaceller och ibland även lymfocyter. Dessa celler finns i hela stromat men förekomsten är störst i det ytligare skiktet av endometriet. Ytepitelet är av övervägande sekretorisk karaktär och prolifererar till flerskiktat; i vissa fall finns fokalt upp till 10 cellager. Cystorna bekläds av ett kubiskt eller lågt cylindriskt epitel. Cystorna närmast myometriet tenderar att vara mindre. I cystornas lumen ses muköst sekret men inga celler. I djupare delar av endometriet ses ibland ödem, samt ökad vaskularisering jämfört med grupp I.

I Dows studie från 1958 var medelåldern hos djur i denna grupp  $7,6 \pm 2,2$  år och samtliga djur befann sig mellan 35 och 70 dagar efter löpningen. Endast 5 av 22 tikar hade valpat tidigare. Vanliga symptom var mukös flytning och ödem i vulva. I sällsynta fall sågs även anorexi och nedsatt allmäntillstånd. Hematologiskt sågs ofta en mild leukocytos.

### *Grupp III: Akut endometrit*

Hos tikar i grupp III ses en akut inflammationsreaktion där neutrofiler dominerar cellbilden (Dow, 1957, 1958, 1959). Endometriet är cystiskt förändrat i varierande grad.

Makroskopiskt ses en måttligt till kraftigt förstörd livmoder som ibland är jämntjock men oftast har ett antal förträngningar med partier av utspänd vägg mellan dessa, liknande dräktighet. Livmoderns storlek står i omvänd proportion till hur öppen cervix är. I lumen finns vätska som kan vara gul, grön eller rödbrun, där odling i de allra flesta fall påvisar *E. coli*, i andra fall stafylokocker eller streptokocker. Kärnen i *stratum vasculare* är utspända och vindlande.

Histologiskt ses CEH med neutrofilinfiltrat i bindväven framför allt runt de ytliga körtelgångarna. I fall av kraftig grupp-III-förändring ses även neutrofiler i djupare lager av endometriet samt ned i myometriet. I endometriet finns fokala blödningar och ulcerationer. Ibland ses abscesser i endometriets djupare delar. I hela livmoderslemhinnan ses ofta ett inflammationsorsakat ödem och ökad vaskularisering. Runt kärnen finns manschetter av neutrofiler och plasmaceller. I körtelgångar och i lumen finns ett stort antal neutrofiler.

I denna grupp var tikarna i snitt  $8,3 \pm 2,3$  år gamla (Dow, 1958). De hade alla avslutat löpningen för mellan 5 och 85 dagar sedan. 61 av 76 tikar hade aldrig valpat. Även i denna grupp sågs ödem i vulva, flytningar och anorexi, men även allvarigare symptom såsom polydipsi, kräkningar och feber. Leukocytos med neutrofilier var vanligt.

#### Grupp IV: Kronisk endometrit

Dessa tikar delade Dow in i två subgrupper beroende på om cervix var öppen eller stängd, då tydliga histopatologiska skillnader i uterusväggen förelåg (Dow, 1957, 1958, 1959). I båda fallen finns ibland ett fåtal cystor i endometriet.

Hos tikar med öppen cervix är livmoderhornen sällan över 3 cm i diameter. Livmoderväggen är förtjockad med myometriehypertrofi och fibros, och i lumen finns lindrigt med pus. Endometriet är atrofierat med få körtlar och i bindväven finns lymfocyter och enstaka plasmaceller. Kliniskt ses flytningar, mild neutrofil och lindrig inappetenz.

I fall där cervix är stängd ses en stor utspänd livmoder med mycket tunn vägg, där normalstrukturen gått förlorad. Slemhinnan är grå med fokala blödningar. Ytepitelet är kubiskt, stromat och myometriet endast några cellager tjockt. I stromat finns lymfocyter och plasmaceller. Det finns enstaka körtlar, som alla går in i myometriet. Dessa tikar har allvarigare symptom, såsom kräkningar, polydipsi, kraftig neutrofil och nedsatt allmäntillstånd.

Medelåldern för tikar i grupp IV var  $10,6 \pm 2$  år (Dow, 1958) och de befann sig alla mellan 40 och 90 dagar efter löpningens slut. Av 19 tikar hade tre haft valpar. Bakterier framodlade från denna grupp var *E. coli*, stafylokocker och streptokocker.

#### **Histopatologisk indelning enligt De Bosschere**

År 2001 ifrågasattes Dow's indelning av De Bosschere *et al.* I en studie omfattande 68 hundar använde de sig av datoriserade bildanalysprogram och hade som mål att göra en ny indelning som var mer kliniskt relevant.

De föreslog att Dow's *CEH-pyometrakomplex* skulle delas upp i två komplex: a) *CEH-mucometrakomplexet* och b) *endometrit-pyometrakomplexet*. *CEH-mucometrakomplexet* beskriver patologiska förändringar *utan* inflammation medan *endometrit-pyometrakomplexet* beskriver patologiska förändringar *med* inflammation. De båda komplexen delades sedan in i tre subgrupper vardera (se tabell 1).

Tabell 1. Indelning enligt De Bosschere *et al.* 2001

CEH-mucometrakomplexet	Endometrit-pyometrakomplexet
Mild CEH	Endometrit
Grav CEH	Hyperplastisk pyometra
Mucometra	Atrofisk pyometra

Vad författarna ville understryka med denna uppdelning var att de olika sjukdomstillstånden kan uppstå oberoende av varandra, exempelvis att pyometra inte måste föregås av CEH. De gav även plats för den tidigare svårklassificerade förändringen, mucometra, i sin nya indelning. Som ett samlingsnamn för samtliga uteruspatologier används *CEH/pyometrakomplexet* istället för *CEH-pyometrakomplexet* (Schlafer & Gifford, 2008). Skiljetecknet har ändrats, för att klargöra att de två sjukdomarna inte måste vara kopplade till varandra.



De diskuterade även möjligheten att de två komplexen skulle ha olika patogenes. I en artikel där de undersökte förekomsten av östrogenreceptorer (ER) och progesteronreceptorer (PR) i livmodervävnad med hjälp av immunohistokemi, hittades skillnader mellan dessa (De Bosschere *et al.*, 2002b). Hos tikar med CEH-mucometrakomplexet påvisades högt uttryck av både ER och PR. För andra gruppen, endometrit-pyometrakomplexet, sågs ett ökat uttryck av PR men ett minskat uttryck av ER. Detta tyder på att de båda sjukdomstillstånden utlöses av olika faktorer.

### **PEH – ytterligare en klass av uteruspatologi?**

För att nå djupare kunskap om patogenesen hos de olika patologiska livmoderförändringarna har ett flertal författare gjort försök att inducera både CEH och pyometra. Enligt presentation i elva artiklar har Nomura försökt framkalla sjukdom genom att i lumen placera silkesuturer, *E. coli*-suspension, bariumbuljong eller olja, eller genom att framkalla trauma genom att skrapa på endometriet (Nomura 1983, 1994, 1995a, 1995b, 1996, 1997a, 1997b; Nomura *et al.*, 1990; Nomura & Makino, 1997; Nomura & Nishida 1998; Nomura & Funahashi 1999). Endometriet förändrades då och blev cystiskt. Förändringen är olik den vid CEH, då vävnaden i det här fallet är mer organiserad med tre tydliga skikt i endometriet. Mest ytligt finns långa villösa veck innehållande vakuoler med sekret. Mittensskiktet består av tät bindväv med hyperplastiska och hypertrofiska körtelepitelceller. Närmast myometriet finns veckade, utspända körtelgångar. Denna organisation påminner mycket om hur endometriet ser ut vid normal placentabildning, och benämns därför *Pseudo-placentational Endometrial Hyperplasia* (PEH) (Schlafer & Gifford, 2008; Bartel *et al.*, 2010). År 2002 visade De Bosschere *et al.* att mekaniskt inducerad endometriehyperplasi (PEH) inte gick att använda som modell för att studera spontant uppkommen CEH, då receptorerna för progesteron och östrogen uttrycks olika vid de olika tillstånden (De Bosschere *et al.* 2002a). Detta tyder på skild patogenes. Receptoruttrycket vid PEH liknar däremot det vid tidig dräktighet.

### **Sjukliga förändringar i livmodern hos tik - patogenes**

Trots många decennier av studier är patogenesen för CEH/pyometrakomplexet ännu ej helt klarlagd. De Bosschere *et al.* föreslog år 2001 att CEH och pyometra hade olika patogenes; att CEH främst var en hormonrubbnig och att pyometra hade bakteriell etiologi. Det finns dock en mängd spekulationer där flertalet inkluderar en kombination av hormonella störningar, genetiska komponenter och bakterier.

### **Hormoner**

Uteruspatologier uppträder i typiska fall under diöstrus då livmodern står under påverkan av progesteron, och kan i vissa fall framgångsrikt behandlas med hjälp av en progesteronreceptorantagonist. Därför har avvikelser i hormonspelet länge spekulerats vara en bakomliggande faktor vid sjukdomsutveckling. Tsumagari *et al.* gjorde år 2005 en studie där de inokulerade *E. coli* i livmodern hos tikar 1-10 dagar, 11-20 dagar, 21-30 dagar, 31-40 dagar, 41-50 dagar samt 51-60 dagar efter LH-peaken. Tikarna i studien uppvisade en högre incidens av pyometra då inokulationstillfället ägt rum mellan 11 och 30 dagar efter LH-peaken, varpå slutsatsen drogs att tikendometrium löper en ökad risk hos att drabbas av en bakteriell infektion som leder till pyometra under denna period.

De höga progesteronkoncentrationerna under tidiga stadier av diöstrus påverkar livmodern på tre sätt, vilket sammanställdes i en reviewartikel av Hardy & Osborne år 1974:

- cervix stängs
- körtelaktiviteten ökar och sekret (histotrof) ansamlas i lumen
- myometriekontraktioner inhiberas

Detta sker för att skapa en så gynnsam miljö som möjligt för embryot. Dessa förhållanden utgör även en gynnsam miljö för bakterier och gör livmodern mera mottaglig för infektion.

