

Histopathology and distribution of inflammatory cells in the endometrium, cervix and vagina of gilts culled due to vaginal discharge

Peerakarn Preyapat¹ Poondej Charunmethee¹ Poohrich Sinwat¹ Yuttapol Teamsuwan²
Padet Tummaruk^{2*}

¹6th Year Veterinary Students, Academic Year 2008, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

²Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

*Corresponding author, E-mail address: Padet.T@chula.ac.th

Abstract

The present study aimed to determine histology and infiltration of inflammatory cells in the endometrium, cervix and vagina of 42 gilts culled due to vaginal discharge. Gross morphology, histology and infiltration of inflammatory cells in the mucosa of the uterus, cervix and vagina of reproductive tracts were investigated. Six tissue section from each gilts including 4 uterine sections, 1 cervix and 1 vagina, were selected to evaluate. For each section and each layer, 20 microscopic fields were arbitrarily selected for investigation (312,500 μm^2) under light microscope. Ocular micrometer corresponded to 15,625 μm^2 (400x) of real tissue area was used for counting the number of immune cells. The gilts could be classified according to the ovarian appearance to be inactive (4 gilts; 9.5%), follicular (10 gilts; 23.8%) and luteal phases (28 gilts; 66.7%). Of all the gilts, 10 gilts (23.8%) had endometritis, 7 gilts (16.7%) had cervicitis and 10 gilts (23.8%) had vaginitis/vulvitis. Ovarian disorder was found in 11 gilts (26.1%) including single ovarian cyst 3 gilts (7.1%), multiple ovarian cyst 5 gilts (11.9%) and others 3 gilts. The number of endometrial glands was 693.4, 344.5 and 147.8 glands/20 squares in luteal, follicular and pre-pubertal phases, respectively. Number of leukocytes subsets in different layers of the endometrium varied according to the reproductive cycles and the inflammation of the uterus. Neutrophils in the subepithelial layers of the endometrium in the follicular phase was higher than the luteal phase ($P=0.01$). Eosinophils in the luteal phase was higher than the follicular phases ($P<0.001$). Plasma cells in the luteal phase was higher than follicular and inactive phases ($P<0.05$). Gilts that had endometritis had a 4 times higher level of subepithelial neutrophils than gilts that had no endometritis ($P<0.001$). In conclusions, most of the leukocytes subpopulation in the reproductive tracts of the gilts that had vaginal discharge remained function under the influence of the reproductive cycles. Neutrophils and plasma cells reflected the inflammatory process of the endometrium. Of all the gilts, 23.8% had severe endometritis, while the rest were recovering via the function of the local immune cells in the endometrium.

Keywords: Gilt, Vulva discharge, Histopathology, Immune cells

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา และการกระจายตัวของเซลล์อักเสบในเนื้อเยื่อ โพรงมดลูก คอมดลูก และ ช่องคลอดของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจาก หนองไหลจากช่องคลอด

พีรภานต์ ปรียะพัชร¹ พูนเดช จรูญเมธี¹ ภูริช สนิวัต¹ ยุทธพล เทียมสุวรรณ² เพ็ญจ ชรรมรักษ์^{2*}

¹นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2551 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

²ภาควิชาสัตวศาสตร์ ฐานเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: Padet.T@chula.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา และการกระจายตัวของเซลล์อักเสบภายในเยื่อโพรงมดลูก คอมดลูก และช่องคลอด ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาหนองไหลจากช่องคลอด จำนวน 42 ตัว โดยการตรวจทอทางเดินระบบสืบพันธุ์โดยชันสูตรซาก ตรวจทางจุลพยาธิวิทยา และนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ในชั้นต่างๆ ของเยื่อโพรงมดลูก คอมดลูก และช่องคลอด สุกรสาวแต่ละตัวจะทำการศึกษา 6 ตำแหน่ง โดยสุ่มจากมดลูกทั้งสองข้าง 4 ตำแหน่ง คอมดลูก 1 ตำแหน่ง และช่องคลอด 1 ตำแหน่ง ในแต่ละชั้นเนื้อจะตรวจในพื้นที่ 20 ช่อง (312,500 ตารางไมโครเมตร) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง กำลังขยาย 100 และ 400 เท่า ร่วมกับการใช้ ocular micrometer ขนาด 15,625 ตารางไมโครเมตร (ที่กำลังขยาย 400x) ในการนับจำนวนเซลล์ ผลการศึกษาพบว่าสุกรสาวที่มีปัญหาหนองไหลจากช่องคลอดสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ตามวงรอบการเป็นสัด ได้แก่ ระยะรังไข่ไม่ทำงาน (inactive ovaries) (4 ตัว; 9.5%) ระยะฟอลลิเคิล (10 ตัว; 23.8%) และระยะลูทีอัล (28 ตัว; 66.7%) สุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาหนองไหลเกิดจากมดลูกอักเสบแบบเป็นหนอง 10 ตัว (23.8%) คอมดลูกอักเสบ 7 ตัว (16.7%) และช่องคลอดอักเสบ 10 ตัว (23.8%) ตรวจพบความผิดปกติของรังไข่ในสุกรสาว 11 ตัว (26.1%) เป็นถุงน้ำรังไข่ใบเดียว 3 ตัว (7.1%) แบบหลายใบ 5 ตัว (11.9%) และอื่นๆ 3 ตัว ในระยะลูทีอัลพบจำนวนต่อมมดลูก 693.4 ต่อม/พื้นที่ 20 ช่อง ระยะฟอลลิเคิลพบ 344.5 ต่อม/พื้นที่ 20 ช่อง และ ระยะรังไข่ไม่ทำงานพบ 147.8 ต่อม/พื้นที่ 20 ช่อง เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ในเยื่อผนังมดลูกมีการเพิ่มปริมาณและการกระจายตัวแตกต่างกันตามวงรอบการเป็นสัด และการเกิดภาวะมดลูกอักเสบ นิโตรฟิลในชั้นใต้เยื่อโพรงมดลูกในระยะฟอลลิเคิลมีปริมาณมากกว่าระยะลูทีอัลอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.01$) อีโอซิโนฟิลในระยะลูทีอัลมีปริมาณมากกว่าระยะฟอลลิเคิลอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.001$) และ พลาสมาเซลล์ในระยะลูทีอัลสูงกว่าระยะฟอลลิเคิลและระยะรังไข่ไม่ทำงานอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในสุกรสาวที่พบมดลูกอักเสบ ปริมาณนิโตรฟิลในชั้นใต้เยื่อผนังมดลูกจะสูงขึ้น 4 เท่า ($P<0.001$). โดยสรุป กลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดขาวส่วนใหญ่ในทอทางเดินระบบสืบพันธุ์ของสุกรสาวที่มีปัญหาหนองไหลยังคงทำงานได้ตามปกติภายใต้อิทธิพลของวงจรทางระบบสืบพันธุ์ นิโตรฟิล และพลาสมาเซลล์ บ่งชี้กระบวนการอักเสบในเยื่อผนังมดลูก สุกรสาว 23.8% ยังคงมีการอักเสบของมดลูกรุนแรง ในขณะที่เหลือกำลังอยู่ในระยะฟื้นฟูสภาพภายใต้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ที่อยู่ภายในเยื่อโพรงมดลูก

คำสำคัญ : สุกรสาว หนองไหลจากช่องคลอด จุลพยาธิวิทยา เซลล์ระบบภูมิคุ้มกัน

บทนำ

ปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ที่เป็นสาเหตุของการคัดทิ้งสุกรสาวและแม่สุกรอายุน้อย (gilts and young sows) ที่พบบ่อย ได้แก่ ไม่เป็นสัด (anoestrus) พบหนองไหลจากช่องคลอด (vaginal discharge syndrome, VDS) ผสมซ้ำ (repeat mating) แท้ง (abortion) และตรวจพบไม่ท้อง (not pregnant) (Tummaruk et al., 2006, 2009; Engblom et al., 2007) ปัญหาหนองไหลจากช่องคลอดในบางฟาร์มในยุโรปพบสูงถึง 23.6% (Muirhead, 1986) แต่ในประเทศไทยยังไม่เคยมีการศึกษา VDS หมายถึง การพบมีสิ่งคัดหลั่งออกมาจากปากช่องคลอด หากสิ่งคัดหลั่งที่ออกมา มีลักษณะเป็นหนองและมีปริมาณมาก อาจบ่งชี้ถึงภาวะการอักเสบของโพรงมดลูกได้ โดยทั่วไปการอักเสบของมดลูกสามารถแบ่งตามความรุนแรงได้ 3 ชนิด ได้แก่ เนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบ (endometritis) มดลูกอักเสบ (metritis) และมดลูกอักเสบแบบมีหนอง (pyometra) (Lewis, 1997)

