

TAMMAN ISTUKAN KEHITTYMINEN JA TOIMINTA SEKÄ ISTUKAN INFEKTIOT

KIRJALLISUUSKATSAUS

Petra Huhti

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

Kotieläinten lisääntymistiede

Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin Yliopisto

2014

Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare - Author Petra Huhti			
Työn nimi - Arbetets titel - Title Tammen istukan kehittyminen ja toiminta sekä istukan infektiot -kirjallisuuskatsaus			
Oppiaine - Läroämne - Subject Kotieläinten lisääntymistiede			
Työn laji - Arbetets art - Level Lisensiaatin tutkielma	Aika - Datum - Month and year Huhtikuu 2014	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 50	
Tiivistelmä - Referat – Abstract Tammalla on anatomiselta rakenteeltaan diffuusi istukka, jossa ravitsemuskalvon eli allantokorionin pintaa peittävät makrovilluseräymien muodostamat mikrokotyledonit työntyvät endometriumien taskumaisten poimujen muodostamiin mikrokarunkkeleihin muodostaen mikroplasentomeja. Tamman istukka kasvaa ja muotoutuu tiineyden edetessä. Alkeellisten makrovillusten kehittyminen alkaa 45. tiineysvuorokautena. Primaarisessa laskostumisessa nämä mikrokotyledonien esiasteina toimivat makrovillukset työntyvät endometriumien poimuihin. Histologisessa tarkastelussa nähdään trofoblastisolujen ja kohdun epiteelisolujen kiinnittyminen toisiinsa mikrovillusten avulla. Sekundaarinen laskostuminen monimutkaistaa istukan liittymäkohtaa 100. tiineysvuorokautena ja mikrokotyledonit ovat hyvin kehittyneet 150. tiineysvuorokautena. Istukan kehittymiseen ja toimintaan vaikuttavat useat eri tekijät, kuten emän ja kohdun koko, emän ravitsemus, endometriumien rappeumamuutokset, kaksostiineys ja hormonipuutokset. Tiineydenaikainen hormonituotanto eroaa tamman kohdalla muista nisäkkäistä. Ensimmäinen estrogeenipitoisuuden nousu nähdään 33. -39. tiineysvuorokautena tamman munasarjatuotannon toimesta. Sikiö ja istukka vastaavat estrogeenituotannosta pääosin 80. tiineysvuorokauden jälkeen ja estrogeenien huippupitoisuudet nähdään 7. – 8. tiineysvuorokautena. Sikiön sukupuolirauhaset tuottavat kolesterolista pregnenolonin kautta dehydroepiandrosteronia (DHA), joka perinteisessä estrogeenintuotantoreitissä muunnetaan fenoliestrogeeneiksi istukassa. Kolesterolista riippumattomassa vaihtoehdoisessa reitissä sikiön sukupuolirauhaset tuottavat tammalle ainutlaatuisten estrogeenien, equiliinin ja equileniinin, esiasteita, jotka muutetaan istukassa näiksi tyydyttämättömiksi estrogeeneiksi. Tamman munasarjojen primaarinen keltarauhanen ja sekundaariset keltarauhaset vastaavat progesteronituotannosta alkutiineydessä. Istukalla on yksinomainen rooli progesteronin tuottajana tiineysvuorokaudesta 70 – 100 lähtien. Tamman plasman progesteronipitoisuus laskee tiineyden edetessä päinvastoin kuin muilla nisäkkäillä ja nousee vasta hieman ennen varsomista. Tamman endometriummassa nähdään gonadotropiinia (eCG) tuottavat kohtukupit tiineysvuorokausina 40 – 120. Suonikalvon trofoblastisolut tunkeutuvat endometriumin epiteelin läpi stroomaan ja kehittyvät kuppisoluiksi. Munasarjat tuottavat estrogeeneja eCG:n stimuloimana. Sekundaariset follikkelit ovuloituvat tai luteinisoituvat eCG:n LH-vaikutuksesta. Infektiivinen istukatulehdus on syy useisiin abortteihin tiineyden aikana. Bakteerit ovat olleet monissa tutkimuksissa tärkeimpiä istukasta eristettyjä mikrobeja. Bakteerilajien yleisyyteen vaikuttavat maantieteellinen sijainti ja ajankohta. Istukatulehdukset jaetaan askendoiviin ja ei-askendoiviin infektiioihin. Askendoivassa infektiossa patogeeni pääsee kohtuun kohdunkaulan kautta. Verivälitteinen infektio ja endometriitin seurauksena syntyvä istukatulehdus ovat esimerkkejä ei-askendoivista infektiosta. Tammalla voidaan havaita emätinvuotoa tai ennen aikaista maidon erittämistä kliinisinä oireina, mutta abortteja voidaan nähdä myös ilman edeltäviä merkkejä. Istukatulehduksen diagnosoinnissa voidaan käyttää apuna transrektaalista ultraäänitutkimusta. Kohdun ja istukan yhteenliittymän ulkonäkö ja paksuus voi paljastaa istukatulehduksen. Helppo ja nopea tapa on mitata seerumin amyloidi A-pitoisuus emältä. Istukatulehdustammoilla pitoisuus on kohonnut. Tutkimuksien mukaan tehokas lääkeaineyhdistelmä istukatulehduksen hoidossa on trimetopriimisulfa, tulehduskipulääke ja altrenogesti. Näiden yhteiskäytöllä on lisätty elävänä syntyvien varsojen lukumäärää.			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords tamma, istukka, mikrokotyledon, infektiivinen istukatulehdus, CTUP, istukatulehduksen hoito			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited Eläinlääke- ja elintarviketieteiden (EE) -talon Oppimiskeskus			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktör och ledare - Director and Supervisor(s) Työn johtaja: Kotieläinten lisääntymistieteen professori, ELT, MS, Lisääntymistieteen erikoiseläinlääkäri, ECAR dipl. Terttu Katila Työn ohjaaja: ELT, ECAR, dipl. Maria Kareskoski			

SISÄLLYSLUETTELO

1 JOHDANTO	1
2 ISTUKAN RAKENNE JA MUODOSTUMINEN	1
2.1 Yleistä	1
2.2 Sikiökalvojen muodostumisaikataulu pääpiirteittäin	3
2.3 Istukan muodostuminen	3
2.3.1 Muutokset 45. – 100. tiineysvuorokauden aikana	4
2.3.2 Muutokset 100. – 200. tiineysvuorokauden aikana	5
2.3.3 Muutokset 200. tiineysvuorokaudesta eteenpäin	6
2.4 Istukan kehittymiseen ja toimintaan vaikuttavat tekijät	7
2.4.1 Emän ja kohdun koko	7
2.4.2 Emän ravitseminen	8
2.4.3 Endometriumin rappeuma	8
2.4.4 Kaksostiineys	9
2.4.5 Hormonipuutokset	9
3 TIINEYDENAIKAINEN HORMONITUOTANTO	10
3.1 Estrogeenit	10
3.2 Progestageenit	13
3.3 eCG (equine chorionic gonadotrophin)	15
3.4 Prostaglandiini ja relaksiini	17
4 ISTUKKATULEHDUS	18
4.1 Etiologia ja patologiset löydökset	19
4.2 Patofysiologia	23
4.3 Kliiniset merkit	24
4.4 Diagnosointi	25
4.4.1 Transrektaalinen ultraäänitutkimus	25
4.4.2 Transabdominaalinen ultraäänitutkimus	27
4.4.3 Biomarkkerit	27
4.5 Hoito	28
4.5.1 Yleistä hoitokäytännöistä	28
4.5.2 Mikrobilääkkeiden jakautuminen	30
4.5.3 Tulehduskipulääkkeet ja niiden käyttöön liittyvät riskit tiineyden aikana	32
4.5.4 Ennen aikaisten supistusten estäjät (tokolyytit)	34
5 POHDINTA	36
6 KIITOKSET	39
7 LÄHDELUETTELO	40

1 JOHDANTO

Suomessa syntyy vuosittain melkein 1300 lämminverivarsaa, 1200 suomenhevosvarsaa, 600 ponivarsaa ja 350 ratsuvarsaa (Suomen Hippos 2013). Varsan teettämiseen liittyy paljon kustannuksia mm. oriin varausmaksun, siemennysmaksun, eläinlääkärin ultraäänitutkimuksien, erilaisten lääkitysten sekä tamman kuljetus- ja perushoitomaksun muodossa. Jos tamma ei varsokaan 11 kuukauden kuluttua viimeisestä siemennyksestä, aiheutuu tamman omistajalle suuria taloudellisia tappioita ja hukataan työtä ja aikaa.

