

Project 505 0022

Ontwikkeling methoden histologisch hormoononderzoek
(drs M.J. Groot)

Rapport 87.32

April 1987

Literatuuronderzoek betreffende de
morfologische en histologische ver-
anderingen bij met anabolica behan-
delde vrouwelijke mestkalveren en
mestvarkens

drs M.J. Groot

Afdeling Microscopie

Goedgekeurd door: drs J.M.P. den Hartog

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)
Bornsesteeg 45, 6708 PD WAGENINGEN
Postbus 230, 6700 AE WAGENINGEN
Telefoon 08370-19110
Telex 75180 RIKIL

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur

sectorhoofden

projectbeheer

bibliotheek

afd. Microscopie

Overname van de inhoud is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.

ABSTRACT

LITERATUURONDERZOEK BETREFFENDE DE MORFOLOGISCHE EN HISTOLOGISCHE VER-
ANDERINGEN BIJ MET ANABOLICA BEHANDELDE VROUWELIJKE MESTKALVEREN EN
MESTVARKENS

LITERATURE REVIEW ON THE MORPHOLOGICAL AND HISTOLOGICAL CHANGES IN FE-
MALE VEALCALVES AND PIGS TREATED WITH ANABOLICS (IN DUTCH)

Report 87.32 April 1987

M.J. Groot

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT)
P.O. Box 230, 6700 AE WAGENINGEN, the Netherlands

31 references

A review is given on the literature on the changes in the female re-
productive tract after treatment with anabolics. For each part of the
reproductive tract of calves and pigs the normal situation is compared
with the situation after treatment. Often the changes which occur af-
ter treatment with estrogens resemble the cyclic changes of the normal
cyclic adult female.

Keywords: anabolics, vealcalves, pigs, estrogens, hormones.

INHOUD

ABSTRACT

1 INLEIDING

2 OVERZICHT VAN DE VERANDERINGEN AAN HET VROUWELIJKE GESLACHTS- APPARAAT

2.1 De ovaria

2.1.1 Kalf

2.1.2 Varken

2.2 Oviduct

2.2.1 Kalf

2.2.2 Varken

2.3 Uterus

2.3.1 Kalf

2.3.2 Varken

2.4 Cervix

2.4.1 Kalf

2.4.2 Varken

2.5 Vagina

2.5.1 Kalf

2.5.2 Varken

2.6 Glandulae Bartholini

2.6.1 Kalf

2.6.2 Varken

2.7 Vulva

2.7.1 Kalf

2.7.2 Varken

2.8 Clitoris

2.8.1 Kalf

2.8.2 Varken

2.9 Uier en tepels

2.9.1 Kalf

2.9.2 Varken

2.10 Hypofyse

2.10.1 Kalf

2.10.2 Varken

2.11 Urethra

2.11.1 Kalf

2.11.2 Varken

2.12 Overzicht effect van oestrogenen bij vaarskalveren

2.13 Overzicht effect van oestrogenen bij gelten

2.14 Veranderingen van de geslachtsorganen bij het volwassen vrouwelijke rund ten gevolge van de oestriscche cyclus

3 DISCUSSIE

4 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

LITERATUUR

1 INLEIDING

Voor de kalvermesterij worden voornamelijk stierkalveren gebruikt; het is dus niet verwonderlijk dat, wat betreft de histologische detectiemethoden, de meeste aandacht is besteed aan de mannelijke dieren.

In Nederland wordt als controle op gebruik van anabolica door de RVV o.a. histologisch-onderzoek verricht op de prostaat bij stierkalveren en op de klier van Bartholin bij vaarskalveren.

De interpretatie van de door exogene hormonen veroorzaakte veranderingen in de klier van Bartholin, is echter moeilijker dan die in de prostaat. Bij vrouwelijke dieren moet men rekening houden met het op gang komen van de endogene hormoonproductie.

In dit verslag wordt een overzicht gegeven van de literatuurgegevens over de door anabolica veroorzaakte veranderingen aan het geslachtsapparaat van het vrouwelijke mestkalf; ter aanvulling en ter vergelijking worden de veranderingen veroorzaakt door anabolica bij vrouwelijke mestvarkens beschreven.

Daarnaast worden de veranderingen in de genitaaltractus onder invloed van de normale oestrische cyclus bij het volwassen rund beschreven. De uitwendige oestrus verschijnselen worden veroorzaakt door oestradiol 17-beta.

2 OVERZICHT VAN DE VERANDERINGEN AAN HET VROUWELIJK GESLACHTSAPPARAAT

Onder invloed van anabolica zijn in de literatuur veranderingen beschreven in de ovaria, de oviducten, de uterus, de cervix, de vagina, de glandulae Bartholini, de vulva, de clitoris, het uier en de tepels, de hypofyse en de urethra.

2.1 Ovaria

2.1.1 Kalf

Howe et al. (8) beschreef in 1964 de ovaria van kalveren tussen de 1 en 6 maanden oud onder verschillende hormoonregimes.

Bij de controledieren merkte hij aanzienlijke aantallen follikels op, variërend van 3-20 mm in doorsnede, waarbij de grootte en het aantal follikels niet leek toe te nemen met de leeftijd en er grote individuele verschillen waarneembaar waren.

Echter bij geen enkel kalf waren tekenen aanwezig die wezen op ovulatie of corpus luteum vorming.