VDS เป็นปัญหาที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมสุกร เนื่องจากทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ จากการคัดทิ้งสุกรสาวและแม่สุกรอายุน้อย และในแม่สุกรที่ไม่ถูกคัดทิ้งมักพบขนาดครอกเล็ก และอัตราการเข้าคลอดต่ำ (Oravainen et al., 2006) ดังนั้นการวินิจฉัยและรักษาในระยะแรกจึงมีความสำคัญในการช่วยลดความสูญเสีย การวินิจฉัยและรักษา VDS ในสุกร ในปัจจุบันยังไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ เนื่องจากยังขาดข้อมูลพื้นฐานทางด้านพยาธิวิทยา จุลกายวิภาค/จุลพยาธิวิทยา ตลอดจนกลไกและการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว หรือเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกสุกร (de Winter et al., 1995; Dalin et al., 2004)

โดยทั่วไปวิธีการที่ใช้ในการวินิจฉัยปัญหาหมดลูกอักเสบในสัตว์ปศุสัตว์ ประกอบด้วย การวินิจฉัยทางชีววิทยา (Oravainen et al., 2006) การเก็บชิ้นเนื้อเยื่อโพรงมดลูก (biopsy) (Lewis, 1997) และการผ่าซากชันสูตรอวัยวะระบบสืบพันธุ์เพศเมียร่วมกับการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา (Dalin et al., 2004) วิธีการหลังเป็นวิธีการวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพ และแสดงให้เห็นกลไกการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกสุกรได้ดี แต่สามารถทำได้เฉพาะในกรณีที่สุกรถูกคัดทิ้งแล้วเท่านั้น Dalin et al. (2004) พบว่าการกระจายตัวและจำนวนของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกสุกรปกติ มีความแตกต่างจากสุกรที่มีภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบ ความรุนแรงของภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบในสุกร สามารถแยกได้ จากชนิดและ

ปริมาณของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันที่พบในเนื้อเยื่อโพรงมดลูก ได้แก่ นิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ และพลาสมาเซลล์ (de Winter et al., 1995; Dalin et al., 2004) De Winter et al. (1995) ศึกษาแนวทางการวินิจฉัยประเภทของเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบในสุกรจากชนิด และจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อโพรงมดลูก โดยพบว่าเนื้อเยื่อโพรงมดลูกสุกรปกติจะพบเซลล์อักเสบจำนวนน้อยกว่า 15 เซลล์ต่อพื้นที่ศึกษา ที่กำลังขยาย 400 เท่า แต่ถ้าเกิดภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบแบบเฉียบพลันในระดับความรุนแรงมาก (severe acute) จะพบนิวโทรฟิลจำนวนมากกว่า 40 เซลล์ต่อพื้นที่ศึกษา ร่วมกับเยื่อหุ้มและต่อมมดลูกถูกทำลายเสียหาย กรณีแบบเฉียบพลันในระดับความรุนแรงปานกลาง (moderate acute) จะพบนิวโทรฟิลจำนวนมากกว่า 20 เซลล์ต่อพื้นที่ศึกษา กรณีแบบกึ่งเฉียบพลัน (subacute) จะพบนิวโทรฟิล และลิมโฟไซต์เพิ่มจำนวนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญและกรณีแบบเรื้อรัง (chronic) จะพบลิมโฟไซต์ พลาสมาเซลล์ และแมโครฟาจเพิ่มจำนวนสูงขึ้น อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีการศึกษา การกระจายตัวของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันในเนื้อเยื่อท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมีย (female reproductive tracts) ในสุกรสาวที่มีปัญหาหนองไหลจากช่องคลอด เพื่อช่วยในการวินิจฉัยสาเหตุ และกลไก (mechanism) การอักเสบของท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ในสุกรเพศเมียมาก่อน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณและการกระจายตัวของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน และลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากปัญหาหนองไหลจากช่องคลอด

วัสดุและวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์ของสุกรสาวพันธุ์แลนด์เรซ x ยอร์กเชียร์ (LY) ที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาหนองไหล จำนวน 42 ตัว จากฟาร์มสุกรเอกชน 2 ฟาร์ม พร้อม ข้อมูล เบอร์หู พันธุ์ อายุ น้ำหนักตัว (กิโลกรัม) การนำเข้าฝูง การเป็นสัด การผสมพันธุ์ และสาเหตุการคัดทิ้ง อวัยวะระบบสืบพันธุ์สุกรสาวเหล่านี้ถูกเก็บจากโรงฆ่าสัตว์และส่งห้องปฏิบัติการชันสูตร คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใน 24 ชั่วโมง โดยบรรจุภายในกล่องโฟมบรรจุน้ำแข็ง ทำการตรวจชันสูตรความผิดปกติทางพยาธิวิทยา แยกอวัยวะออกเป็นรังไข่ ท่อนำไข่ มดลูก คอมมดลูก และช่องคลอด ทำการชั่งน้ำหนักมดลูกที่ตัดแยกออกจากเนื้อเยื่อโดยรอบและอวัยวะ

ส่วนอื่นออกแล้วโดยใช้เครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิทัล (KD 300, max=5 kg, d=1 g, TANITA corporation, Bangkok, Thailand) ตรวจสอบความผิดปกติต่างๆ และเปิดผ่าตามแนวยาวเพื่อตรวจสอบความผิดปกติในโพรงมดลูกและเนื้อเยื่อโพรงมดลูก ได้แก่ การบวมน้ำ การคั่งเลือด (congestion) และหนองภายในมดลูก และตรวจสอบความผิดปกติของคอมมดลูกและช่องคลอดในลักษณะเดียวกัน

ระยะของวงจรการเป็นสัด (stage of oestrus cycle)

สุกรสาวถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ตามระยะของวงจรการเป็นสัด (stage of oestrus cycle) โดยใช้ลักษณะที่ปรากฏบนรังไข่เป็นเกณฑ์ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 สุกรสาวระยะฟอลลิเคิล (follicular phase) พบฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง >7 มิลลิเมตรบนรังไข่ กลุ่มที่ 2 สุกรสาวระยะลูเตียล (luteal phase) พบคอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum, CL) บนรังไข่ และกลุ่มที่ 3 สุกรสาวระยะรังไข่ไม่ทำงาน (inactive phase) โดยไม่พบทั้ง CL และฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง >7 มิลลิเมตรบนรังไข่

การเก็บซีรัมและตรวจฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

เก็บเลือด จากหลอดเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (jugular vein) ประมาณ 10 มิลลิลิตร ในสุกรสาวทุกตัวก่อนส่งโรงฆ่าสัตว์ และส่งเข้าห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างเลือดมาแยกซีรัมโดยปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที (1,160xg) นาน 10 นาที เก็บซีรัมที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P4) โดยวิธี EIA (Enzyme-immunoassay) (Graham et al., 2002; Khawnual et al., 2006) ค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย (coefficient of variation, CV) ชนิด inter assay ของกลุ่มควบคุมต่ำและสูงเท่ากับ 16.44% และ 7.04% ชนิด intra assay ของกลุ่มควบคุมต่ำและสูงเท่ากับ 6.15% และ 9.05% ในการศึกษาครั้งนี้ ระดับ P4 ต่ำสุดที่ตรวจได้ คือ 0.1987 นาโนโมล/ลิตร

การเตรียมชิ้นเนื้อ

เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อขนาด 1x3 เซนติเมตร จากส่วนต้นกลาง และท้ายของผนังปีกมดลูกทั้งสองข้าง ตัวมดลูก คอมมดลูก และช่องคลอด ตำแหน่งละ 1 ตัวอย่าง คองชิ้นเนื้อใน 10% neutral buffer formalin เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการล้าง (washing) การคั่งน้ำออกจาก

เนื้อเยื่อ (dehydration) การเคลียร์ (clearing) การแทรกซึมของพาราฟิน (infiltration) โดยกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเหล่านี้ใช้เครื่อง Automatic tissue processor (REICHERT JUNG HISTOKINETTE 2000®, Cambridge Instruments company, UK) ทำการฝังเนื้อเยื่อลงในพาราฟิน (embedding) ทำการตัดชิ้นเนื้อ (sectioning) โดยใช้ไมโครทอม (microtome) (SHANDON AS 325 RETRACTION®, Thermo Fisher Scientific, Inc., USA) ให้ได้ความหนาของชิ้นเนื้อประมาณ 5 ไมครอน จากนั้นจะทำการติดชิ้นเนื้อบนสไลด์ (affixing) เมื่อชิ้นเนื้อแห้งสนิท นำเข้าสู่กระบวนการย้อมสี (staining) ด้วยสีย้อม hematoxylin & eosin (H&E) และปิดด้วย cover glass (mounting)