Infektiivinen istukkatulehdus on usein syynä tamman abortointiin tai varsan syntymiseen kuolleena. Euroopassa ja Yhdysvalloissa on tehty laajoja retrospektiivisiä tutkimuksia, joissa infektiivinen tekijä on osoitettu abortoinnin syyksi (Hong ym. 1993, Laugier ym. 2011). Tammaa siitokseen valittaessa on hyvä selvittää tamman suorituskyvyn ja suvun lisäksi sen lisääntymishistoria ja mahdolliset suvun lisääntymisongelmat sekä kiinnittää huomio tamman mahdollisesti infektiolle altistavaan perineaalialueen rakenteeseen. Tämän tutkielman tarkoitus on koota kirjallisuudesta tutkittua tietoa tamman istukan muodostumisesta, istukan hormonituotannosta tiineyden aikana, istukkatulehduksen etiologiasta ja patofysiologiasta sekä sen diagnosoinnista ja hoidosta. Kirjallisuustutkielman tarkoitus on koota yhteen tärkeitä istukkatulehdukseen liittyviä asioita, koska suomenkielistä tekstiä aihealueeseen liittyen ei ole saatavilla. Istukan toimintaan ja kehittymiseen vaikuttavat useat tekijät. Näin ollen on selvää, että tilat tai olosuhteet, jotka heikentävät kohdun ja istukan välistä kontaktia ja siten istukan tehokkuutta, vaikuttavat sikiön hyvinvointiin, kehitykseen ja elossa pysymiseen.

2 ISTUKAN RAKENNE JA MUODOSTUMINEN

2.1 Yleistä

Istukat voidaan jakaa eri luokkiin niiden anatomisen rakenteen, histologisen rakenteen tai katokalvon irtoamisen perusteella. Anatomisesti istukat jaetaan neljään tyyppiin. Emakon ja tamman istukkatyyppi on diffuusi (Roberts 1986). Emakon istukassa koko suonikalvon pintaa peittävät lähellä toisiaan sijaitsevat nukkalisäkkeet eli villukset (Senger 2003). Tamman istukassa rakkokalvon (allantois) ja suonikalvon (chorion) yhteenliittymän eli ravitsemuskalvon (allantochorion) pintaa peittävät

makrovilluskeräymien muodostamat mikrokotyledonit työntyvät endometriumin taskumaisiin poimuihin eli mikrokarunkkeleihin muodostaen mikroplasentomeja (Roberts 1986, Abd-Elnaeim ym. 2006). Märehtijöillä, kuten lehmällä, uuhella ja kutulla, on kotyledonaarinen istukkatyyppi (Leiser ym. 1998, Senger 2003). Tässä tyyppissä plasentomit huolehtivat istukan toiminnallisista tehtävistä. Plasentomi muodostuu pienestä osasta emän istukkaa (karunkkeli) ja sikiön ravitsemuskalvosta (karunkkeliin työntyvä kotyledoni). Lehmän normaalissa, tiineessä kohdussa näitä plasentomeja on 75 - 120 kappaletta ja uuhien kohdussa 80 - 90 kappaletta. Karunkkelien välinen endometrium ja kotyledonien välinen sikiönpuoleinen istukka eivät osallistu istukan toimintoihin plasentomien muodostumisen jälkeen. Nartulla ja naaraskissalla on vyömäinen istukka, joka muodostaa noin 2,5 - 7,5 cm leveän alueen suonikalvopussin keskiosan päälle. Loppuosa suonikalvosta on paljas, eikä osallistu istukan toimintoihin tiineyden aikana. Ihmisellä ja jyrsoilla alue endometriumin ja allantokorionin välillä on pyöreähkö, jolloin puhutaan kiekkomaisesta tai levymäisestä istukasta (Roberts 1986).

Histologisesti istukat voidaan luokitella emän ja sikiön verenkierron välissä olevien kerrosten lukumäärän mukaan. Tammalla, emakolla, lehmällä ja uuhella on epiteliokoriaalinen istukkatyyppi. Siinä kuusi kerrosta erottaa emän ja sikiön verenkierrat toisistaan (Roberts 1986, Senger 2003). Emänpuoleiset kerrokset ovat endoteeli, sidekudos ja epiteeli (endometrium) ja sikiönpuoleiset kerrokset ovat epiteeli (trofoblasti), sidekudos ja endoteeli. Endotelialisessa istukkatyyppissä on neljä eri kerrosta, jotka ovat kohdun verisuonten endoteeli, suonikalvo, mesenkyymi ja sikiönpuoleinen endoteeli. Nartun ja naaraskissan istukat edustavat tätä tyyppiä. Jyrsoilla ja kädellisillä on hemokoriaalinen istukkatyyppi, jossa kaikki emänpuoleiset kerrokset ovat poissa. Tässä istukkatyyppissä esiintyy huomattavia eroavaisuuksia eri lajien välillä. Istukat voidaan jakaa vielä desiduaalisiin ja indesiduaalisiin sen mukaan, kuinka paljon emän endometriumin limakalvosta irtoaa synnytyksen yhteydessä. Ihmisellä ja jyrsoilla on desiduaalinen istukka, jolloin osia emän epiteelistä poistuu synnytyksen yhteydessä jättäen osan endometriumin aluetta paljaaksi. Nartulla ja naaraskissalla on hieman muunneltu versio desiduaalisesta istukasta. Indesiduaaliselle istukalle on ominaista se, että sikiökalvot ja istukka poistuvat synnytyksessä ja endometrium jää ehjäksi. Tämä tyyppi nähdään tammalla, märehtijöillä ja emakolla (Roberts 1986).

2.2 Sikiökalvojen muodostumisaikataulu pääpiirteittäin

Tamman alkiot saapuvat kohtuun 144 - 156 tunnin (6,5 - 7 vrk) kuluessa ovulaation jälkeen. Aikaväli ovulaation ja hedelmöityksen välillä vaihtelee ja alkionkehitysnopeus voi erota yksittäisillä alkioilla (Battut ym. 1998). Alkio on kohtuun saapuessaan aikaisessa blastokystivaiheessa (Oguri ja Tsutsumi 1972). Alkiorakkulan halkaisija on n. 2 mm 9 vrk ovulaation jälkeen. Sen toisessa reunassa on sisäsolumassa, josta kehittyy alkio. Trofoblastisolukerros verhoaa sisäsolumassan ja alkiorakkulan pintaa ja siitä kehittyvät jatkossa sikiökalvot. Kolme vuorokautta myöhemmin kehittyvät ruskuaispussi sekä endodermikerros trofoblastikerroksen sisäpuolelle.

Mesodermikerros alkaa kasvaa alkioista 14. tiineysvuorokautena ja ympäröi puolet ruskuaispussista kaksi vuorokautta myöhemmin. Tällöin alkaa myös vesikalvon muodostuminen, joka ympäröi alkion 20. tiineysvuorokautena. Tällöin rakkokalvo alkaa näkyä pienenä pullistumana ja se ulottuu alkion takasuolesta vesikalvon ja ruskuaispussin väliseen onteloon. Tiineysvuorokautena 25 rakkokalvo on hyvin verisuonitettu ja se sijaitsee kattomaisesti vesikalvon ja sikiön yläpuolella. Rakkokalvon ja suonikalvon yhteenliittyminen alkaa tässä vaiheessa alkionpuoleisessa päässä. Yhä enemmän tilaa vievän rakkokalvon ja sen tieltä vetäytyvän ruskuaispussin liittymäkohtaan kehittyy rengasmaisen vyöhykealue, suonikalvon vyö eli chorionic girdle. Alussa tämä suonikalvossa oleva alue on n. 1 mm leveä ja siinä nähdään trofoblastisolujen hypertrofiaa ja erilaistumista. Viisi vuorokautta myöhemmin vyöhykkeen leveys on n. 5 mm ja tiineysvuorokautteen 36 mennessä nähdään haarautuvia, villusmaisia rakenteita endometriumiin kiinnittyneinä (Van Niekerk ja Allen 1975).