Teunissen framlade år 1952 en teori om att drabbade tikar har ökad produktion av progesteron, då han framkallade CEH/pyometra genom att upprepat ge höga doser av progesteron. Detta motbevisades dock på 70-talet då Hadley (1975) och Austad *et al.* (1979) uppmätte, för cykelstadiet, normala blodprogesteronvärden hos drabbade tikar. I sin diskussion framhåller de dock att en initial peak i blodets progesteronkoncentration kan skilja sjuka tikar från friska, och kan ha undgått studiens mätningar.

Nästa teori blev att, trots att drabbade tikar *inte* hade förhöjd progesteronkoncentration i blodet, så *reagerade vävnaden* som om detta skulle vara fallet, på grund av en ökning av antalet progesteronreceptorer (PR). De Bosschere *et al.* (2002b) visade också att tikar med både CEH och pyometra hade ett ökat uttryck av PR jämfört med friska tikar. En annan studie har dock inte kunnat finna någon skillnad mellan antalet progesteronreceptorer i det endometriella stromat hos friska och sjuka tikar (Dhaliwal *et al.*, 1999). Däremot uppvisades i den studien ett ökat antal östrogenreceptorer (ER) i stromat hos sjuka tikar. I epitelet fanns enligt denna studie däremot ett *lägre* uttryck av PR och ER hos sjuka än hos friska.

Ververidis *et al.* visade i sin studie från 2004 att både PR och ER-uttrycket var lägre än normalt vid CEH/pyometra, att blodkoncentrationen av progesteron var normal men att östrogen var förhöjt i blodet. De spekulerade i att sjukligt förändrad livmodervävnad svarar överdrivet på ökande blodprogesteronkoncentrationer i tidig diöstrus, genom en överaktivering av PR. Detta skulle sedan leda till en självnedreglering av PR- och ER-uttrycket, vilket skulle göra att livmodern inte kan svara på de onormalt höga östrogenkoncentrationerna. Detta tills dess att progesterondominansen avklingat i anöstrus då östrogen återigen skulle kunna uppreglera ER och göra endometriet östrogenkänsligt. De Cock *et al.*, föreslog 1997 en defekt nedreglering av ER i endometriet under diöstrus som en del i patogenesen för CEH.

Ytterligare en teori är att höga progesteronkoncentrationer nedreglerar tikens immunförsvar i livmodern, vilket syftar till att immunförsvaret ska tolerera eventuella embryon, men också medför en ökad risk för infektion. Sugiura *et al.* (2004) gjorde en studie där de odlade mononukleära celler från perifert blod *in vitro* och utsatte dem för en stam av *E. coli* som isolerats från en tik med pyometra. Hos immunceller tagna från tikar i proöstrus och östrus uppmättes en ökning av immuncellernas aktivitet då de utsattes för bakterien, medan en *minskad* aktivitet uppmättes hos celler tagna från tikar dag 10 i diöstrus. I en annan studie mättes halten av det antimikrobiella proteinet laktoferrin som tillverkas av mononukleära immunförsvarsceller (Kida *et al.*, 2006). En signifikant sänkning av laktoferrinnivåerna

uppmättes dag 10 i diöstrus, jämfört med östrus. Faldyna *et al.* (2001) påvisade immunosuppression hos tikar med pyometra, då lymfocytaktiviteten hos tikarna i studien var markant minskad.

De Cock *et al.* studerade år 2002 förekomsten av insulin-like growth factor-I (IGF-I) i tikendometrium med hjälp av immunohistokemi. De såg ett markant ökat uttryck av IGF-I hos tikar med CEH, och föreslog att denna tillväxtfaktor kunde vara inblandad i sjukdomens patogenes.

### **Bakterier**

Även om bakterier inte anses vara den bakomliggande faktorn till uteruspatologier kan bakteriers närvaro i livmodern aggravera tillståndet (Hardy & Osborne, 1974). I merparten av fallen är det *Escherichia coli* som kan isoleras. I en studie återfanns *E. coli* hos 74 % av tikarna med pyometra (Dhaliwal *et al.*, 1998). Sandholm *et al.* (1975) fann *E. coli* i renkultur hos 85 % av de undersökta fallen. Man har också funnit att en subklinisk urinvägsinfektion ofta föreligger hos tikar med pyometra, och att den är orsakad av samma stam av *E. coli* som livmoderinflammationen (Sandholm *et al.*, 1975; Hagman & Kühn, 2002).

Bakterier binder till endometriet med hjälp av *lektiner*; en proteingrupp som binder specifikt till olika sockermolekyler, som i detta fall sitter i endometriets epitel. Yasunaga *et al.*, visade i en studie från år 2012 att vissa sockermolekyler uttrycks mer hos hundar med pyometra, och särskilt under dag 7-10 samt dag 30-40 i diöstrus. Författarnas teori är att bakterier i uterus kan få möjlighet att kolonisera endometriet vid tillfällena i cykeln då uttrycket av sockermolekyler är gynnsamt, och anser att detta skulle kunna förklara hur pyometra uppstår.

### **Predisponerande faktorer**

Niskanen & Thrusfield visade 1998 i en fall-kontrollstudie med 953 fall av pyometra och 10 660 kontrolltikar att tikar som inte valpat hade en högre incidens av uteruspatologier. Detta är i enighet med Dows studier 1957-1959. Fidler *et al.* (1966) hittade dock ingen signifikant skillnad i sin studie av 68 fall och 245 kontrolltikar. I den sistnämnda artikeln publicerades även att fler tikar varit skendräktiga i kontrollgruppen än i gruppen med pyometra. Detta var den första studie som antydde detta; den rådande uppfattningen vid publiceringstillfället var att skendräktighet var en riskfaktor för pyometra (Dow, 1958).

Vissa raser är predisponerade för pyometra. Egenvall *et al.* (2001) angav en ökad incidens hos långhårig collie, rottweiler, cavalier king charles spaniel, golden retriever, berner sennen och engelsk cocker spaniel. Raser med lägre risk att drabbas av sjukdom var drever, tax och schäfer. I en studie gjord av Hagman *et al.* (2011) varierade riskfaktorer mellan olika raser. Tidigare dräktighet var en skyddande faktor hos collie, rottweiler och labrador retriever men inte hos golden retriever.

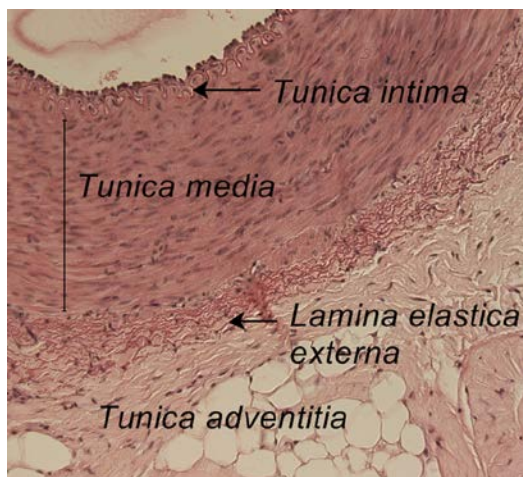
Withers & Whitney visade 1967 att progesteronbehandling för kontroll av löpning gav ökad risk att drabbas av uteruspatologier. En annan studie visade dock att det inte förelåg någon ökad risk hos denna grupp, men att tikar under fyra år gamla som behandlats med *östrogen* löpte ökad risk (Niskanen & Thrusfield, 1998).

## Olika kärltyper och dess uppbyggnad

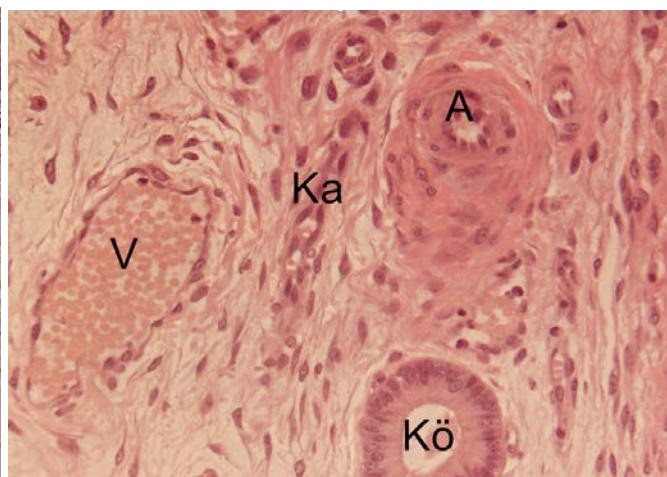
Alla blodkärl består av tre vävnadslager (Mescher, 2010) (se figur 3 och 4);

- *Tunica intima* är lagret närmast lumen. Detta består innerst av endotel samt dess basallamina. Under endotelet ligger subendotelet, vilket är ett tunt bindvävslager med longitudinell fiberriktning.
- *Tunica media* är muskellagret intill intiman. Detta består av cirkulärt orienterade fibrer av glatt muskulatur samt extracellulärt matrix såsom elastiska fibrer, proteoglykaner och kollagen typ III. Dessa komponenter produceras av muskelcellerna.
- *Tunica adventitia*, vilket är det yttersta vävnadslagret, består av longitudinellt orienterade kollagenfibrer av typ I samt elastiska fibrer. I stora kärl, där kärlväggen inte kan få tillräckligt med näring och syre genom diffusion från blod i lumen, kan man i detta lager återfinna de små kapillärerna *vasa vasorum*, "kärlens kärl", som försörjer väggen.

I olika typer av kärl är de inbördes proportionerna mellan, och utformningen av, dessa lager vitt skilda. Detta då kärlen har olika funktion och utsätts för olika belastning.



Figur 3. De olika vävnadslagren i en kärlvägg. Artär från get.



