

Tiinuse hormonaalne diagnoos

Dr. med. vet. J. Tehver

Äratrükk ajakirjast „Agronoomia“ nr. 6 — 1937

Tartu 1937



125871

A

Tiinuse hormonaalne diagnoos

Dotsent dr. med. vet. J. Tehver.

Kliinilise ja teiste tiinuse määramisviiside soovidajättev usaldatavuseprotsent ja osaline subjektiivsus (eriti kandeaja varases astmes) ühes tülikusega nende läbiviimisel on põhjustanud laimatumate meetodite otsimist kõneldavaks otstarbeks. Viimastena kõidavad tänapäeva uurijate ja loomakasvatajate tähelepanu hormonaalse diagnoosi viisid, mis on välja kasvanud mitmekülgetest uurimustest nn. seksuaalhormoonide esinemispaikade ja nende toimete üle.

Seksuaalhormoonideks nimetatakse inkretnäärmete selliseidprodukte, millede toime avaldub eeskätt karaktersete muutuste näol suguorganites; siia kuuluvad (Koch, '35):

1. hüpofüüsi eessagarast produtseeritav gonadotroopne hormoon e. prolaan (eessagara suguhormoon),

2. Graaf'i folliikulite teekis tekkiv follikuliin e. östriin,

3. kollaskeha (*corpus luteum*) hormoon, lutiin,

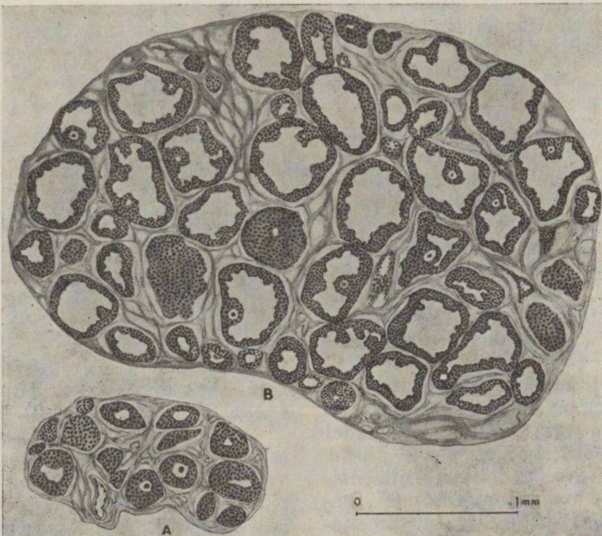
4. munanditest produtseeritav isas-suguhormoon, andro e. testosteroon. ja 5. hüpofüüsi tagasagarast valmistatud hüpofüüsin.

Tiinuse diagnoosi seisukohalt omavad nimetatuid rakenduslikku tähtsust vaid prolaan ja follikuliin. Nende, nagu teistegi hormoonide leidu kehavedelikkudes või kudedes demonstreeritakse bioloogilisel teel s. o. loomkatsumisega.

Gonadotroopse hormooni demonstratsiooniks on tänapäev kasustatavad:

1. Zondek-Aschheim'i test,
2. Friedman'i test ja
3. tibutest.

Zondek-Aschheim'i testis kasustatakse katseloomadena juveniilseid, 3—4 nädala vanuseid (6—8 g kaaluvaid) emaseid valgeid hiiri. Prolaani sisalduse



1. joon. Juveniilse valge hiire loomuliku ovaari (A) ja tiine mära (prolaanisaldava) vereseerumi injektsiooni mõjul suurenenud munasarja (B) mikrolõigud (vt. Zondek-Aschheim'i test).

suhtes kontrollitav substants aplitseeritakse katseloomale kas subkutaanselt või intraperitoneaalselt, või kui tegemist koega, implanteeritakse see intramuskulaarselt. Süstitava vedeliku või implanteeritud koe prolaanisalduse puhul muutub juveniilne hiir järgneva 100 tunni kestel suguküpseks, mis omakorda konstateeritav on ovariaalsete muutuste kaudu. Mitmekordselt suurenenud ovaarid sisaldavad arvukaid Graaf'i folliikuleid, milledes mõnes märgata veretähne või luteinkudet. Ovariaalsete muutustega peagu eranditult kaasuv uteruse suurenemine on sekundaarne nähe, ega pole see otseselt tingitud prolaani toimest. Prolaani minimaalne hulk, mis valgel hiirel kõneldavat positiivset testi välja kutsuda suudab, moodustab tema hiireühiku.