2.3 Istukan muodostuminen

Istukka koostuu kahdesta osasta: sikiön puoleisesta ravitsemuskalvosta eli allantokorionista ja emän puoleisesta endometriumista. Napanuora yhdistää sikiön ja istukan. Hevossikiöllä napanuora on pituudeltaan keskimäärin 45 – 60 cm, mutta sen pituus voi olla jopa 90 cm (Roberts 1986). Mikrokotyledoneja ja sen myötä

kiinnittymistä ei nähdä endometriumin kohtukupeissa, kohdunkaulan aukon alueella, munanjohdinten aukoissa, ruskuaispussin kiinnittymiskohdassa, suurissa verisuonissa eikä ravitsemuskalvon poimuissa (Whitwell ja Jeffcoff 1975). Invasiivisten trofoblastisolujen kiinnittyminen endometriumiin on alku emän ja sikiön solujen väliselle vuorovaikutukselle (Allen ja Moor 1972). Tämä kiinnittyminen päättyy kuitenkin hyvin nopeasti tiineysvuorokausina 36 - 38, kun vyöhykealueen trofoblastisolut tunkeutuvat endometriumiin (Van Niekerk ja Allen 1975). Endometriaaliset kupit kehittyvät ennen kuin ravitsemuskalvo eli allantokorion ja endometrium liittyvät toisiinsa eli kupprien muodostuminen ei liity istukan muodostumiseen (Allen ja Moor 1972). Tammalle ainutlaatuisten endometriaalisten kupprien muodostumisesta kerrotaan lisää hormonituotantokappaleessa.

2.3.1 Muutokset 45. - 100. tiineysvuorokauden aikana

Primaarisessa laskostumisessa makrovillukset työntyvät kohdun epiteelin poimuihin (Samuel ym. 1974). Ravitsemuskalvon eli allantokorionin pinnalle alkaa kehittyä alkeellisia makrovilluksia 45. tiineysvuorokautena. Nämä villukset ovat myöhemmin kehittyvien mikrokotyledonien esiasteita (Van Niekerk ja Allen 1975). Yksinkertaisissa allantokorionin makrovilluksissa on verisuonia sekä fibro- että perisytyteistä ja kollageeniverkosta muodostuva sidekudosydin (Samuel ym. 1974).

Samuel ym. (1974) tutkivat tamman istukan histologista rakennetta ja kehittymistä Welsh mountain -poneilla. He havaitsivat trofoblastikerroksen koostuvan korkeista, pylväsmäisistä soluista 60. tiineysvuorokautena. Vastakkain olevat trofoblastisolut ja kohdun epiteelisolut kiinnittyvät toisiinsa mikrovillusten avulla, jotka ovat limittäin sormimaisten ulokkeiden välityksellä toistensa lomassa. Samuel ym. (1976) tutkimuksessa tämä kiinnittyminen nähtiin jo 46. tiineysvuorokautena laajana vyöhykkeenä suonikalvon pinnalla. Tiineysvuorokausina 45 - 75 sikiönpuoleisia verisuonia ympäröi selkeä tyvikalvo, joka erottuu trofoblastien tyvikalvosta ympäröivän sidekudoksen toimesta. Trofoblastien tuma sijaitsee sytoplasman tyviosassa ja on rakenteeltaan epäsäännöllinen ja liuskainen. Mikrovillusten alapuolella näkyy sytoplasmavyöhyke, jossa on pinosytoottisia rakkuloita, muttei soluelimiä.

Kiinnittymisen alkuvaiheessa tyvikalvoon kiinnittyvä emänpuoleinen epiteeli on kuutiomaista. Kollageenista ja fibrosyyteistä muodostuva sidekudosjuoste erottaa emänpuoleiset verisuonet epiteelistä.

2.3.2 Muutokset 100. - 200. tiineysvuorokauden aikana

Istukan liittymäkohdan villusrakenne monimutkaistuu 100. tiineysvuorokaudessa sekundaarisen laskostumisen myötä, joka etenee seuraavan 30 - 40 vuorokauden aikana (Samuel ym. 1974). Sikiönpuoleisessa istukassa nähdään pääosin lyhyitä (0,05-0,25 mm) makrovilluksia 105. tiineysvuorokautena (Macdonald ym. 2000). Histologisesti tarkasteltuna trofoblastisolujen muoto muuttuu matalammaksi (Samuel ym. 1974, 1976). Mikrovillusten kiinnittyminen toisiinsa ei eroa 60. tiineysvuorokaudesta, mutta sikiönpuoleisissa mikrovilluksissa nähdään haaroittumista (Samuel ym. 1974). Kohdun endometriumin kuopakkeita esiintyy yksittäin epäsäännöllisissä riveissä ja niiden tiheys 105. tiineysvuorokaudessa on 100 kpl/mm^2 (Macdonald ym. 2000).

Mikrokotyledonit ovat hyvin kehittyneet istukan liittymäkohdassa 150. tiineysvuorokaudessa. Sikiönpuoleinen osa mikroplasentomista muodostuu erillisistä makrovillustupsuista, jotka liittyvät erillisiin, niitä vastaaviin kuopakkeisiin kohdun epiteelissä (Samuel ym. 1974). Stevenin ja Samuelin (1975) tutkimuksen mukaan endometriumin alaisista verisuonista nousevat kohtuvaltimohaarat jokaisen mikrokarunkkelin pinnalle. Laskimohaarat muodostavat verkon mikrokarunkkelin ympärille ja yksittäinen laskimo lähtee jokaisen mikrokarunkkelin pohjasta. Sikiönpuoleisesta istukasta tulevat napasuonien haarat nähdään makrovillus -haarojen reunoilla. Sikiönpuoleiset kapillaarit ovat muodoltaan ovaaleja ja ne sijaitsevat trofoblastikerroksen alapuolella. Trofoblastikerros on vastakkain kohdun epiteelin kanssa, jonka alapuolella nähdään emänpuoleiset kapillaarit (Abd-Elnaeim ym. 2006). Näin varmistetaan maksimaalinen aineiden vaihto.

Samuel ym. (1977) tutkimuksen mukaan tamman kohturauhasten tiehytaukot sijaitsevat mikrokotyledonien väleissä. Tamman kohturauhaset ovat umpinaisia, putkimaisia

rakenteita, jotka sijaitsevat kohdun tukikudoksessa. Jokaisessa rauhasessa on lyhyt, kapea tiehytosa ja suora, putkimainen osa sekä erittävä osa, joka sijaitsee syvällä tukikudoksessa ja on rakenteeltaan hyvin kiertynyt. Kohturauhaset esiintyvät yleensä neljän kappaleen ryhmissä ja tyhjentävät eritteensä kohdun pinnalle. Histologisessa tarkastelussa nähdään, että emän puolella mikroplasantomin ympärille kehittyi sidekuduskapseli ja sidekudosmäärä lisääntyy sikiön puolella huomattavasti (Samuel ym. 1974). Samuel ym. (1976) havaitsivat, että trofoblastien muoto muuttuu matalammaksi ja niiden apikaalipinnan mikrovillukset ovat paksumpia ja lyhyempiä sekä rakenteeltaan epäsäännöllisiä ja haaroittuneita.

2.3.3 Muutokset 200. tiineysvuorokaudesta eteenpäin

Macdonaldin ym. (2000) elektronimikroskooppitutkimuksissa nähdään 165. tiineysvuorokaudessa endometriumin kuopakkeiden halkaisijan kasvaneen (0,08-0,25 mm) ja niiden tiheyden alentuneen (<60 kpl/ mm^2). Kuopakejoukko muodostaa mikrokarunkkelin, joita esiintyy 1-2 kpl/ mm^2 . Mikrokarunkkelien pohjalla näkyy keskimäärin 16 aukkoa 180. tiineysvuorokaudessa. Mikrokarunkkelit ulottuvat tällöin kohdun endometriumin pinnasta 0,8 mm syvyyteen. Tiineysvuorokausina 260 - 277 mikrokarunkkeleita esiintyy tiheydellä 1 kpl/ mm^2 ja tiineysvuorokausina 313 - 337 1-2 kpl/ mm^2 . Mikrokarunkkelien pohjalla nähdään keskimäärin 20 - 35 aukkoa tiineysvuorokausina 325 - 329. Mikrokarunkkelit ulottuvat tässä vaiheessa noin 1,0 mm:n syvyyteen.