การกำหนดพารามิเตอร์ที่ต้องบันทึกและการนับจำนวนของเม็ดเลือดขาว

เนื้อเยื่อมดลูกสุกรสาวแต่ละตัวจะทำการศึกษา 6 ตำแหน่ง โดย สุ่มจากมดลูกทั้งสองข้าง 4 ตำแหน่ง คอมมดลูก 1 ตำแหน่ง และช่องคลอด 1 ตำแหน่ง ในแต่ละชิ้นเนื้อจะตรวจ 20 พื้นที่ (microscopic fields) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง (light microscope) กำลังขยาย 100X และ 400X ร่วมกับการใช้ ocular micrometer (ocular reticule) ในการนับจำนวนเซลล์ โดยมีพื้นที่ขนาด 15,625 ตารางไมโครเมตร และมีความยาว 125 ไมโครเมตร (กำลังขยาย 400X) และมีพื้นที่ขนาด 250,000 ตารางไมโครเมตร (กำลังขยาย 100X) แบ่งส่วนของเนื้อเยื่อโพรงมดลูกเป็น 3 ชั้น คือ ชั้นเยื่อโพรงมดลูก ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อโพรงมดลูก และชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของต่อมมดลูก ส่วนชั้นของเนื้อเยื่อโพรงมดลูก และช่องคลอดแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ชั้นเยื่อโพรงมดลูก และชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อโพรงมดลูก โดยในแต่ละพื้นที่ทำการศึกษาและบันทึกข้อมูลในชั้นต่างๆ ของเนื้อเยื่อตามพารามิเตอร์ต่างๆ ที่มีการกำหนดเกณฑ์ในการประเมินไว้แล้วก่อนหน้านั้นในมดลูกของแม่สุกรปกติ (Kaeoket et al. 2001) พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการ ประเมิน ประกอบด้วย

- ลักษณะของเซลล์เยื่อโพรงมดลูก คอมมดลูก และช่องคลอด ได้แก่ เซลล์เยื่อแบบ pseudostratified columnar, stratified squamous, simple columnar หรือ simple cuboidal epithelium

- ความสูงของเยื่อโพรงมดลูก คอมมดลูก และช่องคลอด วัดตั้งแต่ด้านล่างของเยื่อโพรงมดลูก (basement membrane) ถึงชั้นเยื่อโพรงมดลูก (surface) ด้านบนสุด วัด 20 ตำแหน่ง ด้วย

กำลังขยาย 400X

- จำนวนต่อมมดลูกภายในชั้นใต้เยื่อบุผิว (glandular connective tissue layer) ของมดลูก โดยนับ 20 พื้นที่ ด้วยกำลังขยาย 100X

- จำนวนหลอดเลือดตัดตามขวางของมดลูก คอ มดลูก และช่องคลอด นับ 20 พื้นที่ กำลังขยาย 400X

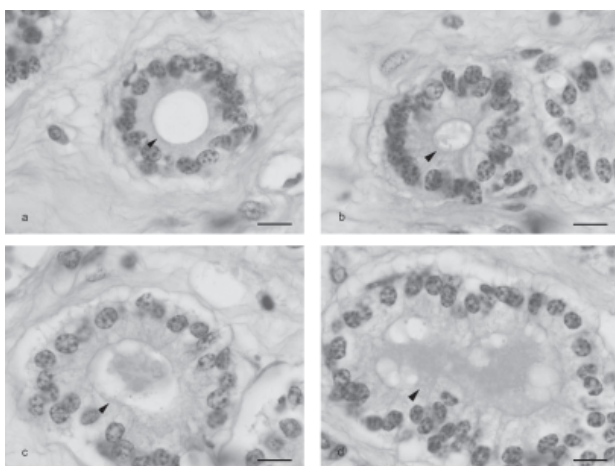
- จำนวน secretory vesicle ภายในต่อมมดลูก โดยให้คะแนนเป็น 0 = ไม่พบ 1 = เล็กน้อย 2 = ปานกลาง 3 = มาก ด้วย กำลังขยาย 400X (รูปที่ 1)

- ลักษณะการบวมน้ำของชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อบุผิว โดยให้คะแนนเป็น 0 = ไม่พบ 1 = เล็กน้อย 2 = ปานกลาง 3 = มาก ด้วย กำลังขยาย 100X (รูปที่ 2)

- จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล และแมโครฟาจ ภายในชั้นเยื่อบุผิวของมดลูก คอ มดลูก และช่องคลอด นับ 20 พื้นที่ ด้วยกำลังขยาย 400X

- จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล แมโครฟาจ พลาสมาเซลล์ และอีโอซิโนฟิล ที่ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อบุผิว ของมดลูก คอ มดลูก และช่องคลอด นับ 20 พื้นที่ ด้วยกำลังขยาย 400X

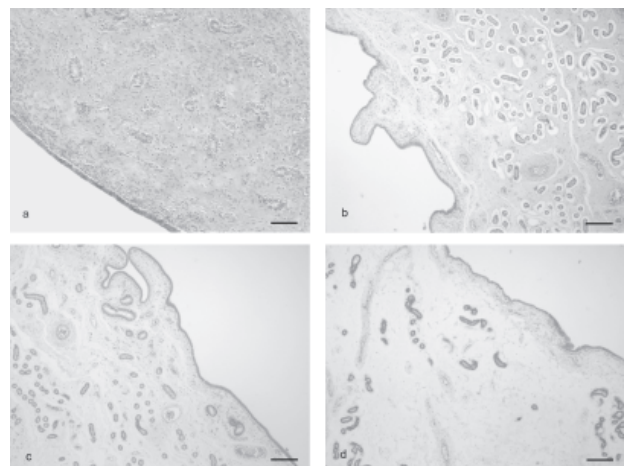
- จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล แมโครฟาจ พลาสมาเซลล์ และอีโอซิโนฟิล ที่ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของชั้นต่อมมดลูก นับ 20 พื้นที่ ด้วยกำลังขยาย 400X



รูปที่ 1 Secretory vesicle ภายในต่อมมดลูก (หัวลูกศร) (กำลังขยาย 1000X), (a) คะแนน 0 = ไม่พบ (b) คะแนน 1 = เล็กน้อย (c) คะแนน 2= ปานกลาง (d) คะแนน 3 = มาก, แถบสีดำ = 10 µm

การแบ่งระดับความรุนแรงการเกิดภาวะเนื้อเยื่อบุโพรงมดลูกอักเสบ

ในการศึกษานี้ได้จัดแบ่งระดับความรุนแรงของภาวะเนื้อเยื่อบุโพรงมดลูกอักเสบในแต่ละระยะของวงจรการเป็นสัดจากปริมาณของนิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ และพลาสมาเซลล์ ที่ตรวจนับได้ และอ้างอิงจากการศึกษาก่อนหน้านี้ ในแม่สุกรปกติ (Kaeoket et al., 2001) และ แม่สุกรที่เป็นมดลูกอักเสบ (de Winter et al.,1995) โดยระยะเฉียบพลันจะพบนิวโทรฟิล ระยะกึ่งเฉียบพลันจะพบนิวโทรฟิลและลิมโฟไซต์ ระยะเรื้อรังจะพบนิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ และพลาสมาเซลล์ และทำการแบ่งระดับความรุนแรงจากปริมาณของนิวโทรฟิลตามระยะวงจรการเป็นสัด โดยระยะฟอลลิเคิล “ปกติ” พบนิวโทรฟิลน้อยกว่า 40 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง “รุนแรงน้อย” พบนิวโทรฟิลน้อยกว่า 80 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง “รุนแรงปานกลาง” พบนิวโทรฟิลน้อยกว่า 120 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง และ “รุนแรงมาก” พบนิวโทรฟิลมากกว่า 120 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่องระยะลูเตียล “ปกติ” พบนิวโทรฟิลน้อยกว่า 3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง “รุนแรงน้อย” พบนิวโทรฟิลน้อยกว่า 9 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง “รุนแรงปานกลาง” พบนิวโทรฟิลน้อยกว่า 15 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง “รุนแรงมาก” พบนิวโทรฟิลมากกว่า 15 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง และระยะรังไข่ไม่ทำงาน “ปกติ” ไม่พบนิวโทรฟิล “รุนแรงน้อย” พบนิวโทรฟิลน้อยกว่า 2 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง “รุนแรงปานกลาง” พบนิวโทรฟิลน้อยกว่า 3 เซลล์/