Figur 4. Ven (V), artär (A), kapillär (Ka) och körtel (Kö). Endometrium från tik.

### Artärer

I artärer finns ytterligare ett vävnadslager under subendotelet som benämns *lamina elastica interna* (Mescher, 2010). Detta lager består av elastin och har som funktion att göra kärlväggen flexibel men hållfast även under högt tryck från blodet. I stora artärer finns även *lamina elastica externa* som ligger mellan *tunica media* och *tunica adventitia* och fyller en liknande funktion. Det är elastin som ger artärerna deras gulaktiga färgton.

Artärer, och framför allt små artärer, *arterioler*, har en relativt sett mycket kraftig *tunica media* som innerveras av sympatiska nervfibrer (Mosier, 2007). Denna funktion är mycket viktig då arteriolererna måste kunna svara med vasokonstriktion i ett flertal fysiologiska sammanhang.

## **Kapillärer**

Endast fem procent av kroppens blodvolym finns i kapillärerna, trots att deras sammanlagda tvärsnittsytta beräknas vara 1300 gånger större än aortas (Mosier, 2007). Dessa små kärl, i genomsnitt ca 8µm i diameter, utför dock cirkulationens huvuduppgift; det är här utbytet av metaboliter och blodgaser äger rum.

I kapillärer finns endast ett lager med endotelceller och dess basallamina (Mescher, 2010). *Tunica media* ersätts av så kallade *pericyter*; mesenkymala celler som ligger utspridda utmed kapillärerna och har långa utskott som omger kärnen. De innehåller aktin och myosin och antas därför även ha en kontraherande förmåga.

Det finns flera olika typer av kapillärer som tillåter olika mycket utbyte av metaboliter med den omgivande vävnaden (Mosier, 2007). I de flesta organ, däribland livmoder, finns *kontinuerliga kapillärer* med heltäckande basallamina och endotelceller som ligger dikt an mot varandra. *Fenestrerade kapillärer* har även de en heltäckande basallamina men har springor mellan endotelcellerna, som ökar permeabiliteten i kärlväggen. Dessa kapillärer finns företrädesvis i tarmvilli och glomeruli i njurarna, där utbytet av metaboliter behöver vara stort. I lever och hematopoetiska organ såsom mjälte finns *diskontinuerliga* kapillärer. Dessa har en basallamina med glapp och mellanrum mellan endotelcellerna. Här kan stora molekyler passera ut, exempelvis erythrocyter i mjälten.

## **Vener**

Två tredjedelar av kroppens blodvolym finns i venerna (Mosier, 2007). Vener är tunnväggiga blodkärl med en relativt oansenlig *tunica media*. I *tunica adventitia* finns däremot utspridda fibrer av glatta muskelceller som förhindrar utvidgning av venerna. *Tunica intima* veckar sig och bildar klaffar som hindrar blodet från att gå åt fel håll.

## **Livmoderns vaskularisering**

Livmodern får sin blodförsörjning från två par artärer; *arteriae ovarica* och *arteriae uterina*. De förstnämnda utgår från bukaorta mitt i lumbaregionen där den högra artären utgår lite mer kranialt än den vänstra. Därifrån löper artärerna i kranial riktning i mesometriet till äggstockarna och vidare längs med livmoderns laterala sida. Deras storlek och slingrighet avgörs av reproduktionsstadium, ålder och tidigare dräktigheter. *Arteria uterina* är den artär som bidrar mest till livmoderns blodförsörjning. Den utgår från *arteria vaginalis* kraniala gren vid cervix, varifrån den går lateralt utmed livmoderns längsriktning tills den slutligen anastomoserar med *a. ovarica*. Även *vena ovarica* och *vena uterina* anastomoserar i mesometriet. Högersidans *vena ovarica* tömmer sig i *vena cava caudalis* medan den vänstra grenen tömmer sig i njurvenen. Mellan artärer och vener passerar blodet livmodervävnadens kapillärer.

Under löpningscykelns olika faser förändras cirkulationen i livmodern. Under proöstrus ökar cirkulationen och blödning uppstår från *venulae* i endometriet (Walter *et al.*, 2011). Under östrogenpåverkan i östrus ökar vaskulariseringen ytterligare, men sjunker i början av diöstrus på grund av ökande progesteronkoncentrationer (van Cruchten *et al.*, 2004; Krzymowski *et al.* 2002). Kärlproliferation och serumnivåer av östrogen uppvisade signifikant korrelation i en

studie gjord av van Cruchten *et al.* (2004). Krzymowski *et al.* (2002) lade fram en teori om att det var det försämrade blodflödet under diöstrus som gav upphov till *luteolys*. Detta genom att det otillräckligt vaskulariserade endometriet skulle utsöndra prostaglandiner då det skadats av dålig tillförsel av näring och syre.

I början av varje ny löpcykel måste endometriet återuppbyggas och även kärlsystemet behöver anpassa sig till de ökade kraven på syre- och näringstillförsel. Hos människa är detta förlopp studerat, och man har funnit att det sker genom angiogenes (Gargett & Rogers, 2001). Det finns fyra mekanismer för angiogenes; avknoppning, intussusception, inkorporation eller förlängning av redan befintliga kapillärer. Hos människa har man funnit att detta i endometriet sker genom förlängning. Man har även funnit att vissa ämnen styr graden av angiogenes i endometriet, exempelvis vascular endothelial growth factor (VEGF) och relaxin (Girling & Rogers, 2005).

### ***Vaskularisering vid patologiska förändringar***

England *et al.* gjorde år 2012 en studie där den vaskulära resistensen i livmodern mättes med dopplertechnik efter parning, hos friska tikar samt hos tikar med CEH. Hos de friska tikarna kunde en tydlig postcoital vasodilatation uppmätas i livmodern. Denna inflammationsreaktion antogs vara viktig för att rena livmodern inför dräktighet. Hos tikar med CEH förändrades den vaskulära resistensen inte alls så tydligt. De hade mindre tydlig vasodilatation än de friska tikarna och renade sig också sämre.

De tikar som drabbats av uteruspatologier inom Dows stadium II-IV där endometriet är inflammerat har en ökad vaskularisering till följd av inflammation enligt Dow (1959).

## HYPOTES

I denna studie har kärlförekomsten i normalt samt i cystiskt förändrat endometrium från tik analyserats. Hypotesen var att det finns fler kapillärer i normalt endometrium än i cystiskt förändrat endometrium.

## MATERIAL OCH METODER

### Materialinsamling

Uterusvävnad från 10 tikar samlades in i samband med ovariohysterektomi för histologisk/histopatologisk undersökning. Materialet kom från två olika ställen;

- Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias, Vila Real, Portugal mellan åren 2006 och 2009 av Rita Payan Carreira, PhD, DVM, och skickades till Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi, Sveriges lantbruksuniversitet.
- Institutionen för kliniska vetenskaper, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala, Sverige under år 2011 av Ragnvi Hagman, Universitetslektor.

Livmoderhornen klipptes upp omgående efter ovariohysterektomi och materialet fixerades samt förvarades i 4 % buffrad formalinlösning. Vävnadsbitar togs från mittsektionen av livmoderhornen när de år 2012 preparerades för plastinbäddning och histologisk undersökning.

Inför plastinbäddning trimmades vävnadsproverna till ca 2 mm tjocka skivor som sköljdes i fosfatbuffert. Efter dehydrering i ökande koncentrationer av etanol, bäddades vävnadsproverna i vattenlöslig resin (Leica Historesin, Heidelberg, Germany), snittades i 2  $\mu$  m tunna snitt och färgades med haematoxylin-eosin. Ett Nikon Microphot-FXA mikroskop med objektiv  $\times 20$  (Bergström Instrument AB, Stockholm, Sweden) användes i studien för räkning av kärl samt för bildframställning.

Fem av tikarna bedömdes, efter histologisk utvärdering av erhållna preparat, tillhöra Grupp I enligt Dows klassificering (1958); det vill säga de uppvisade cystiska förändringar men saknade infiltrat av inflammatoriska celler. Dessa benämns fortsättningsvis som *Patologisk 1-5 (P1-P5)*. De fem resterande tikarna bedömdes vara fria från patologiska förändringar, och benämns fortsatt i texten som *Normal 1-5 (N1-N5)*.

Cyklusstadium hos tikarna avgjordes med hjälp av en kombination av vaginalcytologi, progesteronkoncentrationen i serum, anamnestiska uppgifter samt inspektion av äggstockar. I vissa fall saknades en eller flera av dessa parametrar.

Samtliga tikar i normalgruppen befann sig i diöstrus vid ovariohysterektomi. I gruppen med patologiska förändringar befann sig fyra tikar i diöstrus. *Patologisk 3* var i tidig anöstrus vid ovariohysterektomi.

Uppgifter om ras och ålder hos de tio tikarna redovisas i tabell 2 nedan.