Sikiönpuoleisen istukan makrovillusten pituus vaihtelee 0,1-0,35 mm:iin 165. - 180. tiineysvuorokaudessa. Yhdestä mikrokotyledonin villuksesta voi haarautua jopa kuusi haaraa. Villusten pituus ja haaroittuvuus ovat kasvaneet 260 - 277 vuorokauden tiineydessä. Mikrokotyledonissa nähdään 313. - 337. tiineysvuorokaudessa pitkiä (1,0-1,3 mm), tiheästi pakattuja villuksia. Muutama päivä ennen varsomista useiden villusten päissä nähtiin haaroittumista. Tiineyden lopulla mikrokotyledonien koko vaihtelee 0,3-3,0 mm:iin. Suurin osa mikrokotyledoneista on erillisiä, mutta jotkut ovat sulautuneet yhteen (Macdonald ym. 2000). Samuel ym. (1976) mukaan 200. tiineysvuorokaudessa nähdään edelleen emänpuoleisen epiteelin madaltumista ja 300. tiineysvuorokaudessa

epiteelikerroksen solujen korkeus on madaltunut kolmasosaan alkuperäisestä. Trofoblastien korkeus pienenee myös mikrokotyledonien kohdalla, jolloin emän ja sikiön verenkiertojen välimatka pienenee merkittävästi. Mikrokotyledoneissa on nähtävissä rappeumamuutoksia, joita näkyy eniten monimutkaisten poimujen alueilla ja vähiten mikrokotyledonien reunoilla.

2.4 Istukan kehittymiseen ja toimintaan vaikuttavat tekijät

Tiineyden jälkimmäisellä puoliskolla kohdun ja istukan kudosten hapen ja glukoosin käyttö on merkittävää. Tammalla näiden kudosten hapenkäyttö on viisinkertainen ja glukoosin käyttö kymmenkertainen verrattuna sikiöön sekä tiineyden keski- että loppuvaiheissa. Tamman diffuusi istukka kasvaa ja muotoutuu rakenteellisesti tiineyden edetessä, mikä selittää korkeaa hapen ja energian tarvetta (Fowden ym. 2000). Istukan normaali muodostuminen on olennaista sikiön terveyden ja kehittymisen kannalta. Puutokset istukan toiminnassa voivat heijastua sikiön kasvuun ja kypsymiseen (Wilsher ja Allen 2003).

2.4.1 Emän ja kohdun koko

Allen ym. (2002b) arvioivat emän koon ja sikiön genotyypin vaikutusta istukan ja sikiön kehittymiseen. Ravitsemuskalvon eli allantokorionin mikroskooppinen kokonaispinta-ala määrittää pääasiallisesti varsan syntymäpainon riippumatta emän tai sikiön genotyypistä. Nämä genotyypit vaikuttavat kuitenkin pinta-alan kehittymiseen. Täysveristen tammojen kohtuun siirrettyjen ponin alkioiden istukoista kehittyi suurempia kuin ponin alkioilla ponitammojen kohdussa. Täysveristen tammojen näistä alkioista syntyneillä varsoilla syntymäpaino oli myös korkeampi kuin ponitammojen ponivarsoilla. Istukan paino ja varsan syntymäpaino oli korkeampi, kun täysveriset tammot kantoivat oman rotunsa sikiötä. Kun täysverinen sikiö kasvoi ponitamman kohdussa, istukan ja sikiön kasvu oli rajoittunut. Geneettiset tekijät edistävät istukan kasvua, kun täysverisen tammän sikiö kasvaa ponitamman kohdussa ja puolestaan rajoittavat sitä, kun ponitamman sikiö kasvaa täysverisen tammän kohdussa. Täysverivarsan kasvu ponitamman kohdussa oli rajoittunut ja varsan syntymäpaino oli hieman yli puolet normaalin täysverivarsan syntymäpainosta. Stressitekijät laukaisivat

sikiön pregnenolonituotantoa ja käynnistynyt hormonikaskadi aikaisti sikiön syntymää kuudella päivällä.

2.4.2 Emän ravitseminen

Wilsher ja Allen (2006) tutkivat tamman ruokinnan vaikutusta istukan ja sikiön kasvuun. Emän elopaino lisääntyi enemmän energiaa saavalla ryhmällä. Korkean energian ryhmässä ruokinta vastasi 2,5 - 3 -kertaista ylläpitotasoa. Kohtuullisen energian ryhmässä tammoja ruokittiin ylläpitotason mukaisesti. Ruokintatasolla ei ollut vaikutusta istukan ja sikiön kasvuparametreihin, joten ravintoaineet eivät jakaudu emälle sikiön kustannuksella. Tammojen sairastuminen infektiotautiin johti ruokahalun menetykseen ja sen seurauksena painon menetykseen. Äkkinäinen painon menetys tiineyden keskivaiheilla aiheutti häiriötä istukan kehittymiseen ja sitä kautta sikiön kasvu heikkeni ja varsan syntymäpaino aleni. Istukan tehokkuus oli myös alhaisempi infektoituneilla tammoilla kuin terveillä tammoilla ja sen paino ja tilavuus olivat pienemmät. Allenin ym. (2002a) mukaan sikiön ja emän ravitsemuksellisella stressillä voi olla vahva vaikutus endokriiniseen profiiliin.

2.4.3 Endometriumin rappeuma

Wilsherin ja Allenin (2003) mukaan iän ja varsomisten aiheuttamat endometriumin rappeumamuutokset vaikuttavat istukan mikrokotyledonien morfologiaan ja tiheyteen. Tiheys vaikuttaa emän ja sikiön välisen kontaktin kokonaispinta-alaan. Mikrokotyledonien tiheys oli alhaisin ikääntyneillä (> 16v.), monta kertaa varsoineilla tammoilla todennäköisesti endometriumin rappeumamuutoksien vuoksi. Yllättävä havainto oli se, että ensi kertaa varsovien tammojen mikrokotyledonien tiheys oli huomattavasti alhaisempi verrattuna nuoriin, monta kertaa varsoihin tammoihin. Tutkimuksen mukaan tamman kohtu tarvitsee ensimmäisen tiineyden ns. alkuvaihtuksen ennen kuin se voi saavuttaa täyden potentiaalinsa istukan ja sikiön kasvun edistämiseksi. Mikrokotyledonien tiheys oli suurempi toisessa tiineydessä ja se korreloi syntyneen varsan suuremman syntymäpainon kanssa. Suurimmat varsat syntyivät monta kertaa varsoineilla, 10 - 15 -vuotiailla tammoilla. Ravitsemuskalvon eli allantokorionin paino (kg) ja tilavuus olivat myös näillä suurimmat.

2.4.4 Kaksostiineys

Jos tammalla on kaksostiineys, kahden sikiön ravitsemuskalvot eli allantokorionit kilpailevat endometriumin kosketuspinnasta kasvun myötä. Samankokoisten kaksosten suonikalvot ovat mediaalisesti vastakkain, jolloin villuksellisen istukka-alueen pinta-ala pienenee verrattuna yksittäistiineyteen. Tällöin mikrokotyledonien aikaansaama kaasujen ja ravintoaineiden vaihto ei ole riittävää kahdelle sikiölle. Tamma luo yleensä toisen sikiön 7.-9. tiineyskuukaudessa, kun lisääntyvä ravintoaineiden tarve ei riitä heikompiosaiselle sikiölle. Toinen sikiö kuolee ja istukan irtoaminen voi alkaa, mikä voi johtaa molempien sikiöiden abortointiin (Jeffcott ja Whitwell 1973).

2.4.5 Hormonipuutokset

Pashen ja Allen (1979) havaitsivat merkittävän aleneman sellaisten tammojen seerumin estrogeenipitoisuuksissa, joiden sikiöiden sukupuolirauhaset oli poistettu 197. - 253. tiineysvuorokautena. Estrogeenilla on osuus normaalissa sikiönkehityksessä. Sen vaikutus voi välittyä kohdun ja istukan verenkierron kautta. Sikiöt selviytyivät tiineyden loppuun saakka. Estrogeeneilla on vaikutus tiineyden ja varsomisen verenkierron hemodynamiikkaan ja se vaikuttaa istukan rakenteeseen todennäköisesti alentuneen vaskulogeneesin kautta.