Bij een proefgroep behandeld met PMS (pregnant mare-serum) en HCG (human chorionic gonadotrophin) per injectie zag hij hyperfolliculaire ontwikkeling, meer grotere (tertiaire) follikels en minder stroma.

Een andere groep was eerst geprimed met progesteron en dan behandeld met PMS en HCG, deze dieren vertoonden een sterk variërend beeld wat deels overeen kwam met de controlegroep en deels hyperfolliculaire ontwikkeling toonde.

Bij een 4e groep werd naast progesteron HCG/PMS ook oestradiol 17-beta toegediend. Dit resulteerde in een duidelijk afgenomen ovariale activiteit met meer kleinere follikels en minder tertiaire follikels. Bij de proefgroepen werden bij enkele dieren corpora lutea aangetroffen. Diederichsen (15) beschreef hypoplasie en atrofie van het ovarium onder invloed van oestrogenen.

De follikels van behandelde dieren waren klein en tertiaire follikels waren afwezig. Hij beschreef onderzoek naar ovaria met enkel kleine follikels en naar atrofische ovaria als voorscreeningsmethode bij de controle op gebruik van oestrogenen.

Bij volwassen koeien leidt overdosering van oestrogenen tot ovariumatrofie of ovariale cysten (26,15).

2.1.2 Varken

Kurtz et al. (5) beschreef in 1969 de veranderingen in de ovaria bij mestvarkens veroorzaakt door oestrogeen werkende mycotoxinen. De ovaria varieerden van hypoplastisch bij de kleinste gelten tot aanzienlijke ontwikkeling van secundaire follikels en follikelatresie bij zwaardere dieren.

Lauwers et al. (2) vond hypoplastische ovaria, die onderontwikkeld en lichter in gewicht waren vergeleken met controledieren, bij dieren geïmplanteerd met oestradiol 17-beta en testosteron of met oestradiol 17-beta en trenbolone. Oraal met DES en methyltestosteron behandelde dieren vertoonden echter geen verschil in ontwikkeling of gewicht van de ovaria.

2.2 Oviduct

2.2.1 Kalf

Het oviduct van een onbehandeld kalf is een 1-2 mm dik, sterk gekronkeld buisje met een totale lengte van 2 à 3 cm (13,11).

Microscopisch is het oviduct opgebouwd uit een mucosa, propria, muscularis en serosa. Het slijmvlies is sterk geplooid met primaire, secundaire en tertiaire plooien en bekleed met pseudomeerlagig ciliair epitheel, bestaande uit dicht opeen gepakte, cilindrische cellen, met basaal in de cel een ovale kern en apicaal fijngegranuleerd PAS positief cytoplasma. Op de epitheelcellen zijn soms ronde basofiele celletjes waar te nemen.

Na toediening van diverse doseringen DES en HEX vonden Ruitenberg en Berkvens (13) geringe veranderingen bij een gedeelte van de proefdieren, veranderingen echter, die zij het in mindere mate ook bij sommige controledieren voorkwamen.

Hierbij waren basaal in de cel kleine en grote PAS negatieve vacuolen waarneembaar, waardoor de kern naar het midden van de cel gedrukt werd.

Howe et al. (8) vond bij behandelde dieren geen significante verhoging van het epitheel.

2.2.2 Varken

Lauwers (2) vond bij mestzeugen geen verschillen in het histologisch beeld van de oviducten tussen onbehandelde dieren en dieren behandeld met oestradiol 17-beta en testosteron of met oestradiol 17-beta en trenbolone of met DES en methyltestosteron.

2.3 Uterus

2.3.1 Kalf

Na de geboorte van het kalf treedt vermindering van de hoogte van de uterusepitheelcellen op, veroorzaakt door het wegvallen van de invloed van de maternale oestrogenen.

Tussen de 6e en 9e levensmaand volgt een nieuwe activering van het uterusepitheel door endogene hormoonproductie (30).

Ook exogene oestrogenen veroorzaken een verhoging van het uterusepitheel (8).

De propria is in het prepuberale stadium celrijk en geordend. Oestrogenen zorgen voor hypertrofie en hyperplasie van het epitheel en door toename van stroma lijkt de propria celarmer te worden. De breedte van de uterusklieren neemt toe met de leeftijd.

Schwartz (4) vond geen eenduidige overeenstemming tussen deze drie parameters; 20% van de dieren die aantoonbaar met oestrogenen waren behandeld vertoonden geen of nauwelijks veranderingen in de baarmoederwand.

Howe et al. (8) vond een toename van de dikte van de mucosa bij met PMS/HCG en met PMS/HCG + progesteron en bij met PMS/HCG, progesteron en oestradiol 17-beta behandelde dieren. De klierontwikkeling was niet gerelateerd aan hormoonbehandeling.

Kroes et al. (13) nam een geringe toename van de AF (Alkalische Fosfatase) activiteit van de uterusklieren waar, verder een wat toegenomen AF activiteit in het stroma en een toegenomen pyroninofiliteit van het cytoplasma (pyronine = een bepaalde basische kleurstof).

2.3.2 Varken

Het endometrium van mestzeugen bevat min of meer vertakte klieren, waarvan de afvoergangen bedekt zijn met cilindrisch epitheel, terwijl het kliergedeelte bestaat uit kubische cellen met weinig cytoplasma. Het bedekkende epitheel is pseudotweelagig en subepitheliaal bevindt zich een celrijk stroma dat veel lymfocyten bevat.