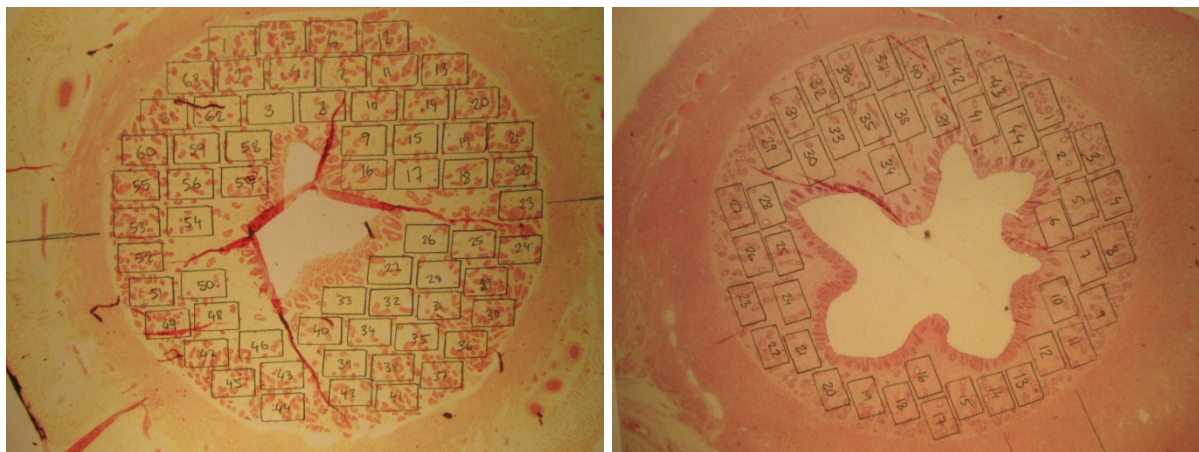
Tabell 2. Basuppgifter för studiens tio tikar

Studie nr.	Ras	Ålder
N1	SRD*	3 år
N2	SRD*	19 mån
N3	SRD*	18 mån
N4	podenco	18 mån
N5	SRD*	16 mån
P1	cavalier king charles spaniel	7 år
P2	cavalier king charles spaniel	7 år
P3	blandras (8 kg, långhårig)	2 år
P4	engelsk springer spaniel	9 år
P5	blandras (10 kg, korthårig)	4 år

\*SRD är en korsningshund som väger ca 12-13kg

### Analys av insamlat material

Översiktsbilder över samtliga tio preparat skrevs ut. Det endometriella stromat indelades sedan i rutor om 532  $\mu\text{m}$  x 358  $\mu\text{m}$  (se figur 5) vilket motsvarar ett synfält i 20 gångers förstoring i det för studien använda mikroskopet.



Figur 5. Endometriet i alla tio preparat delades in i rutor, där en ruta motsvarande ett synfält i 20 gångers förstoring.

Då endast det endometriella stromat och dess körtelgångar skulle utvärderas var det önskat att i rutorna inkludera artefakter, cystor, ytepitel eller myometrium. Ibland kunde dock inte dessa oönskade delar av preparaten utelämnas helt, då man i så fall skulle förlora för mycket av den bindväv som skulle utvärderas. Det bestämdes att högst 10 % av arean inom en ruta fick utgöras av artefakter, cystor, ytepitel eller myometrium.

Rutorna numrerades sedan löpande, varpå 44 till 76 rutor erhöles i varje preparat (se tabell 3).

Tabell 3. Antal rutor som erhöles i varje preparat

N1	N2	N3	N4	N5	P1	P2	P3	P4	P5
63	44	57	65	59	48	52	76	75	68



Antalet små och stora kärl räknades sedan med hjälp av mikroskop i vart tredje synfält; alltså i ruta nummer 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40 och 43 i samtliga preparat. 15 stycken synfält (20 gångers förstoring) räknades alltså i tio preparat. Samma person (Johanna Appelgren) utförde alla histologiska beräkningar. Syftet med att använda rutor istället för att välja ut 15 "representativa synfält" i varje preparat var att uppnå en högre grad av systematisering och minska den mänskliga faktorn i urvalsprocessen. För att få homogena grupper att sedan analysera statistiskt utelämnades de rutor som hade ett nummer som överskred 44.

Ett *litet kärl* definierades som ett kärl där maximalt två endotelcellskärnor var synliga i preparatet vid tvärsnitt. Kärlen i denna grupp består nästan uteslutande av kapillärer. Vid tre eller fler synliga endotelcellskärnor medräknades kärlet i gruppen "*stora kärl*". Dessa kärl motsvarar i huvudsak arterioler och venulae. Vid tveksamheter om huruvida en struktur alls var ett kärl utelämnades det från räkningen. Ett kärl behövde dock inte, synligt i preparatet, innehålla röda eller vita blodkroppar för att medräknas. Över 50 % av kärlets yta skulle ligga inom synfältet för att det skulle medräknas.

### **Statistik**

För statistiska beräkningar användes analysprogrammen Minitab och Excel. De beräkningar som utfördes var medelvärde, standardavvikelse, medelfel, median, kvartiler, procentuell fördelning och 95 % konfidensintervall. Även Mann Whitney u-test utfördes, där p-värde, uppskattad medelskillnad samt 96,3 % konfidensintervall för skillnaden beräknades.

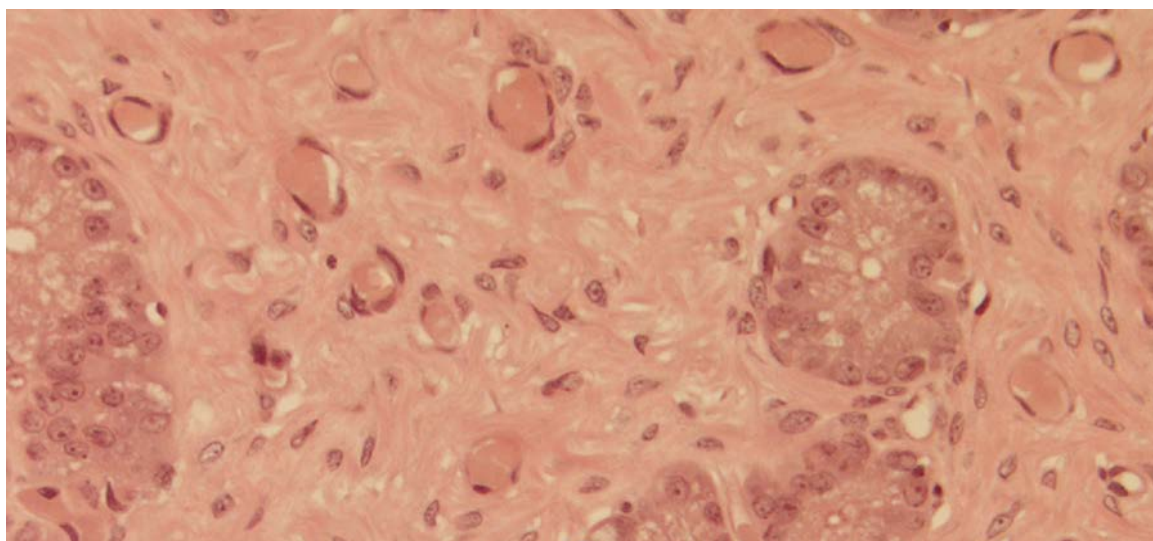
## RESULTAT

### Kärl i bindväven i preparat utan patologiska förändringar

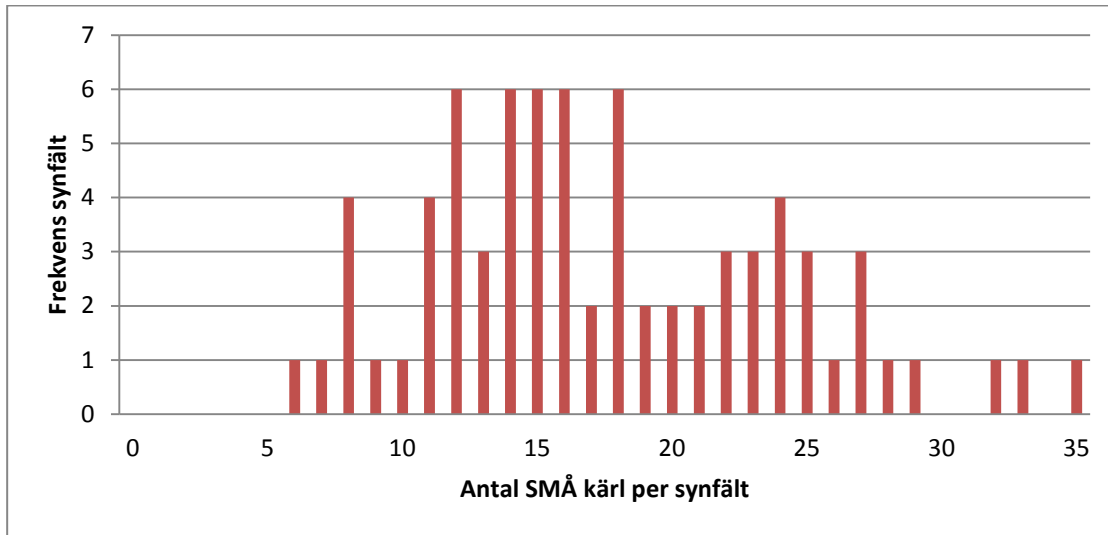
I de fem preparaten från friska tikar erhöles totalt 1 321 små kärl och 180 stora kärl (se tabell 4). Antalet synfält där ett visst antal kärl påträffades visas i figur 7 (små kärl) och figur 8 (stora kärl). Enligt subjektiv observation återfanns kärnen i stor mängd i ytligare skikt av stromat (se figur 6) men kapillärtätheten var dock som allra högst i nära anslutning till körtelgångar (se figur 9 och 10). Vissa körtelgångar var omgivna av över tio kapillärer vardera. Denna säregna distribution av blodkärl observerades inte alls i samma utsträckning i de patologiska preparaten.