Allenin (1982) mukaan suonikalvon vyömäisen alueen (chorionic girdle) muodostus epäonnistui, kun aasin alkio siirrettiin tamman kohtuun. Suonikalvon vyön solujen tunkeutuminen tamman kohdun epiteeliin ei onnistunut 36. - 38. tiineysvuorokautena. Sikiö jatkoi kehitystään, mutta ravitsemuskalvo eli allantokorion rappeutui ja emän puolustussolut hyökkäsivät sitä vastaan. Tiineyksistä 30 % jatkui kuitenkin loppuun asti viivästyneestä ja epätäydellisestä istukan kehittymisestä huolimatta. Osa syntyneistä varsoista oli hyvin kasvaneita, osa puolestaan oli kehittymättömiä, pieniä ja hädin tuskin eläviä.

3. TIINEYDENAIKAINEN HORMONITUOTANTO

Tamman lisääntymishormonit voidaan jakaa yksinkertaistettuna gonadotropiineihin ja steroideihin. Gonadotropiineihin kuuluvat aivolisäkkeen etuosasta erittyvät follikkulia stimuloiva hormoni (FSH) ja luteinisoiva hormoni (LH) sekä istukan suonikalvon gonadotropiini (equine chorionic gonadotropin, eCG). Steroidit ovat laaja joukko hormoneita, jotka voidaan jakaa progestiineihin, estrogeeneihin ja androgeeneihin. Näihin kuuluvia lisääntymishormoneja muodostuu ja erittyy munasarjoista, istukasta ja lisämunuaiskuoresta (Senger 2003). Tammalla on ainutlaatuinen steroidihormonien aineenvaihdunta tiineyden keski- ja loppuvaiheessa (Holtan ym. 1991). Hydroksisteroididehydrogenaaseilla on keskeinen tehtävä steroidihormonien tuotannossa ja inaktivaatiossa. Steroideja tuottavissa kudoksissa 3 β -hydroksioksidoreduktaasi ja 3- β -hydroksisteroididehydrogenaasi muuntavat pregnenolonia ja dehydroepiandrosteronia progesteroniksi ja androstenedioniksi. Näistä jälkimmäiset toimivat kortikosteroidien, estrogeenien ja androgeenien esiasteina (Tait 1998).

3.1 Estrogeenit

Estrogeeneja voidaan havaita tiineyden aikana tamman plasmassa, tamman virtsassa ja rakkokalvon sikiönesteessä. Estrogeeneihin kuuluvat estroni, estradioli-17 α ja 17 β sekä tammalle ainutlaatuiset equiliini ja equileniini. Näiden lisäksi voidaan havaita hydroksijohdannaisia, kuten 17 β -hydroksiequileniinia, ja sulfokonjugaatteja, kuten estronisulfaattia (Ousey 2004). Tamman tiineyden aikainen estrogeenituotanto eroaa muista nisäkkäistä. Tamman plasman ja virtsan estrogeenipitoisuudet ovat korkeat tiineyden jälkimmäisellä puoliskolla (Barnes ym. 1975). Tällöin tamman plasmassa on runsaasti equiliinia ja equileniinia (Ousey 2004). Huippupitoisuudet saavutetaan seitsemännen ja kahdeksannen tiineyskuukauden aikana, minkä jälkeen pitoisuudet alenevat vähitellen (Barnes ym. 1975) ollen alhaiset ennen varsomista (Pashen ja Allen 1979). Estrogeenit eivät ole olennaisessa osassa tiineyden ylläpidossa sen loppupuolella, mutta ne ovat tärkeitä varsomisessa. Tällöin estrogeenien kokonaismäärän sijaan

tietyillä estrogeeneilla voi olla paikallisesti vaikuttavia tehtäviä kohdun ja istukan kudoksissa. Ne voivat edistää prostaglandiinien ja oksitosiinin vapautumista ja näin aktivoida epäsuorasti kohdun myometriumi (Ousey 2004). Sikiön sukupuolirauhasten poisto tiineysvuorokausina 197 - 253 alensi voimakkaasti emän plasman estrogeenien kokonaismäärää. Tällaisia sikiötä kantavien emien myometriumin supistukset varsomisessa olivat heikkoja ja plasman PGFM-pitoisuudet alhaisia (Pashen ja Allen 1979).

Terqui ja Palmer (1979) mittasivat tamman plasman konjugoituneen ja konjugoitumattoman estrogeenin tasoja tiineysvuorokausina 0 - 100 ja vertasivat sitä kiimakierron aikaisiin tasoihin. Tiineysvuorokausina 0 - 35 pitoisuudet olivat yhdenmukaisia diestruksen aikaisten tasojen kanssa. Daelsin ym. (1990) tutkimuksessa verrattiin estrogeenipitoisuuksia normaaleilla tiineillä tammoilla ja tiineillä tammoilla, joilta oli poistettu munasarjat. Estrogeenikonjugaattipitoisuudet olivat alhaisemmat tammoilla, joilta oli poistettu munasarjat. Niiden virtsan estrogeenipitoisuus oli tiineysvuorokausina 20 - 33 13 % ja tiineysvuorokautena 70 20 % normaalien tiineiden tammojen estrogeenipitoisuudesta. Daelsin ym. (1990) mukaan estrogeeni tuotetaan pääosin tamman munasarjassa ensimmäisen 70 tiineysvuorokauden aikana. Tiineysvuorokausina 33 - 39 nähdään ensimmäinen merkittävä nousu tamman virtsan estrogeenipitoisuudessa. Samanlaiseen tulokseen päätyivät Terqui ja Palmer (1979), joiden tutkimuksessa estrogeenin kokonaispitoisuus lisääntyi tiineysvuorokausina 35 - 40. Munasarjojen poisto alensi pitoisuuksia. Tiineysvuorokausina 40 - 60 oli nähtävissä tasannevaihe, jolloin estrogeenipitoisuus oli 3 ng/ml ja hieman korkeampi kuin pitoisuus ennen ovulaatioita. Daelsin ym. (1990) mukaan ensimmäinen estrogeenipitoisuuden nousu on munasarjan vaste endometriaalisten kohtukuppien eCG-eritykseen. Terquin ja Palmerin (1979) mukaan pitoisuuden kohoaminen aiheutuu epäsuorasti eCG:sta, joka saa aikaa follikkelien kasvua.

Toinen estrogeenipitoisuuden nousu havaittiin 60. tiineysvuorokauden jälkeen. Sen oletettiin olevan sikiö- ja istukkaperäistä, koska munasarjojen poisto ei vaikuttanut estrogeenipitoisuuksiin. Tiineysvuorokautteen 85 mennessä estrogeenipitoisuudet ylittivät ei-tiineiden tammojen pitoisuudet. Myös Daelsin ym. (1990) mukaan sikiön ja

istukan muodostama yksikkö on pääasiallinen estrogeenin tuottaja 80. tiineysvuorokauden jälkeen. Tämän jälkeen sikiön erityksessä tapahtuvat muutokset heijastuvat plasman estrogeenipitoisuuteen ja kuvaavat sikiön elävyyttä.