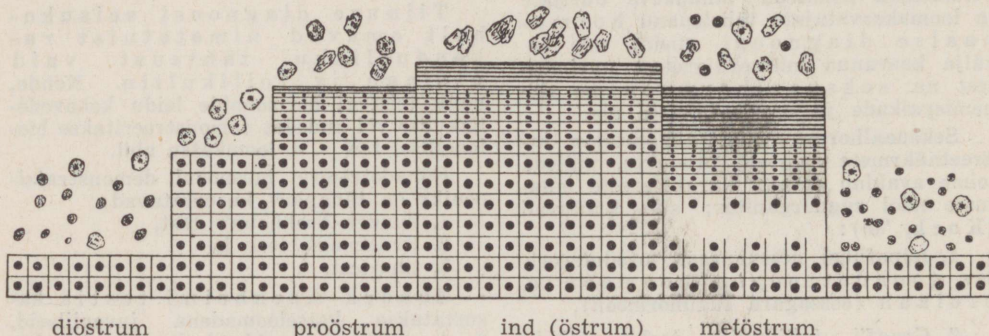
Friedman'i testis kasustatakse katseloomana suguküpset emast kodujä-

Follikuliini e. östriini esinemise tõestamiseks kasustatakse:

1. Allen-Doisy' testi ja
2. kabuni-testi.

Follikuliin ovaari pilti teatavasti ei mõjasta; seevastu aga tingib ta uteruse limaskestas proliferatsiooni ja närilistel karakterset vaginaal-epiteeli resp. vaginaal-määretise muutust. Suguhiha (ind) ja ekstraovariaalsed nähud ilmuvad follikuliini injektsiooni tagajärjel ka kastreeritud ja seniilsetel emasloomadel.

Allen-Doisy test baseerub follikuliini toimel kastreeritud emashiire vaginaal-epiteeli pilti. Vastavalt östraaltsükli faasile muutub vaginaal-epiteeli pilt alaliselt, mistõttu follikuliini toimet temale kastreerimata loomal määrata oleks võimata. Kastreeritud emashiire vaginaal-epiteel seevastu püsib ühtlaselt vähekihistununa ja limaproductseerivana. Sellisele hii-



2. joon. Valge hiire vaginaal-epiteeli karakterised muutused östraal-tsükli kestel. Pealmised horisontaaljooned tähendavad sarvestunud kihte. Skeemi peal näha vastava faasi vaginaalmääretises leitavad rakulised elemendid. Laqueur'i skeem. Inna ajal ja follikuliinisaldava vedeliku (tiine mära uriini) injektsiooni tagajärjel leiduvad vaginaalmääretises vaid sarvestunud epiteelrakud või nende kogumid (kängud). (Vt. Allen-Doisy' test.)

nest. Kõneldaval loomal toimub ovulatsioon mittespontaanselt, s. o. vaid paarituse mõjul. Kuid Friedman'i uurimuste põhjal võib kodujänesel paaritust ovulatsiooni väljekutsetegurina asendada prolaani resp. prolaani sisaldava vedeliku ühekordne injektsioon. Looma 36—48 tunni järele peale injektsiooni lahates või laparatomeerides näeme positiivse testi korral ovaari pinnal veretähne või kollaskehi (Friedman, '31).