Tabell 4. Antal små och stora kärl i 15 synfält från fem preparat av normalt tikendometrium

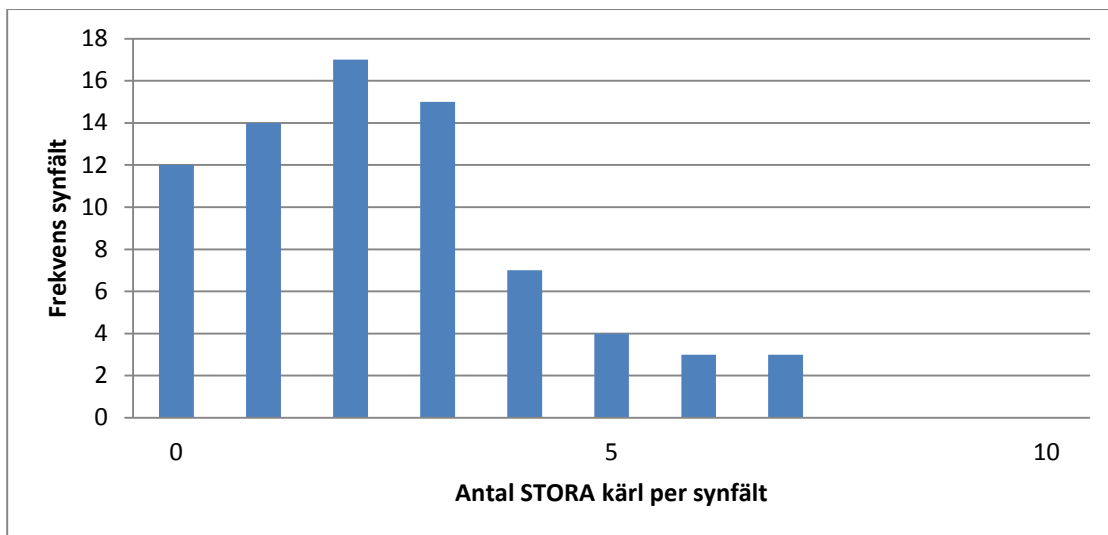
preparatnummer	N1		N2		N3		N4		N5	
	små	stora	små	stora	små	stora	små	stora	små	stora
1	18	3	27	5	9	5	14	3	27	0
4	20	3	20	7	25	0	12	4	25	3
7	22	0	16	1	11	3	14	1	33	3
10	16	2	22	1	26	6	19	7	29	1
13	15	0	15	1	23	4	13	2	24	5
16	16	3	12	1	27	2	15	4	17	6
19	12	0	21	0	18	2	12	0	25	2
22	8	1	24	3	14	1	11	2	18	6
25	11	1	22	0	10	2	19	2	23	5
28	6	2	18	0	7	2	16	2	32	4
31	13	0	16	3	18	1	17	2	21	1
34	12	3	11	1	8	3	16	4	18	4
37	14	3	14	2	13	3	15	4	28	7
40	24	0	23	2	8	2	8	0	15	3
43	14	1	24	3	12	2	15	1	35	2
Summa	221	22	285	30	229	38	216	38	370	52
Totalt per individ	243		315		267		254		422	



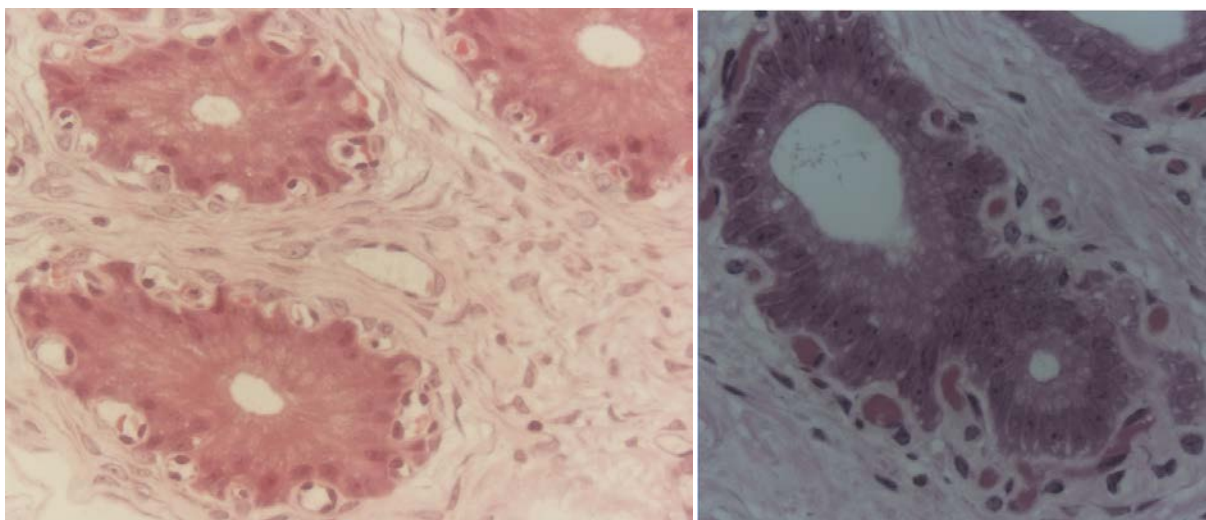
Figur 6. Bindväven genomsatt av kapillärer i normalt endometrium.



Figur 7. Histogram över frekvensen synfält från *normala preparat* som innehåller ett visst antal *små* kärl.



Figur 8. Histogram över frekvensen synfält från *normala preparat* som innehåller ett visst antal *stora* kärl.



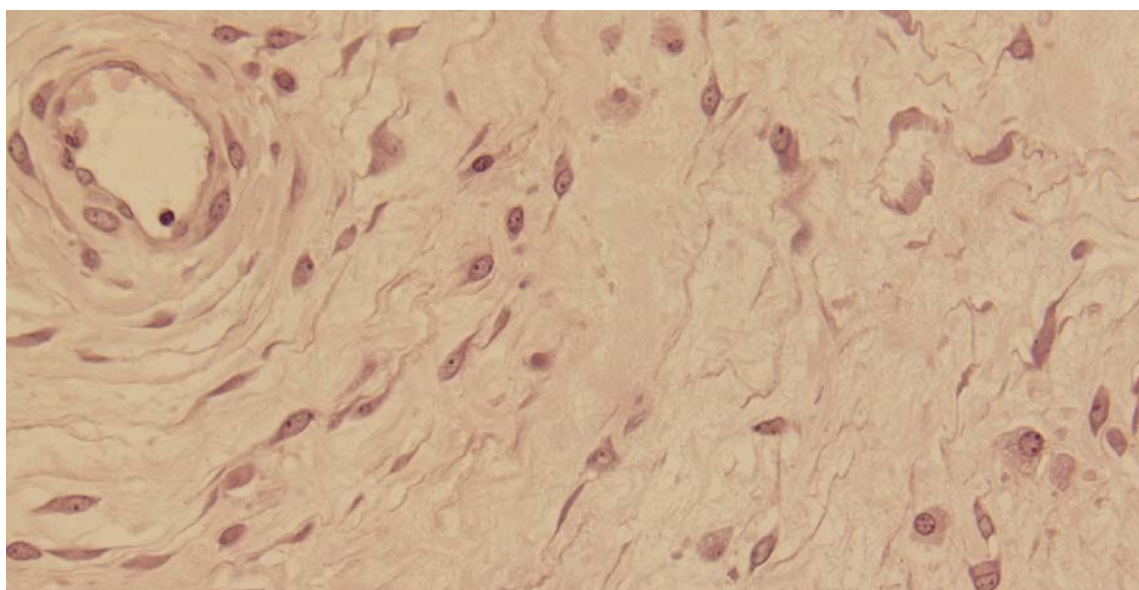
Figur 9 och 10. Körtelgångar omgivna av kapillärer i normalt endometrium.

## Kärl i bindväven i preparat med patologiska förändringar

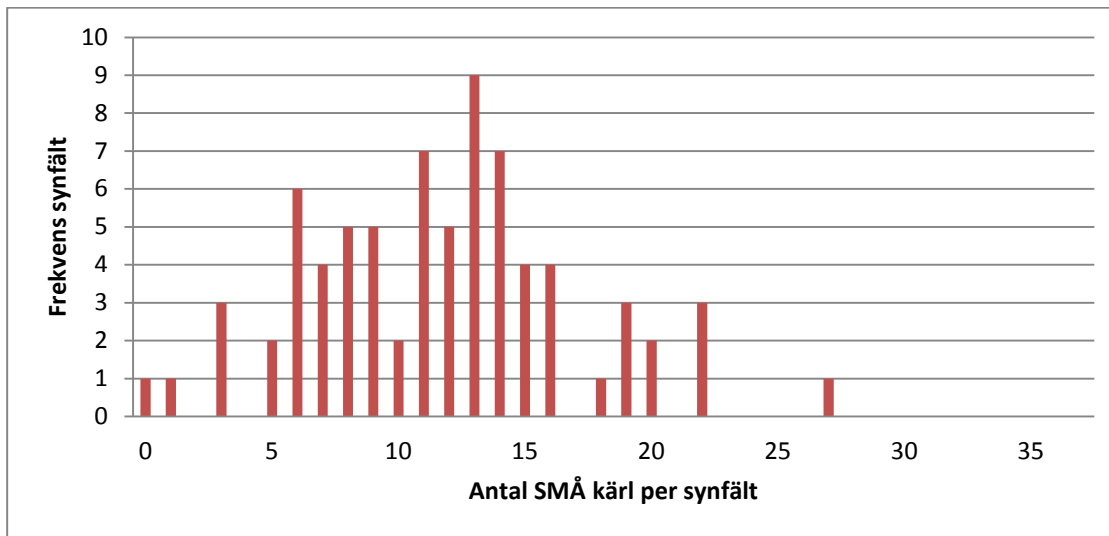
I de fem preparaten från tikar med cystisk endometriehyperplasi erhöles sammanlagt 873 små kärl och 206 stora kärl (se tabell 5). Antalet synfält där ett visst antal kärl påträffades visas i figur 12 (små kärl) och figur 13 (stora kärl). Stromat runt de cystiska förändringarna bestod till största delen av lucker bindväv (se figur 11) genomsatt av ett fåtal kärl, som var lite större än de som sågs hos normala tikar.