Tammalla on kuvattu kaksi reittiä estrogeenien tuotannossa. Toinen reitti on kolesterolia lähtöaineenaan käyttävä nk. perinteinen reitti ja toinen on kolesterolista riippumaton nk. vaihtoehtoinen reitti (Tait ym. 1985). Perinteisessä reitissä DHA aromatisoidaan istukassa fenoliestrogeeneiksi: estroniksi, estradioli-17 α :ksi ja 17 β :ksi (Pashen ym. 1982, Ousey 2004). Raeside (1976) tutki sikiön sukupuolirauhasten tuottamia ainesosia ja niiden osuutta istukan tuottamissa estrogeeneissa. Kuuden tamman sikiöiltä poistettiin sukupuolirauhaset 5 - 8 kuukauden tiineydessä. Sikiöiden kiveksistä ja munasarjoista eristettiin dehydroepiandrosteroni (DHA). Tutkimuksen mukaan tamma eroaa esimerkiksi ihmisestä, jolla sikiön lisämunuainen on tärkeä DHA:n tuotossa. DHA on pääasiallinen estrogeenin esiaste, jota suurentuneet sikiön sukupuolirauhaset tuottavat suuria määriä (Pashen ym. 1982). DHA:ta tuotetaan pregnenolonin kautta kolesterolista (Tait ym. 1985) ja sikiön sukupuolirauhasissa on kolesterolin muuntamiseen tarvittavat entsyymit (Pashen ym. 1982). Ihmisvauvoilla on kuvattu Smith-Lemli-Opitz -syndrooma, johon liittyy puutoksia monissa eri elinjärjestelmissä ja johon liittyy häiriö kolesterolin tuotannossa (Tint ym. 1994). Pashen ym. (1982) mittasivat equiliinin ja DHA:n määrää tiineyden aikana welshponitammoilta. Kolmen tamman sikiöiltä poistettiin sukupuolirauhaset 214 - 251 tiineysvuorokaudessa ja kahden tamman sikiölle tehtiin ns. vagonadektomia. Pashen ym. (1982) havaitsivat, että DHA:n muuntaminen androstenedioniksi ja pregnenolonin muuntaminen progesteroniksi oli vähäistä sikiön maksassa ja sukupuolirauhasissa ja puolestaan runsasta sikiön lisämunuaisissa ja istukassa. He havaitsivat, että DHA:ta eritetään korkeina pitoisuuksina napavaltimoon, koska sikiön sukupuolirauhasista puuttuvat tarpeelliset entsyymit, 3- β -hydroksisteroididehydrogenaasi ja aromataasi, joiden avulla DHA muunnettaisiin estrogeeneiksi. Raesiden ym. (1997) mukaan vastasyntyneen varsan veren DHA-pitoisuudet vaihtelevat runsaasti (0 - > 200ng/ml) ensimmäisenä elinpäivänä. Veren DHA-pitoisuuden lasku oli paljon suurempaa kuin sikiön sukupuolirauhasten DHA-erityksen lasku tiineyden loppuvaiheessa. Sikiön tuottamien C19-steroidiesiasteiden määrä on verrannollinen istukan estronituotantoon ja esiasteiden vähäinen tarjonta tiineyden loppupuolella aiheuttaa estrogeenipitoisuuden laskun.

Raesiden ym. (1997) mukaan istukan estrogeenimuodostukseen steroidiesiasteita tuottavat sikiön solut ovat riippuvaisia joistakin istukan tarjoamista tekijöistä. He pohtivat myös tutkimuksessaan, toimisivatko sikiön solujen tuottamat C19-steroidiesiasteet antiglukokortikoideina, jolloin niiden pitoisuuden lasku aiheuttaisi kortisolipitoisuuden nopean nousun sikiön verenkierrassa tiineyden lopulla.

Vaihtoehtoisessa reitissä tuotetaan tyydyttymättömiä B-renkaan omaavia estrogeeneja, equiliinia ja equileniinia. Kun sikiön sukupuolirauhasia inkuboitii natriumasetaatissa, muodostui 3- β -hydroksi-5,7-pregnadieeni-20-onia ja 3- β -hydroksi-5,7-androstadieeni-17-onia (7-dehydro DHA). Näistä 3- β -hydroksi-5,7-pregnadieeni-20-oni toimii 3- β -hydroksi-5,7-androstadieeni-17-onin esiasteena sikiön sukupuolirauhasissa ja 3- β -hydroksi-5,7-androstadieeni-17-oni (7-dehydro DHA) toimii equiliinin esiasteena istukassa (Tait ym. 1983). Pashen ym. (1982) havaitsivat in vitro -inkubaatiokokeissa myös sikiön maksan muuntavan DHA:ta samaksi equiliinin esiasteeksi. Tait ym. (1985) havaitsivat tutkimuksessaan, että sikiön sukupuolirauhaskudos pystyy muuntamaan 5,7-cholestadieeni-3- β -olia 3- β -hydroksi-5,7-pregnadieeni-20-oniksi ja edelleen 3- β -hydroksi-5,7-androstadieeni-17-oniksi eli 7-dehydro DHA:ksi. Tätä reittiä he kutsuivat vaihtoehtoiseksi 5,7-dieenireitiksi. Foster ym. (2002) tekivät vastaavanlaisen päätelmän. Heidän tutkimuksessaan esiasteena toimi 5,7-androstadieeni-3,17-dioli, josta muodostui 3- β -hydroksi-5,7-androstadieeni-17-onin kautta 17 β -dihydroequiliinia ja 17 β -dihydroequileenia.

3.2 Progestageenit

Progestageenit ovat 21-hiilisiä steroidihormoneja, joita tuottavat useat eri kudokset, kuten munasarjat, kohtu, istukka ja lisämunuaiset. Progesteroni on vain yksi monista progestageeneista, joka on löydetty tiineen tamman plasmasta (Ousey 2004). Plasman progesteronipitoisuuden muutokset tiineyden ensimmäisen puolikkaan aikana heijastavat emän munasarjojen toimintaa. Primaarinen keltarauhanen vastaa aluksi progesteronituotannosta, mutta sekundaaristen keltarauhasien osuus kiertävän progesteronin määrästä kasvaa 35. tiineysvuorokaudesta eteenpäin (Squires ja Ginther 1975, Pashen 1984). Nämä sekundaariset keltarauhaset ovat syntyneet FSH:n ja eCG:n

yhteisvaikutuksesta (Pashen 1984). Aivolisäkkeen tuottama FSH kiihdyttää sekundaaristen follikkelien kasvua normaalin tiineyden aikana ja eCG:llä on LH:n kaltainen vaikutus, joka saa aikaan ovulaation (Urwin & Allen 1982).

Munasarjojen poisto aiheutti äkillisen plasman progesteronipitoisuuden laskun tiineysvuorokausina 25 - 70, mikä kuvaa munasarjojen ensisijaista asemaa progesteronin tuottajana alkutiineydessä. Squires ym. (1974) havaitsivat lineaarisen, merkittävän progesteronipitoisuuden alenemisen tiineysvuorokausina 7 - 19 ja merkittävän progesteronipitoisuuden nousun tiineysvuorokausina 32 - 44. Progesteronipitoisuus lisääntyi joillakin tammoilla ennen sekundaaristen keltarauhasen muodostumista kuvaten eCG:n kiihdyttävää vaikutusta primaarisen keltarauhasen toimintaan. Progesteronipitoisuudet vaihtelivat tammojen keskuudessa huomattavasti, mutta progesteronipitoisuuden nousu nähtiin tiineysvuorokausina 32 - 90 ja lasku tiineysvuorokausina 150 - 180. Squires ja Ginther (1975) tutkivat munasarja- ja kohtulaskimon progesteronipitoisuutta tiineyden aikana. Heidän tutkimuksessaan primaarinen keltarauhanen tuotti progesteronia sekundaaristen keltarauhasen muodostumisen jälkeen, mikä kuvaa sekundaaristen keltarauhasen osuutta progesteronin lisälähteenä, ei primaarisen keltarauhasen korvaajina. Heidän tutkimuksessaan keltarauhaset tuottivat progesteronia vielä tiineysvuorokausina 160 - 220.

Holtanin ym. (1979) mukaan tamman munasarjat ovat korvattavissa 50 - 70. tiineysvuorokautena. Heidän mukaansa istukalla on yksinomainen rooli progesteronin tuottajana tiineysvuorokaudesta 70 - 100 lähtien. Pashen ja Allen (1979) totesivat tutkimuksessaan, että sikiön sukupuolirauhasten poisto keski- tai lopputiineydessä ei vaikuta emän plasman progesteronipitoisuuteen. Sen pitoisuus säilyy tällöin vakaana ja kuvaa sitä, ettei sikiöllä ole osuutta progesteronin tuotossa (Pashen ja Allen 1979). Istukassa voidaan havaita jo aikaisessa tiineysvaiheessa 3β -hydroksisteroididehydrogenaasiaktiivisuus, joka kuvaa istukan kykyä muuntaa kolesterolia pregnenoloniksi ja progesteroniksi. Tiineysvuorokausista 60 - 70 lähtien istukka erittää lisääntyvässä määrin progesteronin pelkistyneitä pregnaanijohdannaisia,

joista tärkeimmät ovat 5-pregnaani-3,20-dioni (5-dihydroprogesteroni, 5DHP), 3-hydroksi-5-pregnaani-20-oni (3-5P) ja 5-pregnaani-3,20-dioli (Holtan ym.1991).