Veel kujunemisfaasis püsiva tibutesti puhul tarvitatakse katsealusena ca 60-päevalisi kanapoegi (tibusid), kellel positiivse reaktsiooni korral 3—5 päeva pärast peale uuritava vedeliku injitseerimist märgata võib ovaari punetumist, rebukeste suurenemist ja ovidukti jämenemist. Mainitud nähtedega kaasub harja punetus ja kiirenemine kasv. Viimane reaktsioon ilmub prolaanisaldava vedeliku (tiine mära veri) süstimisel ka kukk-tibudel (Žavadovsky jt. '36).

rele follikuliinisaldavat vedelikku süstitades pakseneb tema tupe-epiteel kiiresti ja kattub pealt sarvestunud kihiga. Mainitud epiteeli muutus on kergesti konstateeritav sarvestunud epiteelikänkude kaudu, mis esinevad vaginaal-määretises. Injektsiooni tagajärgi uuritakse Allen-Doisy' testis vaginaal-määretise kaudu 5. (süstimise algusest arvatud) päeval. Arusaadavalt pole selleks vaja looma hukata, vaid katseloom on teatava ajavahemiku järele (positiivse testi puhul) või otsekohe (negatiivse testi korral) kasustatav uuesti.

Kabuni-test baseerub järgnevatel asjaoludel. Pruunid leghorn-kanad omavad lõhevärvilised („salmon-coloured“) rinnasuled, sama tõugu kukkedel aga on nad mustad. Kõneldavate sulgede pruuni värvust tingib ovaari inkretoorne toime (follikuliin), kuid kukkede mustad rinnasuled on neutraalset tüüpi, s. o. nende värvus tekib munanditest sõltumatult, resp. ka siis kui munandid kõrvaldatud on. Öst-

riini injektsioon kuke või kabuni rinnal-
hastesse tingib kasvavate ja veel pigmen-
teerumata rinnasulgude värvuse muutust:
oodatava musta värvaine asemel leiame siin
arenevate sulgede mikroskoopilisel vaatlus-
el punast pigmenti, mis omane pruunile
leghornkanale. Kuna kord pigmenteerunud
rinnasuled pole testis kasutatavad, siis
kõrvaldatakse katse-eelselt (ca 7 päeva)
neist mõningad (ca 12 tk.). Kõneldavas
testis leiavad kasustamist kabunid, kuna
sulestiku uuendamine toimub neil kiirelt
(Greenwood & Blyth, '34).

Loeteldud demonstreesooniviiside, pea-
miselt aga Zondek-Aschheim'i ja Allen-
Doisy' testi abil prolaani ja follikuliini
hulka emaslooma uriinis ja veres östraal-
tsükli erifaasidel ja tiinuse kestel määra-
tes on selgunud järgmist.

Prolaan (hüpofüüsi gonadotroopne hor-
moon) puudub mittetiinete koduimetajate
uriinis, aga ka tiinelt loomadel (hobune)
leidub teda siin diagnostiliseks otstarbeks
mittekasutataval määral (jälgedena).
Vastavalt sellele ei saa meie tiinete kodu-
imetajate uriini kasutada Zondek-Asch-
heimi, Friedman'i või tibu- (positiivseks)
testiks (Küst, '34; Zavadovsky jt.
'36, Kaay '36). Rikkalikult leidub prolaani
seevastu raseda naise uriinis, eriti
gestatsiooni esimestel kuudel; kandeaja
lõpupoole väheneb ta hulk uriinis aega-
mööda ning kaob esimese sünnitusjärgse
nädala jooksul koguni. Väljaarvatud ho-
bune esineb prolaan ka tiinete koduimeta-
jate veres tiinuse diagnoosi seisukohalt
mittearvestataval määral. Prolaani kon-
tsentratsiooni tõus resp. tema ilumine
tiine mära veres algab teise gestatsiooni-
kuu algul; maksimaalses hulgas leidub teda
veres tiinuse 70. ja 100. päeva vahel
(Cole & Hart, '30; Zavadovsky jt.
'36). Küsti ('34) andmetel tiinuse viien-
dal kuul. Hiljem väheneb ta hulk veres kii-
rest ja kaob sünnituse eel koguni. Indivi-
duaalseid erinevusi kõneldavas osas ar-
vestades peetakse verekaudet tiinusejuurd-
lust maksimaalselt usaldatavaks 42. ja
100. tiinusepäevade vahel; lühema tiinuse-
kestusega (ca 32. päevast alates) või üle
100 päeva kandnud mära verrega ettevõet-
ud (Zondek-Aschheimi, Friedman'i või
tibu-) testi resultaati aga loetakse usalda-
tavaks vaid positiivse reaktsiooni korral.
Esitatut resümeerides võime öelda, et prolaani
le karakteersete testide kaudu on
tiinuse diagnoosimine koduimetajaist või-
malik vaid märal ja sellelgi ainult ajalisel-
t piiratud tiinuse algfaasil, 2., 3. ja
4. kuul.