Tabell 5. Antal små och stora kärl i 15 synfält från fem preparat av cystiskt förändrat tikendometrium

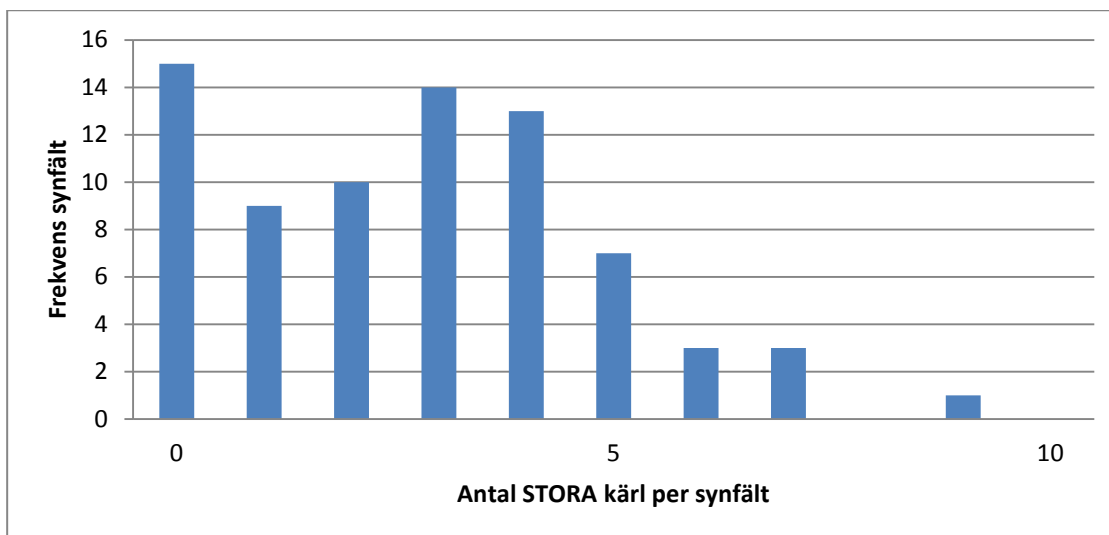
preparatnummer	P1		P2		P3		P4		P5	
	små	stora	små	stora	små	stora	små	stora	små	stora
1	7	0	10	1	11	3	15	1	9	0
4	8	3	6	5	13	2	6	1	6	0
7	11	0	7	4	14	1	22	0	9	2
10	15	5	8	6	20	3	11	1	3	4
13	8	0	0	4	22	1	13	3	12	7
16	19	7	8	4	15	2	27	0	13	4
19	13	1	13	3	14	3	22	3	11	4
22	16	2	9	5	11	3	16	1	1	9
25	11	0	15	2	10	5	12	5	18	6
28	13	0	9	3	3	1	13	2	14	4
31	12	2	7	2	6	0	7	4	13	5
34	12	0	19	3	5	0	14	6	9	4
37	6	3	3	3	6	4	14	4	8	4
40	14	0	12	3	13	0	16	4	20	7
43	11	0	5	3	14	2	19	2	16	5
Summa	176	23	131	51	177	30	227	37	162	65
Totalt per individ	199		182		207		264		227	



Figur 11. Endometriell bindväv hos tik med cystiska förändringar.



Figur 12. Histogram över frekvensen synfält från *patologiska preparat* som innehåller ett visst antal små kärl.



Figur 13. Histogram över frekvensen synfält från *patologiska preparat* som innehåller ett visst antal stora kärl.

## Statistiska beräkningar

### Per individ

Om man analyserar summan av de olika typerna av kärl hos varje individ erhålls dessa resultat (se tabell 6).

Tabell 6. Medelvärde och median för antalet små och stora kärl, samt totalantal, summerat per individ

		Medelvärde	St.avvikelse	Medelfel	Q1	Median	Q3
Små kärl	Normala	264,2	65,3	29,2	218,5	229,0	327,5
	Patologiska	174,6	34,7	15,5	146,5	176,0	202,0
Stora kärl	Normala	36,00	11,14	4,98	26,00	38,00	45,00
	Patologiska	41,20	16,86	7,54	26,50	37,00	58,00
Totalt	Normala	300,2	73,4	32,8	248,5	267,0	368,5
	Patologiska	215,8	31,4	14,1	190,5	207,0	245,4

För små kärl är skillnaden mellan kärlförekomst i normalpreparaten jämfört med i de patologiskt förändrade preparaten statistiskt signifikant ( $p=0,0367$ ). För totalantalet kärl uppmättes också en signifikant skillnad ( $p=0,0367$ ). För stora kärl är skillnaden inte statistiskt signifikant ( $p=0,9168$ ) (se tabell 7).

Tabell 7. Resultat av Mann Whitney u-test för små och stora kärl, samt för totalantal kärl, då normalpreparat jämförs med patologiska preparat ( $\mu(N) - \mu(P)$ )

	p-värde	Signifikansnivå	Uppskattad medelskillnad	96,3 % konfidensintervall
Små kärl	0,0367	*	67	2 – 194
Stora kärl	0,9168	NS	-1	-29 – 15
Totalantal	0,0367	*	61	3 – 215

### Per synfält

Den totala ytan som har räknats i friska preparat (75 synfält) är lika stor som den som räknats i patologiskt förändrade preparat;  $14,3 \text{ mm}^2$ .

$0,532 \text{ mm} \times 0,358 \text{ mm} \times 15 \text{ synfält} \times 5 \text{ preparat} = 14,2842 \text{ mm}^2$ .

Det går därmed 5,25 synfält på en kvadratmillimeter. Antal små och stora kärl per synfält samt per  $\text{mm}^2$  redovisas i tabell 8.

Tabell 8. Kärldensitet (medelvärde samt standardavvikelse och 95 % konfidensintervall) beräknat per synfält samt per  $\text{mm}^2$ , avrundat till en decimal

		Normala	CI 95 %	Patologiska	CI 95 %
Små kärl	antal per synfält	17,6±6,5	16,1–19,1	11,6±5,2	10,4–12,8
	antal per $\text{mm}^2$	92,5±34,2	84,6–100,4	61,1±27,5	54,8–67,4
	procentuell fördelning	88,0 %		80,9 %	
Stora kärl	antal per synfält	2,4±1,9	2,0–2,8	2,8±2,1	2,3–3,2
	antal per $\text{mm}^2$	12,6±9,7	10,4–14,8	14,4±11,0	11,9–17,0
	procentuell fördelning	12,0 %		19,1 %	

## DISKUSSION

Trots att livmoderpatologier är mycket vanligt förekommande hos tik är patogenesen bakom cystors uppkomst ännu inte helt utredd. Ett faktum som är vedertaget i litteraturen (Dow, 1958, De Bosschere *et al.*, 2001) är att cystorna härstammar från dilaterade körtelgångar. Körtelgångsepitel bekläder cystornas insida, och i patologiskt förändrade preparat finns oftast många mellanting mellan cystor och normala körtlar, vilket indikerar att de är olika grader av samma typ av struktur. CEH kan upptäckas i uterusvävnad från tikar i alla stadier av löpcykeln, men förändringarna anses uppstå under diöstrus (Dow, 1959; Schlafer & Gifford, 2008).

Sekretionen från de endometriella körtlarna genomgår en påtaglig sänkning när diöstrus proliferationsfas övergår i diöstrus degenerationsfas, vilket syns genom att det sekretoriska

epitelet går från att vara välutvecklat till nästan kubiskt och inaktivt (Barrau *et al.*, 1975; Galabova *et al.*, 2003). När denna förändring sker blir endometriet även dehydrerat enligt Fitch (1963) vilket gör att man skulle kunna tänka sig att viskositeten hos körtelsekretet ökar.

Dow gjorde en intressant observation i sin artikel från 1959:

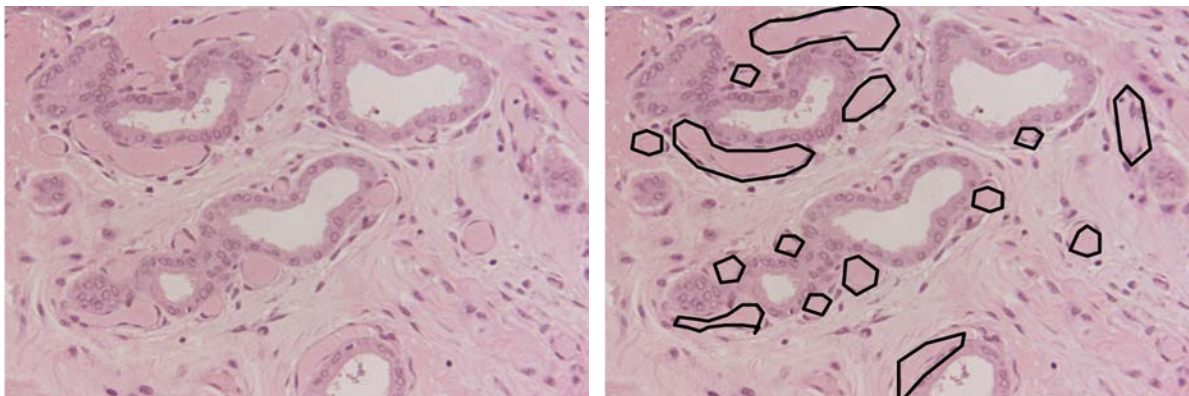
*”Low cuboidal epithelium is seen in many cysts, [...], even during the **early** met-oestrus phase when secretion is normally at its height.”*

Normalt i *tidig* diöstrus är körtelgångsepitelet ett högt cylinderepitel med morfologiska tecken på hög sekretorisk aktivitet. Dock inte epitelet som bekläder cystorna. Dow’s observation indikerar att förändringar i sekretionen sker i samband med utveckling av endometriella cystor. Om dessa förändringar är *orsaken till* cystorna eller *orsakas av* cystorna är i dagsläget inte utrett.

England *et al.* visade i en studie år 2012 att tikar med CEH, efter parning, hade lägre blodflöde till livmodern och sämre förmåga till vasodilatation i endometriet än normala tikar. Tikarna i studien med CEH kunde inte rena livmödrarna lika fort och de fick mindre kullar. Detta är intressant, speciellt då författarna uppmätt *högre* postcoitala halter av neutrofiler i endometrium från tikar med CEH. Vävnaden blev således inflammerad, men kunde inte svara med ökat blodflöde.