Nisäkkäille on tyypillistä, että emän plasman progesteronipitoisuus lisääntyy tiineyden edetessä ja on nousujohteista koko tiineyden ajan. Tammalla tilanne on poikkeuksellinen. Sen plasman progesteronipitoisuus alkaa laskea noin 125. tiineysvuorokautena ja on hyvin alhainen tai ei havaittavissa noin 200. tiineysvuorokaudessa. Lopputiineydessä progesteronia itsessään ei havaita tamman plasmassa, mutta pregnenoloni ja lukuisat progesteronin aineenvaihduntatuotteet esiintyvät plasmassa runsaslukuisina (Holtan ym. 1991). Näiden yhdisteiden pitoisuudet lisääntyvät viimeisen tiineyskuukauden aikana ja vähentyvät muutama päivä ennen varsomista (Rossdale ym. 1991). Yhdeksää progestageenia esiintyy määrällisesti enemmän kuin progesteronia lopputiineydessä. Näistä 20 α -hydroksi-5 α -pregnan-20-oni ja 5 α -pregnaani-3 β , 20 α -dioli saavuttivat korkeimmat pitoisuudet lopputiineydessä. (Holtan ym. 1991). Tiineysvuorokausina 243 - 251 löydettiin kymmenen progestageenia tammojen plasmasta, joista seitsemän pitoisuus lisääntyi merkittävästi tiineyden edetessä. Progesteronia ei tällöin havaittu ollenkaan (Ousey ym. 2005). Plasman pregnenolonipitoisuudet ovat korkeammat napavaltimossa kuin napalaskimossa, mikä tukee käsitystä siitä, että sikiö tuottaa pregnenolonia (Pashen ym. 1982) istukan kudoksiin, joissa se muunnetaan progesteroniksi, 5 α -pregnaani-3 β , 20 α -dioliksi ja 20 α -hydroksi-5 α -pregnan-20-oniksi (Chavatte ym. 1997, Ousey 2004). Tamman progesteroni- ja progestageeniprofiili eroaa tiineyden keski- ja loppuvaiheessa muista tuotantoeläimistä. Yhteenvedona edellisistä voidaan todeta, että progesteronipitoisuus on alhainen noin 160. vuorokauden tiineydestä lopputiineyteen, jossa pitoisuus nousee hieman ennen varsomista. Esimerkiksi märehitijöillä progesteronipitoisuus säilyy korkeana tiineyden keskivaiheilla ja alkaa laskea muutama viikko ennen poikimista (Pashen 1984, Senger 2003).

3.3 eCG (equine chorionic gonadotrophin)

Tamman seerumissa esiintyy eCG:a tiineysvuorokausina 40 - 120. Tätä hormonia tuottavat tammalle ainutlaatuiset rakenteet, endometriumin kohtukupit. Suonikalvolle muodostuu ensin vaalea, paksu ja rengasmaisen alue, jota kutsutaan suonikalvon vyöksi (Allen ja Moor 1972). Tämän muodostuminen alkaa noin 27. tiineysvuorokautena ja

koostuu aluksi litteästä trofoblastisolukerroksesta, joka poimuuntuu solujen määrän lisääntyessä. Näiden poimujen päiden solut muuttuvat kaksitumaisiksi ennen kuin tunkeutuminen endometriumiin alkaa (Wooding ym. 2001). Erilaistuneet trofoblastisolut tunkeutuvat endometriumiin tiineysvuorokausina 36 - 38 (Allen ja Moor 1972, Wooding ym. 2001), mutta uudemmissa tutkimuksissa on havaittu niiden eCG:n tuoton alkavan jo 32. tiineysvuorokautena (Wooding ym. 2001). Tämän seurauksena eCG:a kerääntyy vyöalueen ja kohdun epiteelin väliseen tilaan huomattavia määriä paikallisesti ennen kuin tunkeutuminen alkaa. Wooding ym. (2001) mukaan tämä solunulkoinen eCG saattaa olla edellytyksenä trofoblastisolujen tunkeutumiselle ja endometriaalisten kupprien muodostumiselle.

Tunkeutuessaan endometriumin epiteeliin trofoblastisolut fagosytoivat endometriumin epiteeliä ja vaeltavat tyvikalvon läpi endometriumin stroomaan, jossa ne kehittyvät kuppisoluiksi (Allen ym. 1973). Endometriaaliset kupit muodostuvat lähelle sikiöpussia tiineen sarven tyveen ja näkyvät n. 40 vuorokauden tiineydessä vaaleina, rengasmaisina läiskinä. Endometriaalisten kupprien elinikä on noin 60 - 80 vuorokautta (Allen 1975). Allenin ym. (2002a) mukaan emän seerumin eCG-pitoisuus heijastaa hyvin selkeästi endometriaalisten kupprien kehittymistä ja rappeutumista. Pitoisuus saavuttaa kullekin tammalle ominaisen huippunsa (9 - 220 i.u./ml) 51 .- 69. tiineysvuorokautena. Tämän jälkeen pitoisuus alenee tasaisesti ja gonadotrooppinen aktiivisuus katoaa seerumista 88. - 138. tiineysvuorokautena. Kindahlin ym. (1982) tutkimuksessa eCG-pitoisuuksia oli mitattavissa vielä 150. tiineysvuorokautena. Tuotetun eCG:n määrä on emän genomista riippuvainen, mutta ei sikiön genomista (Allen ym. 2002a). Emän verenkiertoon eCG pääsee monimutkaisen lymfasuoniverkoston kautta, joka sijaitsee endometriumin kupprien alapuolella. Aivolisäkkeen FSH stimuloi sekundaaristen follikkelien kasvua tamman tiineyden alkupuoliskolla (Urwin ja Allen 1982). Huomattavaa follikkelikasvua nähdään jo ennen eCG-tuotantoa ja follikkeliaktiivisuus on heikompaa eCG:n tuoton aikana (Stewart ja Allen 1981). Munasarjoissa tuotetaan estrogeeneja eCG:n stimuloimana (Kindahl ym. 1982). Sekundaariset follikkelit ovuloituvat tai luteinisoituvat eCG:n LH-vaikutuksen seurauksena ja munasarjoissa nähdään sekundaarisia keltarauhasia (Urwin ja Allen 1982).

Wilsher ja Allen (2011) tutkivat eCG-tuotannon nopeuteen, eritykseen ja häviämiseen vaikuttavia tekijöitä. Emän kuntoluokalla oli merkittävä vaikutus eCG-tuotantoon. Kohtuullisesti ruokittujen tammojen eCG-tuotanto oli suurempaa kuin liiallisesti ruokituilla tammoilla. Tiineysvuorokausina 60 - 90 eCG:n keskipitoisuus oli korkeampi valmentamattomilla tammoilla verrattuna valmennettuihin tammoihin. Lisäksi eCG-pitoisuus laski alle havaitsemiskynnyksen aikaisemmin tiineyden aikana myöhemmissä tiineyksissä. Tiineyksien myötä myös eCG-erityksen huippu saavutettiin aikaisemmin. Tutkijat epäilivät, että tämä johtuu emän humoraalisesta ja soluvälitteisestä immuunivasteesta isän puolelta perittyjä MHC-antigeneja kohtaan.

3.4 Prostaglandiini ja relaksiini

Tiineyden aikana keltarauhasen luteolyysi estyy. Sen ylläpito on ehto hevosien alkion selviytymiselle ja varhaiskehitykselle. Alkioperäiset tekijät estävät endometriumin PGF-tuotantoa. Tiineen tamman kohtuhuuhtelunesteessä on paljon vähemmän PGF:ää kuin ei-tiineellä 14 vuorokauden kuluttua ovulaatiosta (Berglund ym. 1982). Tiineen tamman plasman PGF-pitoisuus nousee hitaasti, mutta tasaisesti 50 - 150 tiineysvuorokautena ollen 200 pmol/l (Kindahl ym. 1982).