Mittetiinetest koduimetajatest sisaldab
jälgedena follikuliini veres ainult mära.
Samal loomal leidub follikuliin veres ka
kandeajal, kuid väga varieeruv ja seega
tiinuse diagnoosiks mitte kasutataval mää-
ral (Kaay, '36, Küst, '34). Teistel loo-
madel puudub ta veres loomkatse abil de-

monstreeritavas hulgas üldse. Seevastu
elimineerub follikuliin gestatsiooniaegse
uriiniga suurel määral märal, seal ja
lehmale. Loetlemata koduimetajail puudub
ta uriinis ka tiinuse ajal. Mära uriini
ilmub follikuliin juba teisel tiinuse kuul,
püsides siin võrdlemisi kõrges kontsent-
ratsioonis kuni tiinuse lõpuni. Usaldatava
Allen-Doisy' testikaude resultaadi saami-
seks kasutatakse mära uriini 75.—90. ti-
nusepäevast alates kuni gestatsiooni lõpuni.
Positiivseid reaktsioone loetakse usutava-
teks juba 7. tiinusenädalast alates. Et mä-
ral uriini- ja verekaudne tiinuse diagnoosi-
mise võimalus ajaliselt teataval määral
kokku langevad ja et seejuures verekaudse
diagnoosi tegelik läbiviimine mõningaid
paremusi omab, siis alatakse Allen-Doisy'
testiga (uriinikaudse juurdusega) vaid
verekaudse diagnoosi võimaluse (100. kuni
120. tiinusepäev) möödumisel.

Tiine lehma uriini follikuliinisaldus on
hobusega võrreldes koguni väike. Kuna
hobusel gestatsiooniaegse uriini üks liiter
sisaldab maksimaalselt üle 500 000 hiire-
ühiku follikuliini, leidub viimast tiine lehma
uriini ühes liitris maksimaalselt ca
800 hiireühikut. Võrdlemisi kõrgeprotsen-
diliselt usaldatavusega soovitatakse lehma
uriini kasutada tiinuse 90. päevast alates
(Zavadovsky jt. '36). Küsti ('34)
väitel omab lehma uriinikaudne tiinuse
diagnoos vähest tähtsust, kuna usutavaks
muutub ta vaid tiinuse teisel poolel, millal
tiinus kergesti diagnoositav kliiniliselt.