รูปที่ 2 ระดับการบวมน้ำในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อบุโพรงมดลูกสุกรสาว (กำลังขยาย 40X) (a) คะแนน 0 = ไม่พบ (b) คะแนน 1 = เล็กน้อย (c) คะแนน 2 = ปานกลาง (d) คะแนน 3 = มาก, แถบสีดำ = 200 µm

พื้นที่ 20 ช่อง และ “รุนแรงมาก” พบนิวโทรฟิลมากกว่า 3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SAS version 9.0 (SAS Inst Cary NC USA, 2002) วิเคราะห์การกระจายแบบปกติของข้อมูล (normal distribution) ด้วยวิธี UNIVARIATE procedure (option NORMAL) ในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายไม่ปกติ ทำการเปลี่ยนข้อมูลให้อยู่ในรูป logarithm วิเคราะห์จำนวนของเม็ดเลือดขาว หลอดเลือด และต่อมมดลูกตัดตามขวางใน 20 พื้นที่ในแต่ละชั้นเนื้อที่ทำการศึกษา (312,500 ตารางไมโครเมตร) ด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) โดยใช้ General linear model procedure โมเดลทางสถิติประกอบด้วย 2 โมเดล ได้แก่ โมเดลที่ 1 ศึกษาตัวแปรตาม (dependent variable) ได้แก่ จำนวนลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล แมคโครฟาจ อีโอซิโนฟิล และพลาสมาเซลล์ ตัวแปรอิสระ (independent variable) ได้แก่ กลุ่มสุกร (ระยะรังไข่ไม่ทำงาน ระยะลูทีล และ ระยะฟอลลิเคิล) และการอักเสบของอวัยวะ (อักเสบ และไม่อักเสบ) โมเดลที่ 2 ศึกษาตัวแปรตาม ได้แก่ ความสูงของเยื่อผิวโพรงมดลูก คอมดลูก และช่องคลอด จำนวนต่อมมดลูกภายในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของต่อมมดลูก และจำนวนหลอดเลือดตัดตามขวางของมดลูก คอมดลูก และช่องคลอด ตัวแปรอิสระ ได้แก่ กลุ่มสุกร (3 กลุ่ม) ทำการคำนวณค่าเฉลี่ย Least square means จากโมเดลทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Least significant different test (LSD) ตัวแปรตามที่เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ ลักษณะของเยื่อผิวโพรงมดลูก คอมดลูก และช่องคลอด วิเคราะห์ด้วยวิธีไคส์สแคว ลักษณะการบวมน้ำของชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อผิว และจำนวน secretory vesicle ภายในต่อมมดลูก วิเคราะห์ด้วยวิธี Kruskal Wallis และ Wilcoxon rank-sum test โดยใช้ NPAR1WAY procedure ค่า $P < 0.05$ ถือว่าข้อมูลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการทดลอง

ข้อมูลสุกรสาว และลักษณะทางกายวิภาค

สุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาหนองไหลมีอายุเฉลี่ย 303.2 ± 36.2 วัน (พิสัย 266.0-339.4 วัน) น้ำหนักตัว 138.3 ± 19.5 กก. (พิสัย 118.8-157.8 กก.) และอัตราการเจริญเติบโตตั้งแต่แรกเกิดถึงคัดทิ้ง 454.6 ± 69.9 กรัมต่อวัน ($384.7-524.5$ กรัมต่อวัน) สุกรสาวที่มีปัญหาหนองไหลจาก

ช่องคลอดสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ตามวงรอบการเป็นสัด ได้แก่ สุกรสาวระยะรังไข่ไม่ทำงาน (4 ตัว, 9.5%) สุกรสาวระยะฟอลลิเคิล (10 ตัว, 23.8%) และสุกรสาวระยะลูทีล (28 ตัว, 66.7%) จำนวนและขนาดของฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียมของสุกรสาวในแต่ละกลุ่มสุกรสาวในแต่ละระยะแสดงในตารางที่ 1 สุกรสาวระยะฟอลลิเคิลและลูทีลมีน้ำหนักมดลูก (779.8 ± 373.2 กรัม และ 651.0 ± 201.5 กรัม ตามลำดับ) มากกว่าสุกรสาวระยะรังไข่ไม่ทำงาน (106.3 ± 35.3 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ความผิดปกติของรังไข่ มดลูก คอมดลูก และช่องคลอดสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากพบหนองไหลจากช่องคลอดแสดงในตารางที่ 2 จากตารางพบว่าสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาหนองไหลเกิดจากมดลูกอักเสบแบบเป็นหนอง (pyometra) 10 ตัว (23.8%) คอมดลูกอักเสบ 7 ตัว (16.7%) และ ช่องคลอดอักเสบ 10 ตัว (23.8%) นอกจากนี้ยังตรวจพบความผิดปกติของรังไข่ในสุกรสาว 11 ตัว (26.1%) โดยในจำนวนนี้พบว่าเป็นถุงน้ำรังไข่แบบไบเดียว (single cyst) จำนวน 3 ตัว (7.1%) เป็นถุงน้ำแบบหลายใบ (multiple cysts) จำนวน 5 ตัว (11.9%) และความผิดปกติอื่นๆ 3 ตัว (ตารางที่ 2)

ลักษณะของเยื่อผิว การบวมน้ำ หลอดเลือด และต่อมมดลูก

เยื่อผิวโพรงมดลูก คอมดลูก และช่องคลอดในสุกรสาวระยะฟอลลิเคิลและลูทีล เป็นชนิด pseudostratified columnar ในขณะที่สุกรสาวระยะก่อนเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์เป็นชนิด simple และ pseudostratified cuboidal จากการศึกษาค้นคว้าความสูงของเยื่อผิวโพรงมดลูก เยื่อคอมดลูกและเยื่อช่องคลอดระหว่างสุกรสาวแต่ละระยะพบว่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) (ตารางที่ 3) โดยเยื่อโพรงมดลูกมีความสูงเฉลี่ย 33.7 ± 9.4 ไมครอน เยื่อคอมดลูกมีความสูงเฉลี่ย 60.0 ± 24.8 ไมครอน และเยื่อช่องคลอดมีความสูงเฉลี่ย 56.5 ± 23.2 ไมครอน จากการศึกษาค้นคว้าการบวมน้ำในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกและเนื้อเยื่อคอมดลูกของสุกรสาวพบการบวมน้ำในระยะฟอลลิเคิลมากกว่าระยะลูทีลและระยะรังไข่ไม่ทำงานอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4) ต่อมมดลูกส่วนใหญ่มีลักษณะเยื่อเยื่อต่อมเป็นแบบ simple cuboidal และ simple columnar สุกรสาวในระยะลูทีลพบจำนวนต่อมมดลูก 693.4 ± 123.3 ต่อม/20 พื้นที่ ระยะฟอลลิเคิลพบ 344.5 ± 37.4 ต่อม/20 พื้นที่ และระยะรังไข่ไม่ทำงานพบ 147.8 ± 10.3 ต่อม/20 พื้นที่ จำนวนต่อมมดลูกในแต่ละกลุ่มของสุกรสาวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 5) จำนวน secretory vesicle ภายใน

ตารางที่ 1 จำนวน ขนาดของฟอลลิเคิล และคอร์ปัส ลูเทียมบนรังไข่สุกรสาวแบ่งตามระยะวงรอบการเป็นสัด

กลุ่มสุกรสาว	ฟอลลิเคิล		คอร์ปัสลูเทียม	
	จำนวน (ใบ)	ขนาด (มม.)	จำนวน (ใบ)	ขนาด (มม.)
ระยะฟอลลิเคิล	18.8±3.8	8.9±2.4	15.3±2.1	4.7±1.6
ระยะลูทีเยล	18.3±6.1	5.3±0.8	14.9±3.0	8.8±1.6
ระยะรังไข่ไม่ทำงาน	18.5±6.4	5.3±0.4	NA	NA

NA = ไม่มีข้อมูล

ตารางที่ 2 ผลการชันสูตรทางพยาธิวิทยา รังไข่ มดลูก คอมดลูก และช่องคลอด สุกรสาวที่ถูกคัตทิ้งเนื่องจากปัญหาหนองไหล จากช่องคลอดจำนวน 42 ตัว