Kriteria als dikte van het endometrium, hoogte van de epitheelcellen, vertaktheid van de klieren, de aanwezigheid van secreet, oedeem en aanwezigheid van lymfocyten en granulocyten in het stroma werden door Lauwers (2) bekeken bij behandelde en onbehandelde dieren. Echter geen van deze criteria bleek een betrouwbare indicatie te zijn voor het onderscheid tussen behandelde en onbehandelde dieren.

In het algemeen gaven de met oestradiol 17-beta en testosteron behandelde dieren wat meer vertakte klieren, met grotere kliercellen te zien; iets wat ook incidenteel bij de controledieren voorkwam.

Het gewicht van de uterus vertoonde ook grote individuele variatie maar de met oestradiol 17-beta en testosteron behandelde dieren en de met DES en methyltestosteron behandelde dieren hadden significant zwaardere uteri.

Het mycotoxine van *Fusarium graminearum* heeft oestrogene werking. Opname van besmet graan geeft oedeem en celproliferatie in de uterus, veroorzaakt door hypertrofie en hyperplasie in alle lagen van de uterus met vooral sterke verdikking van het myometrium (5), wat ook optrad bij oestradiol toediening. Mais, geïnfecteerd met *Fusarium graminearum* en zo verontreinigd met zearalenone (een metaboliet geproduceerd in geïnfecteerde mais) geeft onder andere hypertrofie van de uterus (20).

2.4 Cervix

2.4.1 Kalf

De cervix van het kalf is bedekt met kubisch tot laagcilindrisch epitheel.

Kroes et al. (11) beschreef de veranderingen van de cervix onder invloed van behandeling met hexoestrol en DES. Het epitheel verhoogt (met name bij DES) sterk, een groot deel van de cel wordt ingenomen door een PAS positieve secretieprop (actieve secretie).

Verder verschijnen nodulaire, uit plaveiselepitheelcellen bestaande metaplastische gebiedjes. Bij de met HEX behandelde dieren werden deze veranderingen niet altijd aangetroffen.

Bij 1 controledier werden ook enkele kleine metaplastische noduli aangetroffen, welke werden toegeschreven aan endogene hormoonproductie (het kalf was 20 weken oud).

Schwarz et al. (27) vond naast verhoging van het epitheel een sterke toename van de geploidheid van de lamina epithelialis.

2.4.2 Varken

De cervix van een normale gelt bestaat uit tweelagig kubisch epitheel, onder invloed van de opname van met *Fus. gram.* besmet graan (5) veranderde dit tot meerlagig plaveiepitheel, tot 15 cellagen dik. Het plaveiepitheel was erg onregelmatig verdeeld, waarbij de crypten de minste veranderingen toonden.

2.5 Vagina

2.5.1 Kalf

De vagina van het kalf bestaat uit een smalle laag meerlagig epitheel, waarvan de bovenste laag uit kubische tot cilindrische slijmbekercellen bestaat (11). Onder invloed van DES (11,13) verbreedt het epitheel hyperplastisch tot rijpend meerlagig plaveiepitheel, met plaatselijk individuele verhoorning.

De slijmcellen komen dan nog maar plaatselijk voor en zijn hoogcilindrisch, met een basale kern en een PAS positieve secretieprop. Verder valt op dat het epitheel sterker geplooid gaat verlopen.

Bij met HEX behandelde dieren is het effect minder uitgesproken.

2.5.2 Varken

De vagina is bedekt met meerlagig epitheel (3-6 lagen), waarbij de bovenste cellaag kubisch of iets afgeplat is en een regelmatige afdekking vormt (2). Bij behandeling met oestradiol 17-beta en testosteron (implantaat) en bij DES en testosteron oraal vond Lauwers (2,14) meerlagig plaveiepitheel met desquamatie van cellen en haarden van intra-epitheliaal celafval.

Bij enkele controledieren echter, werden plaatselijk soortgelijke veranderingen waargenomen. Behandeling met oestradiol 17-beta en trenbolone gaf geen histologische veranderingen aan het vagina-epitheel.

2.6 Glandulae Bartholini

2.6.1 Kalf

Normaal bevat deze klier alveolair vertakte kliertubuli met hoogcilindrisch epitheel, met een basale afgeplatte kern, omgeven door fibromusculair weefsel, de afvoergangen zijn bekleed met meerlagig plaveiepitheel. Relatief zijn er veel kliertubuli en weinig afvoergangen (1). Na behandeling met DES (1,7,9,11,13,15) ontstaat een macroscopisch vergrote en verharde klier, die microscopisch minder kliertubuli bevat, waarvan vele met uitgebreide metaplasie, soms met verhoorning van het plaveiepitheel, zodat er nog maar weinig goede kliertubuli overblijven. De afvoergangen vertonen hyperplasie en hypertrofie, soms zodanig dat er nauwelijks een lumen over is.

Verder treedt fibromusculaire hypertrofie op en fibrosis in het stroma tussen de kliertubuli. Bij behandeling met HEX (9) is de klier minder duidelijk vergroot, wel is de hoeveelheid bindweefsel toegenomen. De afvoergangen zijn vaak iets verwijd en het epitheel vertoont soms geringe hyperplasie. Het aantal afvoergangen is ten opzichte van het aantal kliertubuli duidelijk toegenomen. Het hyper- en metaplastisch plaveiselepitheel vertoont een toegenomen AF-activiteit, afnemend in de richting van het lumen.