Det föreligger en signifikant skillnad mellan förekomsten av små kärl i endometrium från tikar utan patologiska förändringar jämfört med endometrium från tikar med patologiska förändringar. Skillnaden mellan de båda grupperna med avseende på totalantalet kärl är även den statistiskt signifikant. Det beror sannolikt på att de små kärlen skiljer sig så tydligt mellan grupperna, och att de utgör den största delen av det totala antalet kärl.

I denna studie har det även iakttagits att kapillärer ofta ligger i närhet till körtelgångar hos tikar utan förändringar (se figur 14, se även figur 9 och 10). Denna egenartade distribution av kapillärer ses inte alls i samma utsträckning i preparat med cystiska förändringar.



Figur 14. Kapillärer i nära anslutning till körtelgångar hos frisk tik.

En spekulering angående cystornas patogenes som kan göras utifrån detta resultat är att *sämre blodförsörjning kring körtelgångar skulle kunna leda till ökad viskositet på livmoderssekretet inuti körtelgångarna och därigenom vara orsak till de fokala utvidgningarna av dessa, genom*

*obstruktion*. Detta skulle överensstämma med att cystorna uppkommer när diöstrus uppbyggnadsfas övergår i dess nedbrytningsfas, och körtelsekretionen genomgår en påtaglig sänkning. Fitch (1963) har i denna övergångsfas observerat ”pluggar” av sekret i körtelgångarna.

Att blodförsörjningen skulle vara inblandad i patogenesen för CEH skulle kunna stödjas av observationen att CEH/pyometrakomplexet förekommer mer frekvent hos tikar som inte har valpat (Dow 1958; Niskanen & Thrusfield, 1998). Det är väl känt att hondjur som genomgått dräktighet har ett bättre utvecklat kärlnät i livmodern. Den bättre blodförsörjningen runt körtelgångarna skulle kunna vara en skyddande faktor mot ett alltför visköst sekret under diöstrus, obstruktion av körtelgångar och utveckling av cystor.

Tikar som inte genomgått dräktighet är mer frekvent drabbade av patologiska förändringar i livmodern (Dow, 1958), liksom vissa raser (Egenvall *et al.*, 2001). Det är enligt författarens vetenskap inte studerat huruvida det finns någon skillnad i mängd eller distribution av kapillärer i endometriet hos tikar av högriskraser såsom rottweiler och cavalier king charles spaniel jämfört med tikar av raser med låg risk såsom schäfer och drever.

Under diöstrus nedbrytningsfas, hos tikar med friskt endometrium, degenererar ytepitelet och cellerna fylls av lipiddroppar (Mulligan, 1942). Dessa celler stöts sedan ut i lumen. Hos tikar i grupp I (CEH) degenererar epitelceller även *djupare ned* i körtelgångarna på samma sätt, och de karaktäristiska fett dropparna i körtelepitelet kan ses även i dessa celler (Dow, 1959). En logisk slutsats vore att dessa också sedan stöts ut i lumen, såsom de degenererade ytepitelet stöts ut hos friska tikar. Detta skulle ytterligare kunna bidra till att skapa obstruktion av körtelgångar. Man skulle kunna tänka sig att det finns en ras/individvariation hos friska tikar i *hur långt ner* i körtelgångarna epitelet degenererar under diöstrus nedbrytningsfas, som skulle kunna ha betydelse för uppkomsten av cystor.

En annan tanke är att epitelcellerna kanske degenererar djupare ned i körtelgångarna vid CEH *just på grund av* otillräcklig vaskularisering. Enligt en teori, presenterad av Kzymowski *et al.* (2002) angående orsaken till luteolys (se stycket ”Livmoderns vaskularisering”), blir det syrebrist i den friska endometriella vävnaden i början av diöstrus, när blodförsörjningen sjunker i ett välutvecklat och tjockt endometrium. En försämrad vaskularisering av endometriet hos tikar som är på väg att utveckla CEH skulle ge en ännu mer uttalad syrebrist i vävnaden i tidig diöstrus, vilket skulle förklara varför epitelet degenererar djupare ned i körtelgångarna. Dessa degenererade epitelceller skulle sedan kunna bilda obstruerande ”pluggar” i körtellumen, och således ge upphov till cystor.

### **Felkällor och förändringsförslag till vidare studier**

Räkningen av kärl i denna studie utfördes inte blindat, då cystiska förändringar i preparaten med lätthet upptäcks av observatören. Urvalet av räknade synfält skedde dock systematiskt i preparaten, oberoende av förväntad kärldensitet, då var tredje synfält räknades. Detta bör ha minskat betydelsen av denna felkälla. Att de synfält med högre nummer än 44 exkluderades ur räkningen bör inte ha påverkat studien nämnvärt då de första 44 synfälten ligger representativt fördelade i endometriets olika skikt.



Det finns givetvis en möjlighet att de redan uppkomna patologiska förändringarna *orsakar* att vaskulariseringen förändras, i motsats till att nedsatt vaskularisering skulle vara en bidragande *orsak till* de patologiska förändringarna. När cystor utvecklas finns det beskrivet (Dow, 1959) att bindväven blir tätare runt de cystiska strukturerna. Detta skulle kunna ge upphov till kärlkompression och atrofi av de tunnaste kärlen.

En intressant fortsättning på denna studie vore att histologiskt jämföra *friskt* endometrium från tikar av raser med hög risk att utveckla uteruspatologi, samt för tikar av raser med låg risk att utveckla sjukdom. Då skulle ovan nämnda felkällor (att man inte kan blinda studien samt att man inte vet hur cystorna påverkar blodförsörjningen) kunna elimineras. Dock kan material för en sådan studie vara svårt att samla in på ett bra sätt, då relativt litet antal friska tikar kastreras i Sverige och man skulle vilja ha ett så homogent material som möjligt med tikar i samma cyklusstadium och av samma ålder, ras och vikt. Det vore även önskvärt att de aldrig varit dräktiga eller hormonbehandlats.

Tikar som har genomgått en dräktighet har ett mer utvecklat kärlnät än tikar som inte valpat. Detta har inte tagits hänsyn till i denna studie. I en optimal studiedesign bör man ta hänsyn till detta och endast välja tikar som aldrig genomgått dräktighet. Cykelstadium bör beaktas, eftersom vaskulariseringen ökar under och omkring östrus. De normala tikarna i studien befann sig i diöstrus, dock var en av tikarna med patologiskt förändrat endometrium inte i samma cyklusstadium. Antalet endometriella kärl hos denna tik utmärkte sig inte i resultatet.

Denna studie innehöll endast fem tikar i var och en av de två kategorierna. Detta är ett relativt litet studiematerial vilket bör beaktas vid tolkningen av resultaten. För säkrare resultat skulle ett större studiematerial vara önskvärt.

En relativt stor spridning i värdena kan ses, både vad det gäller antal kärl per synfält och antal kärl per individ. Det förstnämnda kan exempelvis bero på i vilket skikt av endometriet enskilda synfält finns belägna, samt hur stor del av endometriets tjocklek som utgörs av ytliga respektive djupa körtlar. Det sistnämnda kan bero på att en rad faktorer skiljer sig mellan tikarna, såsom ålder, ras, vikt, exakt dag i löpcykeln samt reproduktionshistoria. Huruvida tikarna tidigare är behandlade med hormoner är okänt, och detta kan också tänkas spela in.

Med enbart histologisk undersökning av ett HE-preparat kan det vara omöjligt att avgöra huruvida en struktur är ett kärl eller ej. Ett sätt att uppnå högre säkerhet i resultatet skulle vara att använda sig av immunohistokemi och färga in för lämplig kärlväggskomponent (t.ex. endotelin eller von Willebrands faktor), så att det även i tveksamma fall skulle kunna avgöras huruvida en kärlliknande struktur är ett kärl eller inte.

Vaskulariseringen i tikendometrium är än så länge relativt outforskad. Det samma gäller för livmodersekretets viskositet under olika cykelstadier hos tik. Det vore mycket intressant att jämföra viskositeten under diöstrus hos tikar av raser med hög respektive låg risk för livmoderpatologi för att se om det skiljer sig. Fler studier inom området skulle verkligen vara önskvärt för en bättre förståelse av patogenesen för tikens livmodersjukdomar.

## REFERENSER

- Austad, R., Blom, A. K., Boerresen, B. (1979). Pyometra in the dog III.- a pathophysiological investigation. III. Plasma progesterone levels and ovarian morphology. *Nordisk Veterinärmedicin*, 31, 258-262.
- Axnér, E. (2010). Kapitel 2. Fysiologi Hondjur. *Kompendium – Reproduktion hos hund*. 1: upplagan. Avdelningen för reproduktion, Institutionen för kliniska vetenskaper, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Barrau, M. D., Abel, J. H., Verhage, H. G. & Tietz, W. J. (1975). Development of the endometrium during the estrous cycle in the bitch. *American Journal of Anatomy*, 142, 47-65.
- Bartel, C., Schönkypf, S., Walter, I. (2010). Pseudo-placentational endometrial cysts in a bitch. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 39, 74-80.
- Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124, 200-210.
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Van Den Broeck, W. & Coryn, M. (2001). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: Should the two entities be disconnected? *Theriogenology*, 55, 1509-1519.
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Tshamala, M. (2002a). Is mechanically induced cystic endometrial hyperplasia (CEH) a suitable model for study of spontaneously occurring CEH in the uterus of the bitch? *Reproduction of Domestic Animals*, 37, 152-157.
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Simoens, P. & Coryn, M. (2002b). Estrogen-alpha and progesterone receptor expression in cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch. *Animal Reproduction Science*, 70, 251-259.
- De Cock, H., Vermeirsch, H., Ducatelle, R., De Schepper J. (1997). Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in cystic-endometritis-pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*, 48, 1035-1047.
- De Cock, H., Ducatelle, R., Tilmant, K., De Schepper, J. (2002). Possible role for insulin-like growth factor-I in the pathogenesis of cystic endometrial hyperplasia pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*, 57, 2271-2287.
- Dhaliwal, G. K., Wray, C. & Noakes, D. E. (1998). Uterine bacterial flora and uterine lesions in bitches with cystic endometrial hyperplasia (pyometra). *Veterinary Record*, 143, 659-661.
- Dhaliwal, G. K., England, G. C. W., Noakes, D. E. (1999). Oestrogen and progesterone receptors in the uterine wall of bitches with cystic endometrial hyperplasia/pyometra. *Veterinary Record*, 145, 455-47.
- Dow, C. (1957). The Cystic Hyperplasia-Pyometra Complex in the Bitch. *The Veterinary Record*, 69, 1409-1414.
- Dow, C. (1958). The Cystic Hyperplasia-Pyometra Complex in the Bitch. *The Veterinary Record*, 70, 1102-1108.
- Dow, C. (1959). The Cystic Hyperplasia-Pyometra Complex in the Bitch. *Journal of Comparative Pathology*, 69, 237-250.
- Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B. N., Hedhammar, Å., Olson, P., Lagerstedt, A. S. (2001). Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15, 530-538.
- England, G. C. W., Moxon, R., Freeman, S. L. (2012). Delayed uterine fluid clearance and reduced uterine perfusion in bitches with endometrial hyperplasia and clinical management with postmating antibiotic. *Theriogenology*, 78, 1611-1617.
- Faldyna, M., Laznicka, A., Toman, M. (2001). Immunosuppression in bitches with pyometra. *Journal of Small Animal Practice*, 42, 5-10.
- Feldman, E. C. & Nelson, R. W. (2004). Ovarian Cycle and Vaginal Cytology. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. 3 ed. St. Louis: Saunders.