อวัยวะ	ความผิดปกติ	จำนวนตัว (เปอร์เซ็นต์ %)
รังไข่	ถุงน้ำที่รังไข่ชนิดใบเดียว	3 (7.1)
	ถุงน้ำที่รังไข่ชนิดหลายใบ	5 (11.9)
	รังไข่ฝ่อ	1 (2.4)
	พบจุดเลือดออก	2 (4.8)
	รังไข่ปกติ	31 (73.8)
มดลูก	กึ่งเลือดและบวมน้ำ	16 (38.0)
	มดลูกอักเสบแบบมีหนอง	10 (23.8)
	มดลูกปกติ	16 (38.0)
คอมดลูก	กึ่งเลือดและบวมน้ำ	2 (4.7)
	พบจุดเลือดออก	4 (9.5)
	คอมดลูกอักเสบแบบมีหนอง	7 (16.7)
	คอมดลูกปกติ	29 (69.1)
ช่องคลอด	กึ่งเลือดและบวมน้ำ	3 (7.0)
	พบจุดเลือดออก	1 (2.4)
	ช่องคลอดอักเสบแบบมีหนอง	10 (23.8)
	ช่องคลอดปกติ	28 (66.7)

ตารางที่ 3 ความสูง (ไมครอน) ของเยื่อผิวโพรงมดลูก เยื่อคอมดลูก และเยื่อช่องคลอด จำแนกตามกลุ่มของสุกรสาว

กลุ่มสุกรสาว	เยื่อโพรงมดลูก (µm)	เยื่อคอมดลูก	เยื่อช่องคลอด
ระยะฟอลลิเคิล	32.8±5.6 ^a	67.8±26.4 ^a	66.8±27.5 ^a
ระยะลูทีเยล	34.9±11.4 ^a	59.5±24.9 ^a	55.0±21.8 ^a
ระยะรังไข่ไม่ทำงาน	25.8±4.1 ^a	42.1±9.2 ^a	44.9±21.4 ^a

^{a,b,c} อักษรยกที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4 ระดับการบวมน้ำและจำนวนหลอดเลือดใน เยื่อบุโพรงมดลูก เยื่อบุคอมดลูก และเยื่อช่องคลอด จำแนกตามกลุ่มสุกรสาว

กลุ่มสุกรสาว	จำนวนหลอดเลือด	ระดับการบวมน้ำ
เยื่อบุโพรงมดลูก		
ระยะฟอลลิเคิล	59.5±12.5 ^a	2.5±0.5 ^a
ระยะลูทีล	56.8±19.4 ^a	0.6±0.7 ^b
ระยะรังไข่ไม่ทำงาน	50.3±18.5 ^a	0.1±0.3 ^c
เยื่อบุคอมดลูก		
ระยะฟอลลิเคิล	44.1±13.9 ^a	0.5±0.7 ^a
ระยะลูทีล	53.9±16.0 ^a	0.2±0.3 ^b
ระยะรังไข่ไม่ทำงาน	35.0±11.5 ^a	0
เยื่อช่องคลอด		
ระยะฟอลลิเคิล	57.3±9.9 ^a	0.5±0.8 ^a
ระยะลูทีล	57.2±13.2 ^a	0.3±0.6 ^a
ระยะรังไข่ไม่ทำงาน	47.2±20.3 ^a	0.2±0.5 ^a

^{a,b,c} อักษรยกรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เปรียบเทียบภายในอวัยวะเดียวกัน ระดับการบวมน้ำ ให้คะแนนเป็น 0 = ไม่พบ 1 = เล็กน้อย 2 = ปานกลาง 3 = มาก

ตารางที่ 5 จำนวนต่อมมดลูก และจำนวน secretory vesicle ภายในต่อมมดลูก

กลุ่มสุกรสาว	จำนวนต่อมมดลูก	จำนวน secretory vesicle
ระยะฟอลลิเคิล	344.5±43.9 ^a	1.4±0.5 ^a
ระยะลูทีล	693.4±134.7 ^b	2.2±0.7 ^b
ระยะรังไข่ไม่ทำงาน	147.8±14.1 ^c	0.5±0.5 ^c

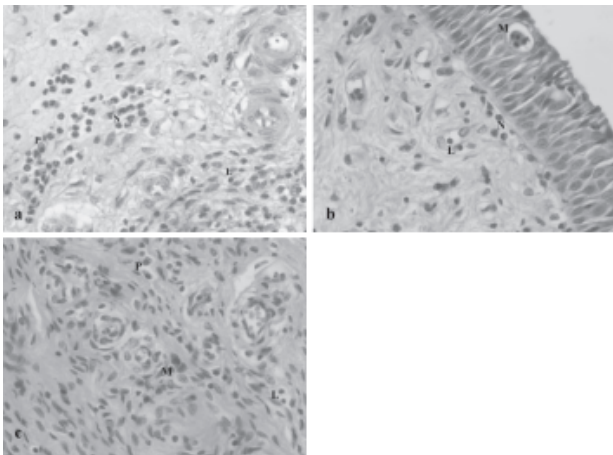
^{a,b,c} อักษรยกรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จำนวน secretory vesicle ให้คะแนนเป็น 0 = ไม่พบ 1 = เล็กน้อย 2 = ปานกลาง 3 = มาก

ต่อมมดลูกมีความสัมพันธ์กับจำนวนต่อมมดลูก สุกรสาวที่พบจำนวนต่อมมดลูกเพิ่มมากขึ้นจะพบจำนวน secretory vesicle มากขึ้นด้วย

เซลล์เม็ดเลือดขาวในเยื่อบุโพรงมดลูก

โดยทั่วไปเซลล์เม็ดเลือดขาวพบกระจายอยู่ทั่วไปในทุกชั้นของเยื่อบุโพรงมดลูก (รูปที่ 3) โดยเฉลี่ยในชั้นเยื่อบุโพรงมดลูก (intraepithelium) พบลิมโฟไซต์ 17.3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 1-68 เซลล์) นิวโทรฟิล 19.4 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-164 เซลล์) และแมโครฟาจ 3.7 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-37 เซลล์) ในชั้นใต้เยื่อบุโพรงมดลูก (subepithelium) พบลิมโฟไซต์ 65.3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 1-458 เซลล์) นิวโทรฟิล 55.7 เซลล์/พื้นที่

20 ช่อง (พิสัย 0-399 เซลล์) แมโครฟาจ 1.8 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-18 เซลล์) อีโอซิโนฟิล 36.3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-230 เซลล์) และพลาสมาเซลล์ 45.3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-287 เซลล์) ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของต่อมมดลูก (glandular layers) พบลิมโฟไซต์ 36.6 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 1-267 เซลล์) นิวโทรฟิล 10.1 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-146 เซลล์) แมโครฟาจ 0.8 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-9 เซลล์) อีโอซิโนฟิล 8.6 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-47 เซลล์) และ พลาสมาเซลล์ 11.0 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-59 เซลล์) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ในเยื่อผนังมดลูกมีการเพิ่มปริมาณและการกระจายตัวแตกต่างกันขึ้นกับระยะของระบบสืบพันธุ์ และการเกิดภาวะมดลูกอักเสบ (endometritis) รูปที่ 4 แสดงการกระจายตัวของ

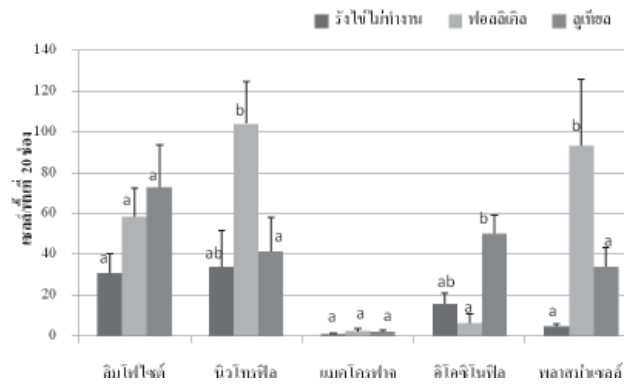


รูปที่ 3 ลักษณะทางกายวิภาคและลักษณะทางจุลกายวิภาคของ (a) เยื่อบุโพรงมดลูก (b) เยื่อบุคอมดลูก (c) เยื่อบุช่องคลอด; L = ลิ้มโพลีไซท์ N = นิวโทรฟิล M = แมคโครฟาจ P = พลาสมา เซลล์

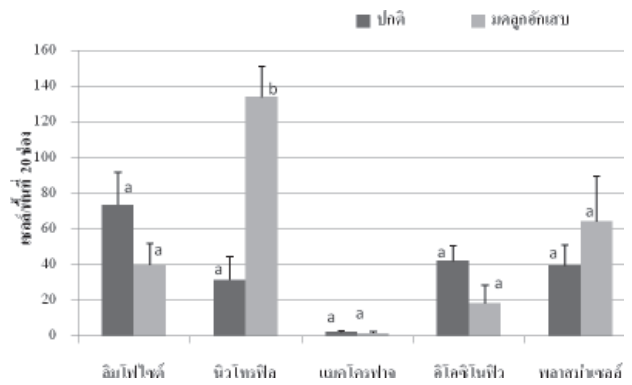
เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ในชั้นใต้เยื่อบุโพรงมดลูก แบ่งตามระยะของระบบสืบพันธุ์ นิวโทรฟิลในชั้นใต้เยื่อบุโพรงมดลูกในระยะฟอลลิเคิล จะมีปริมาณมากกว่าระยะลูเทียลอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.01$) และโอซิโนฟิลในระยะลูเทียลจะมีปริมาณมากกว่าระยะฟอลลิเคิลอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.001$) พลาสมาเซลล์ในระยะลูเทียลจะสูงกว่าระยะฟอลลิเคิลและระยะรังไข่ไม่ทำงานอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (รูปที่ 4) ในสุกรสาวที่พบมดลูกอักเสบ ปริมาณนิวโทรฟิลในชั้นใต้เยื่อบุผนังมดลูกจะสูงขึ้น 4 เท่า ($P<0.001$) ในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 5)