Na behandeling met oestrogenen zijn de veranderingen nog 12 weken zichtbaar (15). Wordt echter oestradiol 17-beta in combinatie met testosteron of trenbolone gebruikt dan reageert de klier minder duidelijk (ook minder dan de prostaat) en is de interpretatie moeilijk. Bij de tegenwoordig gebruikte cocktails zijn de afwijkingen minimaal; een gestoorde verhouding tussen afvoergangen en kliertubuli, wat meer bindweefsel, geringe hyperplasie, soms ontstekingsinfiltraten kunnen aanwijzingen geven.

Oudere vrouwelijke dieren geven onder invloed van endogene oestrogenen iets minder klierweefsel en wat dikkere afvoerbuizen te zien (9).

2.6.2 Varken

Het varken heeft geen glandulae Bartholini, maar heeft glandulae vestibuli minores, een groot aantal kleine klieren met elk een eigen afvoergang. Deze zijn niet homoloog aan de gl. Bartholini (= gl. vestibuli majores)(31).

2.7 Vulva

2.7.1 Kalf

Bij het kalf kan bij behandelde dieren de vulva macroscopisch vergroot en gezwollen zijn (1).

2.7.2 Varken

Het varken vertoont onder invloed van oestrogenen (2) zwellling van de vulva, ook bij oestrogeen vergiftiging door met mycotoxinen van *Fus. graminearum* besmet graan (19,5), zwelt de vulva en kan een vulvo vaginitis ontstaan, waarbij de vulva rood en gezwollen is.

Ook behandeling met gezuiverd mycotoxine van *Fus. graminearum* en met oestradiol 17-beta (5) resulteert onder andere in vulvazwelling.

Bij zeugjes gevoerd vanaf 10 weken oud met sojameel, dat oestrogeenwerkende isoflavonen bevat (19), viel vergroting van de vulva op, terwijl aan de rest van het geslachtsapparaat geen veranderingen te zien waren. De vulva lijkt bij deze prepuberale dieren zeer gevoelig te zijn voor oestrogenen.

Lauwers (2) vond een verschil in grootte van de "vulvatip", die gevormd wordt waar de vulvalippen ventraal samenkomen, tussen onbehandelde dieren en dieren behandeld met combinaties van oestrogenen en androgenen (respectievelijk oestradiol 17-beta en testosteron, oestradiol 17-beta en trenbolone en DES met methyltestosteron. De behandelde dieren hadden een iets vergrote vulvatip bij alle combinaties.

2.8 Clitoris

2.8.1 Kalf

Over invloed van anabolica op de grootte van de clitoris van het kalf zijn geen gegevens bekend.

2.8.2 Varken

Bij het varken bleek in de proeven van Lauwers et al. (2,14) dat bij gebruik van androgenen altijd vergroting van de clitoris optrad, ook wanneer deze in combinatie met oestrogenen worden gebruikt.

De vergrote clitoris kon makkelijk uitgestulpt worden. De wanden van de fossa clitoridis waren vervormd tot een goed ontwikkeld preputium. Allyltrenbolone, wat een gestagene werking heeft en nauwelijks anabole eigenschappen, veroorzaakt geen groei van de clitoris.

Allyltrenbolone wordt gebruikt voor oestrussynchronisatie bij varkens.

2.9 Uier en tepels

2.9.1 Kalf

In 1967 heeft v.d. Grift (6) de veranderingen in het tepelkanaal onder invloed van oestrogenen onderzocht.

Bij onbehandelde kalveren van 9 weken oud vond hij een vrij groot lumen in het tepelkanaal, met laag epitheel en een weinig ontwikkeld corpus papillare wat een geringe plooiing vertoont. Keratohyaline korrels waren alleen in de oppervlakkige lagen waarneembaar.

Na oestrogeenbehandeling neemt het tepelkanaal in omvang toe en vertoont het corpus papillare duidelijke diepe plooivorming, hoger plaveiepitheel en een bredere laag hyaline korrels.

Kroes (7) nam onder invloed van DES een verlenging van de tepel waar bij stierkalfjes, bij vaarskalfjes is er een grote individuele variatie in tepellengte.

Bij onbehandelde kalveren bestaat het uier uit vertakt klierweefsel, bedekt met tweelagig epitheel. De oppervlakkige laag bestaat uit kubische tot cilindrische cellen met uitgerekte kernen, die bijna de hele cel vullen. Onder deze laag bevinden zich tegen de basaalmembraan polygonale cellen met een rond ovale kern, de myoepitheelcellen.

De afvoergangen zijn bedekt met eenzelfde of met pseudomeerlagig epitheel en in de lumina is geen secreet waarneembaar.

Onder invloed van DES (7,11,13) was het uier vergroot door klierontwikkeling. Het aantal kliertubuli per oppervlakte-eenheid was toegenomen, het bedekkend epitheel vertoonde diverse stadia van rijping, met hoogcilindrische secretoire cellen met apicaal fijngranulair PAS positief materiaal en vetbevattende zegelringcellen.

De myoepitheelcellen hadden zich gestrekt en hadden een afgeplatte kern. In het lumen was secreet aanwezig.

Bij hexoestrol waren de veranderingen minder uitgesproken.