- Fidler, I. J., Brodey, R. S., Howson, A. E., Cohen, D. (1966). Relationship of estrous irregularity, pseudopregnancy, and pregnancy to canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 149, 1043-1046.
- Fitch, K. L. (1963). A study of uterine glycogen during the estrous cycle of the dog. *Journal of Morphology*, 113, 331-343.
- Galabova, G, Egerbacher, M., Aurich, JE., Leitner, M., Walter, I. (2003). Morphological changes of the endometrial epithelium in the bitch during metoestrus and anoestrus, *Reproduction of Domestic Animals*, 38, 415-420.
- Gargett, C. E., Rogers, P. A. W. (2001). Human endometrial angiogenesis. *Reproduction*, 121, 161-166.
- Girling, J. E., Rogers, P. A. W. (2005). Recent advances in endometrial angiogenesis research. *Angiogenesis*, 8, 89-99.
- Hadley, J. C. (1975). Unconjugated oestrogen and progesterone concentrations in the blood of bitches with false pregnancy and pyometra. *Veterinary Record*, 96, 545-547.
- Hagman, R., Kühn, I. (2002). *Escherichia coli* strains isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra: comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology*, 84, 143-153.
- Hagman, R., Lagerstedt, A., Hedhammar, Å., Egenvall, A. (2011). A breed-matched case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. *Theriogenology*, 75, 1251-1257.
- Hardy, R. M. & Osborne, C. A. (1974). Canine pyometra: pathophysiology, diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesions. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 10, 245-268.
- Ishiguro, K., Baba, E., Torii, R., Tamada, H., Kawate, N., Hatoya, S., Wijewardana, V., Kumagai, D., Sugiura, K., Sawada, T., Inaba, T. (2007). Reduction of mucin-1 gene expression associated with increased *Escherichia coli* adherence in the canine uterus in the early stage of dioestrous. *The Veterinary Journal*, 173, 325-332.
- Kida, K., Baba, E., Torii, R., Kawate, N., Hatoya, S., Wijewardana, V., Sugiura, K., Sawada, T., Tamada, H., Inaba, T. (2006). Lactoferrin expression in the canine uterus during the estrous cycle and with pyometra. *Theriogenology*, 66, 1325-1333.
- Kzymowski, T., Stefanczyk-Krzyszowska, S. (2002). Uterine blood supply as a main factor involved in the regulation of the estrous cycle—a new theory. *Reproductive Biology*, 2, 93-114.
- Leese, H. J., Hugentobler, S. A., Gray, S. M., Morris, D. G., Sturmey, R. G., Whitear, S., Sreenan, J. M. (2008). Female reproductive tract fluids; composition, mechanism of formation and potential role in the developmental origins of health and disease. *Reproduction, Fertility and Development*, 20, 1-8.
- Lessey, B. A., Wahawisan, R., Gorell, T. A. (1981). Hormonal regulation of cytoplasmic estrogen and progesterone receptors in the beagle uterus and oviduct, *Molecular Cell Endocrinology*, 21, 171-180.
- Mescher, A. L. (2010). The female reproductive system. *Junqueira's Basic Histology*. 12th ed. McGraw Hill Companies.
- Mosier, D. A. (2007). Vascular disorders and thrombosis. *Pathologic basis of veterinary disease* by McGavin, M. D. & Zachary, J. F. 4th ed. Mosby Elsevier, St. Louis Missouri.
- Mulligan, RM. (1942). Histological studies on the canine female genital tract, *Journal of Morphology*, 71, 431-443.
- Niskanen, M., Thrusfield, M. V. (1998). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in finnish dogs. *Veterinary Record*, 143, 493-498.
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J. & England, G. C. W. (2001). Part One: Normal oestrous cycles. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 3-37. 8th ed. WB Saunders.

- Nomura, K. (1983). Canine pyometra with cystic endometrial hyperplasia experimentally induced by *E. coli* inoculation. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 45, 237-240.
- Nomura, K., Kawasoe, K., Shimada, Y. (1990). Histological observations of canine cystic endometrial hyperplasia induced by intrauterine scratching. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 52, 979-983.
- Nomura, K. (1994). Induction of deciduoma in a dog. *Journal of Veterinary Medical Science*, 56, 365-369.
- Nomura, K. (1995a). Histological evaluation of canine deciduoma induced by silk suture. *Journal of Veterinary Medical Science*, 57, 9-16.
- Nomura, K. (1995b). Histological evaluation of the canine decidual reactions induced by intraluminal injection of olive oil. *Journal of Veterinary Medical Science*, 57, 71-74.
- Nomura, K. (1996). Canine deciduoma induced by intraluminal insertion of uterine grafts. *Journal of Veterinary Medical Science*, 58, 151-155.
- Nomura, K. (1997a). Radiographical and histological evaluation of canine decidual reaction induced by intraluminal injection of bouillon solution mixed with or without barium sulfate. *Journal of Veterinary Medical Science*, 58, 145-149.
- Nomura, K. (1997b). Induction of canine deciduoma in some reproductive stages with the different conditions of corpora lutea. *Journal of Veterinary Medical Science*, 59, 185-190.
- Nomura, K., Makino, T. (1997). Effect of ovariectomy in the early first half of the diestrus on induction or maintenance of canine deciduoma. *Journal of Veterinary Medical Science*, 59, 227-230.
- Nomura, K., Nishida, A. (1998). Histological variations of the canine deciduoma induced in non pregnant horn at different stages of unilateral pregnancy. *Journal of Veterinary Medical Science*, 60, 623-626.
- Nomura, K., Funahashi, H. (1999). Histological characteristics of canine deciduoma induced by intrauterine inoculation of *E. coli* suspension. *Journal of Veterinary Medical Science*, 61, 433-438.
- Roberts, R. M., Bazer, F. W. (1988). The functions of uterine secretions. *Journal of Reproduction and Fertility*, 82, 875-892.
- Salleh, N., Baines, D. L., Naftalin, R. J., Milligan, S. R. (2005). The hormonal control of uterine luminal fluid secretion and absorption. *Journal of Membrane Biology*, 206, 17-28.
- Sandholm, M., Vasenius, H. & Kivisto, A. K. (1975). Pathogenesis of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 167, 1006-1010.
- Schlafer, D. H., Gifford, A. T. (2008). Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-placentational endometrial hyperplasia, and other cystic conditions of the canine and feline uterus. *Theriogenology*, 70, 349-358.
- Sugiura, K., Nishikawa, M., Ishiguro, K., Tajima, T., Inaba, M., Torii, R., Hatoya, S., Wijewardana, V., Kumagai, D., Tamada, H., Sawada, T., Ikehara, S., Inaba, T. (2004). Effect of ovarian hormones on periodical changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. *Immunobiology*, 209, 619-627.
- Teunissen, G. H. B. (1952). The development of endometritis in the dog and the effect of oestradiol and progesterone on the uterus. *Acta Endocrinologica.*, 9, 407-420.
- Tsumagari, S., Ishinazaka, T., Kamata, H., Ohba, S., Tanaka, S., Ishii, M., Memon, M. A. (2005). Induction of canine pyometra by inoculation of *Escherichia coli* into the uterus and its relationship to reproductive features. *Animal Reproduction Science*, 87, 301-308.
- Van Cruchten, S., Van den Broeck, W., D'haeseleer, M., Simoens, P. (2004). Proliferation patterns in the canine endometrium during the estrous cycle. *Theriogenology*, 62, 631-641.

- Ververidis, H. N., Boscov, C. M., Stefanakis, A., Saratsis, P., Stamou, A. I., Krambovitis, E. (2004). Serum estradiol-17 $\beta$ , progesterone and respective uterine cytosol receptor concentrations in bitches with spontaneous pyometra. *Theriogenology*, 62, 614-623.
- Walter, I., Galabova, G., Dimov, D., Hemlreich, M. (2011). The morphological basis of proestrus endometrial bleeding in canines. *Theriogenology*, 75, 411-420.
- Withers, A. R., Whitney, J. C. (1967). The response of the bitch to treatment with medroxyprogesterone acetate. *Journal of Small Animal Practice*, 8, 265-271.
- Yasunaga, Y., Takeuchi, T., Shimokawa, T., Asano, A., Nabeta, M., Ohta, Y. (2012). Sugar expression in the mucosae of the canine uterus and vagina during the oestrous cycle and with pyometra. *Veterinary Journal*, in press.