เซลล์เม็ดเลือดขาวในเยื่อบุคอมดลูก

โดยทั่วไปเซลล์เม็ดเลือดขาวพบกระจายอยู่ทั่วไปในทุกชั้นของเยื่อบุคอมดลูก (รูปที่ 3) โดยเฉลี่ยภายในชั้นเยื่อบุผิวคอมดลูก พบลิ้มโพลีไซท์ 32.1 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 3-203 เซลล์) นิวโทรฟิล 22.2 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-162 เซลล์) และแมคโครฟาจ 10.8 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-60 เซลล์) ในชั้นใต้เยื่อบุผิวคอมดลูก พบลิ้มโพลีไซท์ 69.0 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 1-341 เซลล์) นิวโทรฟิล 45.1 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-506 เซลล์) แมคโครฟาจ 1.5 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-16 เซลล์) โอซิโนฟิล 10.7 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-134 เซลล์) และ พลาสมาเซลล์ 26.5 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-204 เซลล์) สุกรสาวที่พบการอักเสบของคอมดลูกจะพบปริมาณโอซิโนฟิลในชั้นใต้เยื่อบุผิวคอมดลูกสูงขึ้น 5 เท่า ($P=0.03$) และพบ



รูปที่ 4 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ (mean ± SEM) ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อบุผิวโพรงมดลูก จำแนกตามระยะของวงจรทางระบบสืบพันธุ์ a,b อักษรยกที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)



รูปที่ 5 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ (mean ± SEM) ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อบุผิวโพรงมดลูก ในสุกรสาวปกติและสุกรสาวที่พบเยื่อบุโพรงมดลูกอักเสบ a,b อักษรยกที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

พลาสมาเซลล์สูงขึ้น 2 เท่า ($P=0.04$) ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอื่นๆ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) พลาสมาเซลล์ในชั้นใต้เยื่อบุผิวของคอมดลูกในระยะฟอลลิเคิล (80.4 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง) จะสูงกว่าระยะลูเทียล (22.8 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง) และระยะรังไข่ไม่ทำงาน (19.3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง) อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอื่นๆ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงตามวงจรการเป็นสัดอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

เซลล์เม็ดเลือดขาวในเยื่อบุช่องคลอด

โดยทั่วไปเซลล์เม็ดเลือดขาวพบกระจายอยู่ทั่วไปในทุกชั้นของเยื่อบุช่องคลอด (รูปที่ 3) โดยเฉลี่ยภายในชั้นเยื่อบุช่องคลอด พบลิ้มโพลีไซท์ 32.8 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย

1-109 เซลล์) นิวโทรฟิล 28.8 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-292 เซลล์) และ แมคโครฟาจ 18.8 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-114 เซลล์) ในชั้นใต้เยื่อช่องคลอด พบลิมโฟไซต์ 95.5 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 1-308 เซลล์) นิวโทรฟิล 11.3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-83 เซลล์) แมคโครฟาจ 0.8 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-8 เซลล์) อีโอซิโนฟิล 4.1 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-25 เซลล์) และ พลาสมาเซลล์ 15.3 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง (พิสัย 0-66 เซลล์) สุกรสาวที่พบการอักเสบของช่องคลอดจะพบปริมาณพลาสมาเซลล์ในชั้นใต้เยื่อช่องคลอดสูงขึ้น 2 เท่า ($P=0.04$) ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอื่นๆ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) อีโอซิโนฟิลในชั้นใต้เยื่อผิวของช่องคลอดในระยะรังไข่ไม่ทำงาน (11.4 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง) จะสูงกว่าระยะลูทีล (3.4 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง) และระยะฟอลลิเคิล (2.2 เซลล์/พื้นที่ 20 ช่อง) อย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.02$) ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอื่นๆ ที่ช่องคลอดไม่พบการเปลี่ยนแปลงตามวงรอบการเป็นสัดอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

ระดับความรุนแรงและระยะเวลาของการเกิดภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบ

จากสุกรสาวจำนวน 42 ตัว ระดับความรุนแรงและระยะเวลาการเกิดเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบ แบ่งตามจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อผิวคือ ลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล และพลาสมาเซลล์ จากการแบ่งกลุ่มตามปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้ง 3 ชนิด พบว่าสุกรสาวที่อยู่ในระยะฟอลลิเคิล หรือระยะรังไข่ไม่ทำงานส่วนใหญ่ มีการอักเสบของเนื้อเยื่อโพรงมดลูกแบบเรื้อรังในระดับความรุนแรงมาก (severe chronic) ในขณะที่สุกรสาวที่อยู่ในระยะลูทีล ส่วนใหญ่จะพบการอักเสบของเนื้อเยื่อโพรงมดลูกแบบเรื้อรังในระดับความรุนแรงน้อย (mild chronic) และสุกรสาว 2 ตัว ไม่พบภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบ (ตารางที่ 6)

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

ระดับของ P_4 ในสุกรสาวแต่ละระยะแสดงในตารางที่ 7 ระดับ P_4 ในสุกรสาว 9 ตัว ไม่นำมาคำนวณเนื่องจากพบความผิดปกติแบบถุงน้ำรังไข่ และ/หรือ มดลูกเป็นหนอง และสุกรสาว 3 ตัวไม่ได้ทำการตรวจระดับ P_4 โดยเฉลี่ย P_4 ใน

ตารางที่ 6 จำนวนสุกรสาว (ตัว) และร้อยละ (ตัวเลขในวงเล็บ) ที่พบปัญหาหนองไหลจากช่องคลอดจำแนกตามระดับความรุนแรงและระยะเวลาของการเกิดภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบ

ระยะเวลาการเกิด	ระดับความรุนแรง			
	น้อย	ปานกลาง	มาก	รวม
เฉียบพลัน	1 (2.5)	1 (2.5)	9 (22.5)	11 (27.5)
กึ่งเฉียบพลัน	2 (5.0)	0 (0)	0 (0)	2 (5.0)
เรื้อรัง	13 (32.5)	5 (12.5)	9 (22.5)	27 (67.5)
รวม	16 (40.0)	6 (15.0)	18 (45.0)	40 (100.0)

ตารางที่ 7 ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P_4) ในแต่ละกลุ่มสุกรสาว

กลุ่มสุกรสาว	จำนวน (ตัว)	ระดับ P_4 (นาโนโมล/ลิตร)
ระยะฟอลลิเคิล	4	4.2±2.1 ^a
ระยะลูทีล	24	91.3±36.1 ^b
ระยะรังไข่ไม่ทำงาน	2	0.8±0.2 ^a

^{ab}อักษรย่อกที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.001$); ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในสุกรสาว 9 ตัว ไม่นำมาคำนวณเนื่องจากพบความผิดปกติแบบถุงน้ำรังไข่ และ/หรือ มดลูกเป็นหนอง และสุกร 3 ตัวไม่ได้ทำการตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

สุกรสาวที่อยู่ในระยะลูเทียลสูงกว่า สุกรสาวระยะฟอลลิคูล และระยะรังไข่ไม่ทำงานอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) ในระยะลูเทียลระดับ P_4 มีความแปรปรวนระหว่างสุกรสาวแต่ละตัวค่อนข้างสูง โดยแปรผัน ระหว่าง 20.1-143.4 นาโนโมล/ลิตร