2.9.2 Varken

Bij hyperoestrogenisme ten gevolge van opname van met *Fusarium graminearum* en zearalenone verontreinigde mais (20) ontstaat bij het varken onder andere swelling en roodheid van de tepels.

Bij varkens behandeld met respectievelijk oestradiol, gezuiverd mycotoxine van *Fusarium graminearum* en met *Fus. gram.* geïnfecteerd graan, vond Kurtz (5) hyperplasie van het epitheel van de klierbuisjes en een verhoogde mitotische index, ook trad oedeem op in het uierweefsel.

2.10 Hypofyse

2.10.1 Kalf

Howe et al. (8) onderzocht de variatie in degeneratie van de cellen in het pars distalis van de hypofyse bij met verschillende hormooncombinaties behandelde vaarskalveren, maar vond geen duidelijke relatie tussen het histologisch beeld van de hypofyse en de activiteit van het ovarium.

Bij volwassen koeien vond men (29) een relatie tussen het histologisch beeld van de hypofyse, met name het degranulatie patroon van de delta-cellen in het pars distalis en de oestrische cyclus.

2.10.2 Varken

Geen gegevens bekend.

2.11 Urethra

2.11.1 Kalf

De urethra is bedekt met meerlagig overgangsepitheel, ongeveer 6 cellagen dik. Daaronder gevasculeerd stroma.

Onder invloed van DES vond Kroes (13) geen duidelijke veranderingen, slechts bij enkele dieren vertoonde het epitheel hyperplasie.

Bij stierkalveren vonden Steenkamer en Lens (22) dat bij onbehandelde dieren het slijmvlies van de urethra onder UV-licht bekeken glanzend paarsblauw zag en er een fluorescerend effect zichtbaar was.

Bij met DES behandelde kalveren was het slijmvlies verdikt en dof met weinig fluorescentie.

Bij met HEX behandelde dieren was dit effect minder duidelijk.

Schaarschmidt (25) vond bij onbehandelde kalveren fluorescentie van de urethra en een matblauw opaliserend slijmvlies bij met oestrogenen behandelde kalveren. Ook zij vond hyperplasie van het urethra epitheel bij de behandelde dieren (stiertjes). Deze veranderingen werden door testosterontoediening niet tegengegaan.

2.11.2 Varken

Geen gegevens bekend.

2.12 Overzicht effect van oestrogenen bij vaarskalveren

ovaria	hypoplasie, atrofie, ontbreken van tertiaire follikels
oviduct	vacuolisatie epitheel
uterus	mucosa dikker
cervix	nodulair squameuze metaplasie, verhoogde secretoire activiteit, toename plooivorming l.epithelialis
vagina	squameuze hyperplasie/metaplasie, verhoogde secretoire activiteit, sterkere plooivorming
gl.Bartholini	squameuze metaplasie klier epitheel, hyperplasie afvoergangen, toename aantal afvoergangen ten opzichte van aantal kliertubuli
vulva	zwellling
clitoris	?
uier	stimulatie tot secretie klier epitheel
hypofyse	geen duidelijk effect
urethra	geen duidelijk effect

2.13 Overzicht effect van oestrogenen bij gelten

ovaria	atrofie ovaria, folliculaire atresie
oviduct	?
uterus	oedeem en celproliferatie, vergroting uterus
cervix	squameuze metaplasie, epitheel wordt dikker
vagina	meerlagig plaveiselepitheel, verdikking epitheel
gl.Bartholini	niet van toepassing
vulva	zwellling vulva
clitoris	?
uier/tepels	zwellling, roodheid
hypofyse	?
urethra	?

2.14 Veranderingen van de geslachtsorganen bij het volwassen
vrouwelijk rund, ten gevolge van de oestriscche cyclus

	<u>oestrus</u>	<u>late di-oestrus</u>
ovaria	op 1 ovarium een grote follikel	diverse stadia van folliculaire ontwikkeling
oviduct	toename secretoire acti- viteit, secretoire cellen hoger en actiever	geringe secretoire activi- teit, cellen platter
uterus	epitheelcellen hoger epitheliale oppervlak wordt onregelmatig, toe- name klierontwikkeling en secretie, mucosa wordt oedemateus, toename vascularisatie	lager epitheel, regelmatig oppervlak, geen oedeem, afgenomen vascularisatie, geringe klierontwikkeling
cervix	toename hoogte en activi- teit van het secretoire epitheel, hyperaemie en zwellling mucosa	epitheel platter, minder secretie, mucosa bleek en niet gezwollen
vagina	verdikking epitheel door hyperplasie en hyper- trofie, toename hoge cylindrische slijmvormende cellen, geringe verhoorning epitheel	meerrijig plat epitheel, weinig secretie, geen verhoorning

3 DISCUSSIE

Het bereiken van de puberteit is van vele factoren afhankelijk, erfelijk factoren, gewicht, voeding, management etc.

Gemiddeld komt het Nederlands melkvee op een leeftijd van 10 maanden voor het eerst in oestrus, met een variatie van 4 tot 16 maanden.

Vleesvee is wat later geslachtsrijp.

Het optreden van de puberteit gaat gepaard met een plotselinge toename in gewicht en grootte van de voortplantingsorganen. Door een nog onbekende prikkel worden extra gonadotrope hormonen afgegeven waardoor een eerste, stille, bronst optreedt en de cyclus wordt gestart.

Mestkalveren verkeren in de regel nog in de prepuberale fase.