Seal tõuseb follikuliini uriinikaudne eli-
minatsioon Küsti ('34) ja Struck'i
(35) andmeil kõrgele kaks korda tiinuse
kestel: esmakordselt ilmub follikuliin
uriini 23. ja 30. tiinusepäevade vahel, kaob
seejärel ja ilmub uuesti alles tiinuse 11.
nädalal; siit peale algab ta aeglane vähe-
nemine, ja lõplikult kaob ta poegimise eel.
Vene autorite (Zavadovsky jt. '36)
väitel ilmub follikuliin sea uriini keskmiselt
14. tiinuse päeval; 22. ja 30. päeva
vahel on tõus hästi märgatav (1000—3000
hiireühikut follikuliini 1 liitris uriinis);
sealt alates väheneb follikuliini hulk uriini-
s vähehaaval uuesti, ei kao aga mitte
täielikult. Uus, poegimiseni kestev tõus
algab 70. ja 75. tiinusepäeva vahel. Kõige
paremaks tiinuse uriinikaudse diagnoosi
ajaks seal on seega 20. ja 35. päevade vahe-
line tiinuse faas ning aeg 75. tiinusepäevast
kuni poegimiseni. Aga ka muul ajal
(14.—20. ja 30.—75. tiinusepäevade vahel)
on vene autorite väitel eksimuste protsent
osutunud üsna väikeseks (2,7 ja 9,9 res-
pektiivselt).

Järgnevast Vogt'i ('35) tabelist, mis
baseerub Küsti, Struck'i ja teiste
uurimuste tulemustele nähtub, et seksuaal-
hormoonide puudumise resp. loomkatse abil
mitte demonstreeritavuse tõttu lamba ja
kodukarnivooride veres ning uriinis pole
tiinuse hormonaalne diagnoos nende juures

praeguste andmete põhjal mitte ettekujutav.

Tiinuse diagnoosi tegelik läbiviimine toimub Zondek-Aschheim'i testi kaudu hobusel järgnevalt (Stockholmi diagnostilises laboratooriumis kasustatav menetlus): laboratooriumi saadetud (u. 10 cm³) mära verest eraldatakse seerum, millest kahel järgneval päeval süstitakse kahele noorele, umbes 3 nädalasele, mitte üle 8 g kaaluvale (infantiilsele) emasele valgele hiirele

resp. puudumist. Leukotsüütide puudumine ja sarvestunud känkude esinemine on positiivse testi (mära tiinuse) tunnuseks.

Tiinuse hormonaalset diagnoosi toimetatakse meil Riiklikus Seerumi Instituudis, Tähtveres. Seal kasustatavat Friedman'i testi viiakse asutise juhataja hra Peterson'i suulistel andmetel läbi järgnevalt. Steriilses klaasnõus Seerumi Instituuti saadetud 30—35 cm³ diagnoositava mära verest

Materjal	Hobune		Veis		Lammas		Siga	
	Follikuliin	Prehüpofüüsi suguhormoon	Follikuliin	Prehüpofüüsi suguhormoon	Follikuliin	Prehüpofüüsi suguhormoon	Follikuliin	Prehüpofüüsi suguhormoon
Tiinete emasloomade veri	+	+	—	—	—	—	—	—
Isasloomade veri	—	—	—	—	—	—	—	—
Tiinete emasloomade uriin	+	—	+	—	—	—	+	—
Isasloomade uriin	+	—	—	—	—	—	+	—

selja peale subkutaanselt korraga 0,2 cm³. Esimesel päeval süstitakse üks ja järgmisel päeval kaks korda (hommikul ja 6 tundi hiljem). Hiir surmatakse kloroformides 4. päeval (kui näiteks I süste toimetati 18. kp., siis kloroformitakse hiir 22. kp.). Kloroformitud hiire kõhuõõs avatakse, pärasool lõigatakse läbi ja sooled lükatakse suguorganite paljastamiseks ette. Makroskoopilisel juurdlusel arvestatakse ovaaride ja uteruse sarvede suurust ja punetust, seejärel eraldatakse ovaarid uterusest, kaalutakse nad ning pannakse siis mikroskoopilise juurdluse otstarbel u. 24 tunniks fikseerimisvedelikku. Järgmisel päeval valmistatavad külmutuslõigud värvustatakse metüleensinise (või hematoksyliini) ja eosiniga, sisestatakse kanadabalsamisse ja uuritakse. Ovaaride märgatavalt suurenenud kaal ja follikulite kasv neis on positiivse testi (tiinuse) tunnuseks. Positiivset reaktsiooni arvestatakse domineerivana, s. o. teda loetakse maksvaks ka ainsas hiires esinemise puhul. Testi usaldatavuse suurenemise mõttes kasustatakse mõnel pool hiirte suuremat arvu.