วิจารณ์

การศึกษานี้แสดงให้เห็นลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา และการกระจายตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกในสุกรสาวที่มีปัญหาหนองไหลจากช่องคลอด ในการศึกษารุ่นนี้ลักษณะเยื่อโพรงมดลูกสุกรสาวในระยะฟอลลิคูลและระยะลูเทียลเป็นชนิด pseudostratified columnar สอดคล้องกับการศึกษาของ Keaoket et al. (2001) ในแม่สุกรปกติ Keaoket et al. (2001) พบว่าเยื่อโพรงมดลูกมีความสูงที่สุดในช่วงแรกของระยะไดเอสตรัส ในการศึกษารุ่นนี้ไม่พบความแตกต่างของความสูงเยื่อโพรงมดลูกระหว่างสุกรสาวแต่ละกลุ่มเนื่องจากการแบ่งสุกรตามระยะของวงจรทางระบบสืบพันธุ์ไม่สามารถแยกระยะไดเอสตรัสออกเป็นระยะต้น ระยะกลาง และระยะท้ายได้ นอกจากนี้การที่ความสูงของเยื่อผนังมดลูกไม่มีการเปลี่ยนแปลง และไม่พบความแตกต่างจากแม่สุกรปกติ บ่งชี้ว่าสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาหนองไหลจากช่องคลอดเหล่านี้ไม่มีความผิดปกติของเยื่อผนังช่องคลอด ในสุกรสาวระยะรังไข่ไม่ทำงานพบเซลล์เยื่อโพรงมดลูกส่วนใหญ่มีลักษณะ cuboidal นอกจากนี้ยังพบหลอดเลือดในเนื้อเยื่อโพรงมดลูก คมดลูก และช่องคลอด สุกรสาว สอดคล้องกับการศึกษาในแม่สุกร (Kaekok et al., 2001) และพบต่อมมดลูก และ secretory vesicle จำนวนมากในสุกรสาวระยะลูเทียล เนื่องจาก P_4 ระดับสูงในช่วงไดเอสตรัสช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนขยายขนาดและการพัฒนาของต่อมมดลูก เพื่อทำหน้าที่สร้างโปรตีนและสารชนิดต่างๆ (Knight et al., 1973)

การศึกษารุ่นนี้พบลิ้มโฟไซท์ได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อโพรงมดลูก เนื้อเยื่อกอมดลูก และเนื้อเยื่อช่องคลอด ในทุกระยะของวงจรการเป็นสัด สอดคล้องกับการศึกษาของ Bischof et al. (1994) ลิ้มโฟไซท์เป็นเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันที่มีความสำคัญและจำเป็นสำหรับชั้นเยื่อโพรง การพบลิ้มโฟไซท์เพิ่มจำนวนสูงขึ้นอาจแสดงถึงภาวะการอักเสบแบบเรื้อรังภายในเยื่อโพรงมดลูก (Stockham and Scott, 2002)

ในการศึกษานี้พบนิวโทรฟิลจำนวนมาก และพบกระจายอยู่ทั่วไปในเกือบทุกชั้นของเนื้อเยื่อโพรงมดลูก เนื้อเยื่อกอมดลูก และเนื้อเยื่อช่องคลอด ในทุกระยะของ

วงจรการเป็นสัด ในแม่สุกรปกติ นิวโทรฟิลในชั้นเยื่อโพรงมดลูกพบได้มากที่สุดในระยะฟอลลิคูล และพบได้ทั่วไปในระยะลูเทียล (Kaekok et al., 2001) ในขณะที่พบได้น้อยมากในสุกรสาวก่อนวัยเจริญพันธุ์ (Jiwakanon et al., 2006) การพบนิวโทรฟิลจำนวนมากในเยื่อโพรงและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อโพรง อาจเนื่องมาจากสุกรสาวในการศึกษานี้มีภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบ (de Winter et al., 1995) นิวโทรฟิลมีความสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันในกลไกการป้องกันตนเองเป็นด่านแรก (first line of defence mechanism) บ่งชี้ว่าการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน (Tizard, 2004) ในการศึกษารุ่นนี้สุกรสาว 27.5% พบการอักเสบแบบเฉียบพลันของเยื่อโพรงมดลูก และส่วนใหญ่ (9/11 ตัว) พบว่ามีความรุนแรงสูง

ในการศึกษานี้พบแมคโครฟาจได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของทางเดินระบบสืบพันธุ์ ในทุกระยะของวงจรการเป็นสัด ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาที่ผ่านมา (Kaekok et al., 2001; Jiwakanon et al., 2006) สาเหตุอาจเกิดจากสุกรสาวในการศึกษานี้มีภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบ แมคโครฟาจจะเข้ามาทำหน้าที่ติดเชื้อด้วยการดึงดูดจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายและตายโดยนิวโทรฟิล จึงจัดเป็นกลไกการป้องกันตัวเองด่านที่สอง (Male, 2001) นอกจากนี้การพบแมคโครฟาจเพิ่มจำนวนสูงขึ้นในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอาจแสดงถึงการเกิดภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบแบบเรื้อรังได้ด้วย (de Winter et al., 1995) โดยทั่วไปแมคโครฟาจ ถูกสร้างจากไขกระดูก ในขณะที่ยังไม่เจริญพัฒนาเต็มที่และยังอยู่ในกระแสเลือด 2-3 วัน จะเป็นโมโนไซท์ จากนั้นจะเข้าสู่เนื้อเยื่อและพัฒนาเจริญเต็มที่ที่เป็นแมคโครฟาจเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างกลม มีนิวเคลียสเดี่ยวที่มีลักษณะกลม คล้ายถั่ว (bean-shape) หรือเว้าแหว่ง (indented) มีไซโตพลาสซึมมาก ประกอบไปด้วยไมโทคอนเดรีย เอนโดพลาสมิก เรติคูลัม กอลจิแอปพาราตัส ไลโซโซม แวกิวโอล (vacuoles) และแกรนูลต่างๆ แมคโครฟาจจะเข้ามาทำหน้าที่ติดเชื้อด้วยการดึงดูดจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายและตายโดยนิวโทรฟิล จึงจัดเป็นกลไกการป้องกันตัวเองด่านที่สอง (Male, 2001) หน้าที่ของแมคโครฟาจคือการกลืนทำลาย ซึ่งจะทำให้มีรูปร่างขนาดใหญ่ขึ้น มีเท้าเทียม (pseudopodia) จนกระทั่งมีรูปร่างไม่แน่นอน มักพบเศษเซลล์ภายในไซโตพลาสซึม แมคโครฟาจเข้ามาทำหน้าที่ติดเชื้อได้ช้า แต่มีประสิทธิภาพสูงกว่านิวโทรฟิล ในการทำลายสิ่งแปลกปลอมและแบคทีเรียชนิดที่ทนต่อนิวโทรฟิลได้ และยังทำหน้าที่เป็นเซลล์ที่นำ

เสนอแอนติเจน (antigen-presenting cell) ต่อ T ลิมโฟไซท์ แมคโครฟาจเป็นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบไม่จำเพาะและจำเพาะ MHC class II นอกจากจะพบได้บนผิวของ แมคโครฟาจและโมโนไซท์แล้วยังพบบนเดนไดรติกเซลล์ (dendritic cells) T และ B ลิมโฟไซท์ endothelial cells และ epithelial cells ฮอร์โมนส์เอสโตรเจนมีผลเหนี่ยวนำให้เซลล์เหล่านี้เพิ่มจำนวนขึ้นได้ แมคโครฟาจยังทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเปลี่ยนแปลงและพัฒนาของเซลล์ต่างๆ ในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกและการพัฒนาของอวัยวะ นอกจากนี้ยังพบว่าแมคโครฟาจสามารถสร้างสารกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive factor) เพื่อยับยั้งการเข้ามาและการทำงานของ T cytotoxic cell ลดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะที่และการไม่ยอมรับอวัยวะได้

อิโอซิโนฟิลพบมากที่สุดภายในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อโพรงมดลูก และคอมมดลูกของสุกรสาวระยะลูเตียล ซึ่งสอดคล้องกับระยะไดเอสตรัสในแม่สุกรที่พบอิโอซิโนฟิลมากที่สุด (Kaeoket et al., 2001) ในการศึกษาพบว่าชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของต่อมมดลูก มีอิโอซิโนฟิลจำนวนมากที่สุดในสุกรสาวระยะรังไข่ไม่ทำงาน เพื่อทำหน้าที่สร้างและซ่อมแซมหลอดเลือด และเนื้อเยื่อโพรงมดลูก (Jeziorska et al., 1995) มีรายงานพบว่าอิโอซิโนฟิลเมื่อเจริญเต็มที่และถูกกระตุ้นสามารถสร้างสาร vascular endothelial growth factor (VEGF) (Horiuchi and Weller, 1997) โดยในสุกรพบว่า VEGF ช่วยกระตุ้นการสร้าง การพัฒนาหลอดเลือด และคุณสมบัติในการยอมให้ของเหลวซึมผ่านของผนังหลอดเลือด รวมถึงการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเส้นเลือด (vascularity) ภายในเนื้อเยื่อโพรงมดลูก (Vonnahme et al., 2001) ทำให้เกิดการบวมน้ำและคั่งเลือดเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกที่มีการอักเสบ นอกจากนี้ยังพบอิโอซิโนฟิลมากในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อโพรงมดลูกซึ่งอาจเข้ามาทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกัน คือ ปฏิกิริยาการแพ้ (hypersensitivity) การอักเสบ การกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอมหรือตัวก่อโรค โดยใช้สารภายในแกรนูลบางชนิดซึ่งจำเพาะต่อการกำจัดและทำลายเชื้อโรค (Stockham and Scott, 2002) ในการศึกษาครั้งนี้ การพบอิโอซิโนฟิลในปริมาณสูงในสุกรสาวบางตัวอาจบ่งชี้ถึงภาวะการเริ่มฟื้นตัว และการรักษาตนเองของเนื้อเยื่อโพรงมดลูก