De ovaria vertonen echter fysiologisch, lang voor de puberteit begint, folliculaire ontwikkeling met diverse stadia van follikelrijping (8) echter zonder dat ovulatie en corpus luteum vorming optreedt.

Atrofie en atresie van ovaria als gevolg van exogene oestrogeen toediening kan worden verklaard door een negatieve feedback van deze oestrogenen op het hypothalamo-hypofysaire systeem, waardoor er minder GnRH (gonadotroph releasing hormone) wordt afgegeven en zo de folliculaire ontwikkeling wordt geremd (15).

Bij mestvarkens is er een overeenkomstige situatie, ook bij prepuberale gelten is er sprake van folliculaire ontwikkeling (5) en treedt overvleghypoplasië op na oestrogeen toediening (2), welke verklaard kan worden (2) door negatieve feedback op de afgifte van gonadotropines. Van een analoog effect wordt gebruik gemaakt bij oestrussynchronisatie.

Na het stoppen van de behandeling treedt dan een rebound effect op, met een snelle compensatoire groei van de follikels. Ook bij oestrogeen toediening, welke enige tijd voor het slachten wordt afgebroken, zou dit effect een verklaring vormen voor de follikelgroei, die bij sommige dieren waargenomen wordt.

Lauwers (2) concludeerde dat de aanwezigheid van normale ovaria oestrogeenbehandeling niet uitsluit, maar dat de aanwezigheid van onderontwikkelde ovaria wel een indicatie is voor behandeling met exogene oestrogenen, in het bijzonder wanneer dit samen gaat met een verder extra ontwikkeld geslachtsapparaat of met metaplasie van het vagina-epitheel of vergroting van vulva of clitoris.

Bij volwassen dieren kunnen door behandeling met oestrogenen cysteuze ovaria ontstaan. Ook dit wordt verklaard door een onvoldoende afgifte van gonadotropines (met name LH), waardoor geen ovulatie optreedt en de follikel cysteus ontaardt.

Hoewel het epitheel van het oviduct wel reageert op de cyclische veranderingen in het hormonale patroon bij het volwassen rund, reageert het niet significant en eenduidig op oestrogeen toediening (8,13,2) bij kalf en varken.

De uterus vertoont bij de eerste oestrus een verdikking van het epitheel, bij het volwassen rund neemt de hoogte van de epitheelcellen toe, is er een toename in klierontwikkeling en secretie, neemt de vascularisatie toe en wordt de mucosa oedemateus.

Bij behandelde kalveren vond Howe (8) gemiddeld een dikker uterus-epitheel dan bij de controles, echter de mate van hypertrofie varieerde sterk en een groot percentage van de behandelde dieren viel binnen dezelfde range als de controle dieren.

Ook andere onderzoekers vonden wel veranderingen aan de baarmoederwand (4, 13), maar tevens een zo sterke variatie dat er geen conclusies aan verbonden konden worden.

Bij varkens speelt ongeveer hetzelfde (2), hoewel bij oestrogeenvergiftiging sterke hypertrofie en hyperplasie van de baarmoederwand optreedt (5).

De wijze van toediening en de dosering zal een rol spelen in de mate waarin de hypertrofie tot uiting komt.

De cervix vertoont bij het cyclische rund hyperaemie en zwelling van de mucosa tijdens de oestrus, tevens neemt het secretoire epitheel toe in hoogte en in activiteit, wat na de oestrus nog enige tijd doorgaat. Bij het kalf veroorzaakt oestrogeen toediening toename van de hoogte en secretoire activiteit van het epitheel (11, 27).

Ook het varken (5) vertoont na oestrogeenvergiftiging epitheelverhoging in de cervix.

De vagina van het volwassen rund vertoont tijdens de oestrus metaplastisch meerlagig plaveiselepitheel, echter zonder echte verhoorning.

Ook bij kalveren treedt dit op na oestrogeen toediening (11, 13), terwijl de normaal aanwezige slijmcellen gedeeltelijk verdwijnen.

Ook bij varkens (2, 14) vindt na oestrogeentoediening soms verdikking van het vagina epitheel plaats.

De glandulae Bartholini laten bij het volwassen rund wat dikkere afvoergangen en wat minder klierweefsel zien. Bij de nymfomane koe kunnen deze klieren cysteus ontaarden. De cystes zijn bekleed met hyperplastisch en metaplastisch plaveiselepitheel.

Ook bij vaarskalveren treedt met name onder invloed van DES (11,13) hyperplasie en metaplasie op, bij hexoestrol is dit minder uitgesproken het geval.

Bij de oestriscie koe is de vulva wat gezwollen, iets wat bij met hormonen behandelde kalveren ook kan worden waargenomen (1).

Bij varkens zwelt de vulva onder invloed van oestrogenen veel sterker, bij volwassen zeugen tijdens de berigheid maar ook bij prepuberale gelten bij oestrogeen toediening (2,5,19).

Bij het varken valt op dat bij androgeentoediening ook als dat in combinatie met oestrogenen plaatsvindt, vergroting van de clitoris optreedt. De vergroting van de clitoris kan worden verklaard uit de embryonale ontwikkeling van dit orgaan. Bij het indifferente embryo is een tuberculum genitale aanwezig. Bij het mannelijke dier groeit dit onder invloed van foetale androgenen uit tot penis (21).