Allen-Doisy' testi puhul soovitab Küst ('34) nelja infantiilset või kastreeritud emast valget hiirt, kelledest kahele uurimiseks saadetud hobuse uriini süstitakse 5 korda à 0,2 cm³ ja ülejäänule samuti viis korda à 0,3 cm³. Esimesel ja teisel päeval toimetatakse süstimist 2 korda päevas, enne ja peale lõunat, ning kolmandal päeval vaid enne lõunat. Vaginaalmääretise uurimist alatakse järgneva 30 tunni möödudes ja toimetatakse seda poolepäevaliste vaheaegadega 3 korda. Metüülalkoholis fikseeritud ja metüleensiniga värvustatud määretispreparaadi uurimisel arvestatakse lima, leukotsüütide, epiteelrakude ja tuumata rakk-käkude esinemist

eraldatakse seerum, ning viimasest süstitakse 1400—1600 grammilisele (infantiilsele), või vanemale, mittetiinele, isastest kauemat aega lahus hoitud emaskodujänesele kõrva veeni 5—10 cm³. Loom lahatakse või laparatomeeritakse 36—48 tunni järele ning ovaare uuritakse makroskoopiliselt. Ovaarides leiduvad veretähnid on positiivse testi (tiinuse) tunnuseks. Täniini on diagnoosimiseks saadetud materjali vaid hobustelt. Testi tasu kõikuvat 3 ja 5 kr. vahel.

Veres või uriinis leiduvate seksuaalhormoonide bioloogiliste demonstratsioonivii- side (testide) kõrval on püütud neid identifitseerida ka keemilisel teel. Seksuaalhormoonide keemilisel identifikaatsioonil baseeruvatest menetlustest on lähema tähelepanu osaliseks saanud Cuboni reaktsioon, milles follikuliini e. östriini esinemist uuritavas vedelikus (tiine mära uriinis) konstateeritakse roheline fluorestsentsi kaudu, mis tekib hapendatud uriini kuumen- damisel kontsentreeritud väävelhappega. Mittetiine mära uriin omab sama reaktsiooni tagajärjel pruuni või punakaspruuni värvuse ning täku uriin sinakas-roheline fluorestsentsi.

Cuboni reaktsiooni toimetatakse järgmiselt: katsut, mis täidetud 15 cm³ filtrere- ritud uriini ja sellele lisandatud 3 cm³ kontsentreeritud soolhappega, asetatakse 10 minutiks keevasse vette. Peale jahuta- mist kraanivees valatakse sama eraldus- trehtrisse, lisades samas hapendatud urii- nile (follikuliini ekstraheerimise otstarbel) 18 cm³ bensooli. Segu raputatakse tuge- vasti kuni 50 korda. Lühiajalise seismise järele eraldub trehtri sisu kaheks kihiks, millest alumine välja voolata lastakse. Alles jäänud (tiinuse korral follikuliini sisaldav) bensooliekstrakt valatakse puh-

tasse eraldustrehtrisse, lisatakse sellele ettevaatlikult 10 cm³ kontsentreeritud väävelhapet ja raputatakse uuesti korduvalt. Peale 5—15 minutilist seismist lastakse bensoolist eraldunud väävelhape katsutisse voolata ning asetatakse selles 5 minutiks 80° C veevanni. Jahtunult vaadeldakse vedeliku värvust pealelangevas päevavalguses (Cuboni, '36). Karmann ('36), kes 200 mära tiinuse määramisel Cuboni' reaktsiooni toimetanud paralleelselt Allen-Doisy' testiga, on saanud mõlemiga võrdselt häid resultate, eelistab aga esimest selle kiire läbiviidavuse ja odavuse tõttu.