พลาสมาเซลล์พบมากในส่วนต่างๆ ของทางเดินระบบสืบพันธุ์ในสุกรสาวทุกระยะของวงรอบการเป็นสัด ซึ่งแสดงถึงความผิดปกติของเนื้อเยื่อโพรงมดลูก พลาสมาเซลล์ทำ

หน้าที่ในการผลิตแอนติบอดีชนิด IgG IgM และ IgA การพบพลาสมาเซลล์เป็นจำนวนมากแสดงถึงการอักเสบแบบกึ่งเฉียบพลัน ถึงเรื้อรังของเนื้อเยื่อโพรงมดลูก (de Winter et al., 1992; 1995) จำนวนของพลาสมาเซลล์ต่อพื้นที่บ่งชี้ระดับความรุนแรงของภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบได้ (Dalin et al., 2004) ในการศึกษาการพบพลาสมาเซลล์ในสุกรระยะรังไข่ไม่ทำงานบางตัว แสดงถึงการติดเชื้อและภาวะเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบในสุกรสาวระยะรังไข่ไม่ทำงาน

การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า วงรอบการเป็นสัดมีอิทธิพลต่อการกระจายตัวของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันในอวัยวะสืบพันธุ์ของสุกรเพศเมีย (Kaeoket et al., 2001) และพบว่าความรุนแรงของการเกิดเนื้อเยื่อโพรงมดลูกอักเสบขึ้นกับปริมาณของแบคทีเรียที่เข้าสู่อวัยวะสืบพันธุ์แล้วทำให้เกิดกระบวนการอักเสบขึ้น (Jana et al., 2007) ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณและการกระจายตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อโพรงมดลูกประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ปัจจัย โดยวงจรการเป็นสัดมีผลต่อการกระจายตัวของเซลล์ภูมิคุ้มกันในชั้นต่างๆ ของอวัยวะสืบพันธุ์ และมีความแปรปรวนระหว่างระยะของวงรอบการเป็นสัด ในขณะที่การติดเชื้อแบคทีเรียในโพรงมดลูกมีผลต่อการเพิ่มปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อโพรงมดลูก

โดยสรุป กลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดขาวส่วนใหญ่ในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ของสุกรสาวที่มีปัญหาหนองไหลยังคงทำงานได้ตามปกติภายใต้อิทธิพลของวงจรทางระบบสืบพันธุ์ นิโทรฟิว และพลาสมาเซลล์ บ่งชี้กระบวนการอักเสบในเนื้อเยื่อผนังมดลูก จากสุกรสาวทั้งหมด 23.8% ยังคงมีการอักเสบของมดลูกรุนแรง ในขณะที่เหลือกำลังอยู่ในระยะฟื้นสภาพภายใต้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อโพรงมดลูก

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ (MRG4880127) สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และโครงการส่งเสริมทักษะการวิจัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2551 ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณสุประคิษฐ์ หวังในธรรม สำหรับการตัดและย้อมสีชิ้นเนื้อ และคุณจันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร สำหรับการตรวจฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

เอกสารอ้างอิง

- Bischof, R.J., Brandon, M.R. and Lee, C.S. 1994. Studies on the distribution of immune cells in the uteri of prepubertal and cycling gilts. *J. Reprod. Immunol.* 26: 111-129.
- Dalin, A.M., Kaeoket, K. and Persson, E. 2004. Immune cell infiltration of normal and impaired sow endometrium. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83: 401-413.
- de Winter, P.J.J., Verdonck, M., de Kruif, A., Devriese, L.A. and Haesebrouck, F. 1992. Endometritis and vaginal discharge in the sow. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 51-58.
- de Winter, P.J.J., Verdonck, M., de Kruif, A., Devriese, L.A. and Haesebrouck, F. 1995. Bacterial endometritis and vaginal discharge in the sow: prevalence of different bacterial species and experimental reproduction of the syndrome. *Anim. Reprod. Sci.* 37: 325-335.
- Engblom, L., Lundeheim, N., Dalin, A.-M. and Andersson, K. 2007. Sow removal in Swedish commercial herds. *Livest. Sci.* 106: 76-86.
- Graham, L.H., Bolling, J., Miller, G., Pratt-Hawkes, N. and Joseph, S. 2002. Enzyme-Immunoassay for the measurement of luteinizing hormone in the serum of African elephants (*Loxodonta africana*). *Zoo Biol.* 21: 403-408.
- Horiuchi, T. and Weller, P.F. 1997. Expression of vascular endothelial growth factor by human eosinophils: upregulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-5. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 17: 70-77.
- Jana, B., Kucharski, J., Dzienis, A. and Deptula, K. 2007. Changes in prostaglandin production and ovarian function in gilts during endometritis induced by *Escherichia coli* infection. *Anim. Reprod. Sci.* 97: 137-150.
- Jeziorska, M., Salamonsen, L.A. and Woolley, D.E. 1995. Mast cell and eosinophil distribution and activation in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Biol. Reprod.* 53: 312-320.
- Jiwakanon, J., Persson, E. and Dalin, A.M. 2006. The endometrium of the anoestrous female pig: studies on infiltration by cells of the immune system. *Reprod. Domest. Anim.* 41: 191-195.
- Kaeoket, K., Persson, E. and Dalin, A.M. 2001. The sow endometrium at different stages of the oestrus cycle: studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. *Anim. Reprod. Sci.* 65: 95-114.
- Khawnual, P., Tummaruk, P., Suwimonteerabutr., Lohachit, C. and Brown, J.L. 2006. Relationship between serum progesterone and fecal progestins in non-pregnant female Asian elephants. Proceedings of the 2nd Symposium on the Asian Zoo and Wildlife Medicine and The 1st Workshop on zoo and Wildlife Pathology (AZWMP 2006). Bangkok, Thailand. October 26-29: 14.
- Knight, J.W., Bazer, F.W. and Wallace, H.D. 1973. Hormonal regulation of porcine uterine protein secretion. *J. Anim. Sci.* 36: 546-553.
- Lewis, G.S. 1997. Uterine Health and Disorders. *J. Dairy Sci.* 80: 984-994.
- Male, D. 2001. Introduction to the immune system. In I. Roitt, J. Brostoff and D. Male (eds.), *Immunology*. 6th ed., pp. 1-12. Edinburgh: Mosby.
- Muirhead M.R. 1986. Epidemiology and control of vaginal discharges in the sow after service. *Vet Rec.* 119 :233-5.
- Oravainen, J., Heinonen, M., Seppa-Lassila, L., Orro, T., Tast, A., Virolainen, J.V., and Peltoniemi, O.A.T. 2006. Factors affecting fertility in loosely housed sows and gilts: vulvar discharge syndrome, environment and acute-phase proteins. *Reprod Domest Anim.* 41:549-54.
- Stockham, S.L. and Scott, M.A. 2002. Leukocytes. In S.L. Stockham and M.A. Scott (eds.), *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology* 1st ed., pp. 49-83. Iowa: Iowa State Press. USA.

- Tizard, I.R. 2004. Neutrophils and their products. In I.R. Tizard (ed.), *Veterinary immunology*. 7th ed., pp. 24-34. Philadelphia: Saunders. USA.
- Tummaruk, P., Sukamphaichit, N., Kitiarpornchai, W., Musikjearanan, S. and Tantasuparuk, W. 2006. Seasonal influence on causes of culling in gilts. *Proceeding of the 19th IPVS Congress*. Copenhagen, Denmark. July 16-19: 498.
- Tummaruk, P., Kedsangakonwut, S. and Kunavongkrit, A. 2009. Relationships among specific reasons for culling, reproductive data, and gross morphology of the genital tracts in gilts culled due to reproductive failure in Thailand. *Theriogenology*. 71: 369-375.
- Vonnahme, K.A., Wilson, M.E. and Ford, S.P. 2001. Relationship between placental vascular endothelial growth factor expression and placental/uterine vascularity in the pig. *Biol. Reprod.* 64: 1821-1825.