Oestrogenen hebben nauwelijks invloed op de ontwikkeling van het tuberculum genitale en bij vrouwelijke dieren groeit het dan nauwelijks uit en wordt tot clitoris.

Lauwers (2,14) vond dat exogene androgenen bij vrouwelijke dieren leiden tot uitgroei van de clitoris, waarbij de wanden van de fossa clitoridis uitgroeien tot een preputium. Ook hier blijken oestrogenen geen remmende invloed op dit fenomeen te hebben.

Tijdens de puberteit ontwikkelt zich bij het kalf het uier, de omvang neemt toe door toename van de hoeveelheid klierweefsel. Bij prepuberale kalveren vindt onder invloed van DES eenzelfde ontwikkeling plaats, waarbij ook secretie op kan treden (11,13). Bij behandeling met hexoestrol treedt dit in mindere mate op.

Het varken vertoont ook zwelling van uier en tepels na oestrogeentoediening (20,5).

Wat betreft de hypofyse lijkt de relatie die gevonden werd tussen het stadium van de oestriscie cyclus bij het rund en het histologisch beeld van het pars distalis van de hypofyse, bij met hormonen behandelde kalveren niet aantoonbaar.

Ook de urethra bij vaarskalveren (11,13) gaf weinig veranderingen te zien na oestrogeen toediening.

4 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Bij de beoordeling van de histologische veranderingen aan het geslachtsapparaat bij de prepuberale vrouwelijke dieren moet men rekening houden met de invloed van de eigen hormonale produktie en met de invloed die exogene hormonen uitoefenen.

Deze laatste invloed werkt naar twee kanten. Aan de ene kant hebben alle toegediende hormonen een negatieve feedbackwerking op de afgifte van de hypofysaire gonadotrope hormonen, daarnaast kunnen verschillende delen van het geslachtsapparaat direct gestimuleerd worden.

Zo kan er een disproportie ontstaan tussen de gonade en de rest van het genitaalstelsel.

Men zou dus het geslachtsapparaat als geheel moeten beoordelen. De moeilijkheid bij de beoordeling van vrouwelijke dieren is, dat de door exogene oestrogenen veroorzaakte veranderingen vaak min of meer overeenkomen met de invloed van endogene oestrogenen bij volwassen dieren. Bij preparaten die sommige onderdelen van het geslachtsapparaat sterk stimuleren zoals DES zijn de veranderingen evident, maar bij gebruik van andere preparaten (HEX) of combinatiepreparaten waarbij het effect van oestrogenen door androgenen geremd wordt, wordt de beoordeling moeilijk. Er zou een parameter gevonden moeten worden die reageert op geslachtshormonen onafhankelijk van de cyclus.

Nader onderzoek op dit gebied behoeft de clitoris van het kalf. Onderzocht zou moeten worden of deze, in analogie naar het varken, bij gebruik van androgenen vergroot.

In combinatie met onderzoek van de klier van Bartholin waar de door oestrogenen veroorzaakte veranderingen het sterkst tot uiting komen, zou dit een vollediger beeld kunnen geven omtrent eventueel hormoongebruik. Een ander onderdeel dat misschien nader onderzoek verdient is de urethra. Interessant zou zijn na te gaan of ook bij vaarskalveren verschillen in fluorescentie gevonden kunnen worden tussen al of niet met hormonen behandelde dieren.

Recent onderzoek op prostaatweefsel van mannelijke slachtkalveren (28) met poly- en monoclonale antilichamen gericht tegen specifieke cytokeratines gaf veelbelovende resultaten.

Wellicht biedt deze immunohistochemische methode bij vrouwelijke dieren ook perspectief. Nader onderzoek is wenselijk.

1. Werkinstructie Slachtkalveren. Onderzoek in verband met eventuele toediening van anabolica bij slachtdieren, Wageningen, RIKILT, 1987.
2. Lauwers, H., P. Simoens, R. de Wilde, J.P. de Geest en N.R. de Vos.
Effect of anabolic hormones on the genital tract of fattening female pigs. Archiv. Lebensmittelhyg. (1983) 34: 133-137.
3. Schaudinn, B. und G. Beck. Zum histologischen Nachweiss der Anwendung von Östrogenen bei Kälbern. Fleischwirtschaft (1977) 9: 1664-1668.
4. Schwartz, R., E. Sperber und E. Grunert. Untersuchungen über den Einfluss exogener Östrogene auf die Uterusschleimhaut von Kälbern. Arch. Lebensmittelhyg. (1976) 27: 178-181.
5. Kurtz, H.J., M.E. Nairn, G.H. Nelson, C.M. Christensen and C.J. Mirocha. Histologic changes in the genital tracts of swine fed estrogenic mycotoxin. Am. J. Vet. Res. (1969) Vol: 30, No. 4: 551-556.
6. Grift, J. van der. Histologisch onderzoek van het tepelkanaal als methode voor het aantonen van het gebruik van oestrogene stoffen bij mestkalveren. Tijdschr. v. Diergeneeskunde (1967) deel 92: 812-818.
7. Kroes, R., E.J. Ruitenbergh en J.M. Berkvens. Histological changes in the genital tract of the female calf after the administration of diethylstilbestrol and hexestrol. Zbl. Vet. Med. (1970) A 17: 440-452.
8. Howe, G.R., R.C. Foley, D.L. Black and W.G. Black. Histological characteristics of the pituitary glands and reproductive tracts of normal and hormone-treated prepuberal heifer calves. J. Anim.Sci. (1964) 23: 613-620.