Testi optimaalset ja võimalikku läbiviimise aega tiinuse faasi suhtes näitab järgnev tabel:

5. Greenwood, A. W. & Blyth, J. S. S. (1934), Biological Methods of Diagnosing Equine Pregnancy. Capon Test. Proc. Roy. Soc. Ser. B. Vol. 116. (ref.: Veterinary Bulletin, 2, 1936).
6. Kaay & al. (1936), Biologisch Gravitateits-onderzoek bij onze Huisdieren. Tiedsch. voor Diergeneesk. Deel 63.
7. Karmann, P. (1936), Die Feststellung der Trächtigkeit der Stute auf chemischem Wege durch den Nachweis des Ovarialhormons im Harn (Reaktion nach Cuboni). Tierärztl. Rundschau, Nr. 12.
8. Koch, W. (1935), Über Geschlechtshormone und den derzeitigen Stand ihrer Anwendung in der Veterinär-

L o o m	Prolaani esinemist demonstreerivad testid		Follikuliini esinemist demonstreerivad testid	
	Friedeman'i test (veri)	Zondek-Aschheim'i test (veri)	Allen-Doisy test (uriin)	Cuboni reaktsioon (uriin)
Mära (veri, uriin)	49. kuni 120. (optimaalselt 49.—84.) tiinuse päev (Magnusson) 47. kuni 82. tiinusepäev (Arnold, '35)	42. päevast kuni 6. tiinuse kuu keskpaigani (Küst, '34). 30. kuni 150. (keskmiselt 43.—100. tiinusepäevani (Zavadovsky jt. '36).	7-st, optimaalselt 9-st nädalast tiinuse lõpuni (Küst, '34). 75-st, optimaalselt 90-st päevast tiinuse lõpuni Zavadovsky, '36).	150-st tiinusepäevast alates (Cuboni, '36). 120-st tiinusepäevast alates (Karmann '36).
Lehm (uriin)	—	—	90-st tiinusepäevast alates Zavadovsky, '36).	—
Emis (uriin)	—	—	14-st päevast alates optim. 22. ja 30. tiinusepäeva vahel ja peale 75. tiinusepäeva (Zavadovsky, '36).	—

Tekstis mainitud kirjandus.

1. Arnold, J. J. (1935), Results of a Rabbit Ovulation Test for Equine Pregnancy. Quart. Bull. Mich. agric. Exp. Sta. Vol. 18. (ref.: Veterinary Bulletin, 12, 1936).
2. Cole, H. H. & Hart, G. H. (1930), The Potency of Blood Serum of Mares in Progressive Stages of Pregnancy in Effecting the Sexual Maturity of the Immature Rat. Amer. Journ. Physiol. Nr. Nr. 93 & 94.
3. Cuboni, E. (1936), Über eine schnelle Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute. Berl. Tierärztl. Wochenschr. Nr. 22.
4. Friedman, M. H. (1931), A Simple, Rapid Procedure for Laboratory Diagnosis of Early Pregnancies. Amer. Journ. Obst. & Gynecol. Vol. 21.

medizin. Münch. Tierärztl. Wochenschr. Nr. 35.

9. Küst, (1934), Über Sexualhormone bei den Haustieren. Klin. Wochenschr. Nr. 50.
10. Struck, M. (1935), Feststellungen und Betrachtungen über die Ausscheidung der Ovarialhormone bei Sauen während der Trächtigkeit. Deutsche Tierärztl. Wochenschr. Nr. 43.
11. Zavadovsky, B. M. & al. (1936), Гормональные методы диагностики беременности сельскохозяйственных животных. Сельхозгиз. Москва.
12. Vogt, V. (1935), Vergleichende Untersuchungen und Betrachtungen über die Sexualhormone bei unseren Haustieren. Arch. f. wiss. und prakt. Tierheilk., Bd. 69, 1. Heft.