9. Horn, L.J. ten. Onderzoek naar de toediening van stoffen met oestrogene werking, voor groeibevorderende doeleinden, aan vette kalveren. Z. Pl., z. uitg., z. jaartal.
10. Kroes, R., L.G. Huis in 't Veld, P.L. Schulters en R.W. Stephany. Methods for controlling the application of anabolics in farm animals. Anabolic agents in animal production FAO/WHO Symposium Rome, March 1975.
11. Kroes, R., E.J. Ruitenbergh en J.M. Berkvens. Onderzoek naar de histologische veranderingen van het geslachtsapparaat van het vrouwelijke kalf na toediening van diethylstilbestrol (DES) en hexoestrol (HEX). Tijdschr. v. Diergeneesk. (1971) 96: 375-383.
12. Sperber-Meier, E. Untersuchungen über den Einfluss exogener Östrogene auf die Uterus und Cervixschleimhaut des Kalbes hinsichtlich der lichtmikroskopischen erfassbaren morphologischen Veränderungen. Diss. Hannover, 1976.
13. Kroes, R., E.J. Ruitenbergh en J.M. Berkvens. Onderzoek naar de histologische veranderingen van het geslachtsapparaat van het vrouwelijke kalf onder invloed van diethylstilbestrol en hexoestrol. Rapport nr. U 28/629 Zoon.
14. Lauwers H. Morfologische detectie van het hormoongebruik bij mestdieren. Vlaams Diergeneesk. tijdschr. (1984) 53: 366-379.
15. Diederichsen, J.H. Untersuchungen über den Einfluss exogen zugeführter Östrogene auf die Ovarfunktion des Kalbes. Dissertation, Hannover, 1974.
16. Jacobitz, P. Ein Beitrag zum Östrogennachweis bei Schlachtkälbern mit Methoden der Histologie, des Mäuseuterustestes und der Dünnschichtchromatographie. Dissertation, Hannover, 1973.

17. Ladinsky, J.L., H.W. Gruchow and B.M. Peckham. Cellular behaviour of the vaginal epithelium treated with testosterone propionate alone and in combination with diethylstilboestrol. J. Endocr. (1968) 41: 161-169.
18. Redmer, D.A. and B.N. Day. Ovarian activity and hormonal patterns in gilts fed allyltrenbolone. J. Anim. Sci. (1981) 53: 1088-1094.
19. Drane, H.M., A.E. Wrathall, D.S.P. Patterson and C.N. Hebert. Possible oestrogenic effects of feeding soyameal to prepuberal gilts. Br. Vet. J. (1981) 137: 283-288.
20. Aucock, H.W., W.F.O. Marasas, C.J. Meyer and P. Chalmers. Field outbreaks of hyperoestrogenism (vulvo-vaginitis) in pigs consuming maize infected by Fusarium graminearum and contaminated with zearalenone. Journal of the South African Veterinary Association (1980) 51: 163-166.
21. Langman, J. Inleiding tot de embryologie. Utrecht, (1976). Bohn, Scheltema en Holtema.
22. Steenkamer, N. en G. Lens. Onderzoek naar nieuwe opsporingsmogelijkheden van met diaethylstilboestrol (DES) en hexoestrol behandelde mestkalveren. Tijdschr. v. Diergeneesk. (1968) 93: 623-632.
23. Karg, H., B. Hoffmann, K. Vogt und H. Behr. Radioimmunologische versus fluorimetrische Bestimmung exogener und endogener Steroidöstrogene bei Mastkälbern. Tierärztliche Umschau (1972) 27: 385-389.
24. Karg, H., H. Schaarschmidt und M. Waldschmidt. Versuche zum Nachweis der illegalen Anwendung von Diethylstilböstrol bei männlichen Mastkälbern. Archiv. Lebensmittelhyg. (1970) 21: 1-13.

25. Schaarschmidt, H. Morphologische und biologische Nachweismethoden der Östrogenbehandlung von Mastkälbern. Diss. München, 1969.
26. Grunert, E. Gesundheitsschäden und Zystenbildung bei Kühen nach Östrogenüberdosierung. Tierärztliche Umschau (1973) 28: 331-333.
27. Schwartz, R., E. Grunert und E. Sperber. Untersuchungen über den Einfluss exogener Östrogene auf die Cervixschleimhaut von Kälbern. Arch. Lebensmittelhyg. (1977) 28: 41-44.
28. Weijman, J., F.C.S. Ramaekers en J.G. Vos. Immunohistochemie van cytokeratines in prostaatweefsel als mogelijk gevoelige methode voor screening van met oestrogene anabolica behandelde mestkalveren. Tijdschr. v. Diergeneeskunde (1987) 112: 507-513.
29. Cupps, P.T., R.C. Laben and S.W.Mead. Histology of pituitary, adrenals, ovaries and uteri of dairy cattle associated with different reproductive conditions. J. Dairy Sci. 39: 155, 1959.
30. Mellin, T.N. and R.E. Erb. Estrogens in the bovine - A review. J. Dairy Sci. 48: 687-700, 1965.
31. Vakgroep functionele morfologie, Vakgroep verloskunde, gynaecologie en K.I., Vakgroep fysiologie, Vakgroep zoottechniek. Biologie van de voortplanting. Meelen b.v., 1978.