Tiineyden toisella puoliskolla PGFM-pitoisuus tamman plasmassa nousee ollen alussa < 1 ng/ml ja varsomisen alkaessa 8 ng/ml. Tämän jälkeen seuraa nopea PGFM-pitoisuuden nousu ja pitoisuus on työntövaiheen aikana 60 - 100 ng/ml. Varsomisen jälkeen pitoisuus laskee jälleen nopeasti alle 1 ng/ml. Haluskan ja Currien (1988) tutkimuksessa PGFM-taso pysyi alle 400 pg/ml 200. tiineysvuorokauden saakka ja saavutti huippupitoisuuden yli 2000 pg/ml 300. tiineysvuorokauden mennessä, jossa pysyi varsomiseen saakka. Hanin ym. (1995) mukaan prostaglandiinitasot pysyvät alhaisina tiineyden aikana 15-hydroksiprostaglandiini-dehydrogenaasin (PGDH) toimesta. Tätä entsyymiä tuotetaan tamman endometriumin 150. tiineysvuorokaudesta alkaen ja sen toimintaa säätelee puolestaan istukan tuottama progesteroni. Heikentynyt prostaglandiinituotanto ja vähentyneet kohdun supistukset nähdään tammoilla, joiden sikiöiltä on poistettu sukupuolirauhaset. Tämä johtuu todennäköisesti estrogeenien puutteesta. Estrogeenit stimuloivat oksitosiini-reseptorien ilmenemistä ja

prostaglandiinilla ja oksitosiinilla on synergistinen vaikutus kohdun myometriumin supistukseen (Pashen ja Allen 1979). Uuhen endometriumin *in vitro*-tutkimuksissa progesteroni häiritsi oksitosiinin kiinnittymistä reseptoriinsa ja esti prostaglandiinin tuotannon, mikä voi vähentää kohdun supistelua (Bishop ym. 2006). Synteettinen prostaglandiinianalogi, fluprostenoli, aiheutti tammoille avautumisvaiheen merkkejä 30 minuutin kuluessa im-injektiosta tiineyden lopulla. Aika injektiosta työntövaiheeseen vaihteli 33 - 183 minuuttiin (Rossdale ym. 1979).

Istukka on pääasiallinen relaksiinin tuottaja. *In situ* -hybridisaatiokokeessa hevosen relaksiinin lähetti-RNA:n muodostus ja proteiinieritys tapahtui trofoblastisoluissa (Klonisch ym. 1995). Stewart ym. (1992) tutkivat relaksiinin tuotantoa eri roduilla. Lämminveristen relaksiinituotanto oli suurempaa koko tiineyden ajan verrattuna täysverisiin, eikä niillä ollut nähtävissä täysverisille ominaista aallonpohjaa keskitiineyden relaksiinipitoisuudessa. Lämminveristen relaksiinipitoisuus aleni tasaisesti, mutta vain vähän 150. tiineysvuorokaudesta varsomiseen. Ponitammojen relaksiinipitoisuus oli alhaisempi kuin muilla tammoilla, mutta niiden plasman relaksiinipitoisuus kasvoi tiineyden edetessä. Relaksiini estää myometriumin spontaania aktiivisuutta. Keskitiineydessä myometrium on sähköisesti aktiivi 66 % ajasta, kun taas tiineyden lopulla vain 30 % ajasta. Tiineyden lopulla progesteronitaso on alhaisimmillaan ja estrogeenitaso korkeimmillaan. Tällöin relaksiinilla on progesteronin kaltainen tehtävä ylläpitää kohdun venymiskapasiteettia vaikuttamalla kohdun sidekudoskomponentteihin (Haluska ym. 1987).

4. ISTUKKATULEHDUS

Monien aborttien, kuolleena syntyneiden varsojen ja ennenaikaisina, sairaina syntyneiden varsojen taustalta löytyy emän infektiivinen istukkatulehdus tiineyden aikana. Kun tiineys ei tuota normaalia, elävää varsaa, kasvatustoiminta kärsii ja aiheutuu taloudellisia tappioita (Hong ym. 1993, Laugier ym. 2011). Syytekijöitä näihin

on tutkittu esimerkiksi USA:ssa ja Euroopassa (Whitwell 1988, Giles ym. 1993, Hong ym. 1993, Laugier ym. 2011). Kaikissa näissä tärkeimmäksi yksittäiseksi tekijäksi on määritetty istukkatulehdus. Gilesin ym. (1993) mukaan se on syynä kolmanneksen myöhäisen tiineysvaiheen aborteista ja varsojen kuolemiseen ensimmäisten elinpäivien aikana. Vastaava luku Hongin ym. (1993) tutkimuksesta on 25 % ja Laugierin ym. (2011) tutkimuksesta 48 %. Suomesta vastaavanlaista tutkimusta ei vielä löydy.

4.1 Etiologia ja patologiset löydökset

Istukkatulehdusta aiheuttavia mikrobeja ovat bakteerit, sienet, virukset ja alkueläimet. Tamman istukasta eristetyistä patogeeneista tärkeimmät ovat bakteereja (Hong ym. 1993, Laugier ym. 2011). Laugierin ym. (2011) tutkimuksessa ne aiheuttivat 80 % infektiivisistä aborteista ja 50 % diagnosoiduista aborteista. Hongin ym. (1993) tutkimuksessa 69 %:ssa aiheuttajaksi osoitettiin bakteeri tai sieni ja Gilesin ym. (1993) tutkimuksessa bakteeri oli aiheuttaja 53 %:ssa ja sieni 5 %:ssa tapauksista. Laugierin ym. (2011) tutkimuksessa bakteerit aiheuttivat abortteja kaikissa tiineysvaiheissa sikiön keski-ään ollessa noin 237 vuorokautta. Septikemia ja toimivan istukka-alueen pieneneminen olivat sikiön kuolemaan johtavia syitä. Suurimmassa osassa (91,8 %) tapauksista bakteeri eristettiin sekä istukasta että sikiöstä. Whitwellin (1988) tutkimuksessa istukkatulehdustammojen tiineys kesti 75. tiineysvuorokaudesta tiineyden loppuun ja bakteeri-infektiot aiheuttivat abortteja koko tänä aikana. Sieni-infektioille oli tyypillistä abortointi 10 kuukauden tiineydessä tai sen jälkeen.

Istukasta eristettyjen bakteerilajien yleisyys vaihtelee maantieteellisen sijainnin ja ajan mukaan (Hong ym. 1993). Whitwellin (1988) Isossa-Britanniassa tehdyssä tutkimuksessa oli mukana 200 infektiivistä istukkatulehdustapausta, joista puolessa tapauksista aiheuttajina olivat bakteereista β -hemolyyttinen streptokokki ja *Escherichia coli* sekä sienistä *Aspergillus*-lajit. Hongin ym. (1993) tutkimuksessa merkittävimmät bakteerit olivat *Streptococcus equi* supspecies *zoepidemicus* (16,52 %), *Leptospira spp.* (15,67 %) ja *E.coli* (13,98 %). Sienillä oli merkittävä osa istukkatulehdusten aiheuttajana (6,35 %), mutta ei niin suuri kuin Whitwellin (1988) tutkimuksessa. Hongin ym. (1993) tutkimuksessa painotettiin merkittävänä uusina ongelmien

aiheuttajina *Leptospira spp.*:n ja nokardioformisen aktinomykeetin (6,35 %) osuutta. Tutkimus käsitti 954 istukkatutkimusta, joista 236 istukassa oli infektiivinen tulehdus. Laugierin ym. (2011) tutkimuksessa abortoinnin aiheuttajiksi määriteltiin noin 30 bakteerilajia. Näistä *Streptococcus spp.*, pääosin β -hemolyyttinen streptokokki, oli aiheuttaja 40 %:ssa tapauksista. *S. zooepidemicus* löydettiin 27 %:ssa tapauksista. *Staphylococcus spp.* oli aiheuttaja 15 %:ssa bakteerien aiheuttamista aborteista ja näistä 9,6 %:ssa aiheuttaja oli *S.aureus*. Muita yleisiä bakteereja olivat *E.coli* (11,7 %) ja *Klebsiella pneumoniae* (11,2 %). Sienen aiheuttamat abortit olivat harvinaisia käsittäen 1,8 % infektiivisistä aborteista. Sienistä yleisin oli *Aspergillus fumigatus* (14/15 kpl). Laugierin ym. (2011) tutkimuksessa oli mukana 1822 abortointitapausta Ranskan Normandiasta 24 vuoden ajalta. Näistä tutkimuksista yhteenvetona voidaan todeta, että istukkatulehduksessa tavallisimmin esiintyviä bakteereja ovat ainakin β -hemolyyttinen streptokokki, etenkin *S. zooepidemicus*, sekä *E. coli*. Evira tutkii sikiönäytteitä keskimäärin 20 – 30 kpl vuosittain. Kuuden viimeisen vuoden aikana istukoiden ja sikiöiden bakteeriviljelyistä on löytynyt useita eri bakteereja: *Actinobacillus lignieresii*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus sciuri*, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Escherichia coli*, non-hemolyyttinen streptokokki, *Streptococcus dysgalactiae*, *Enterobacter sp.*, *Streptococcus uberis*, β -hemolyyttinen streptokokki ja *Pantoea sp.* Näistä yleisin myös Suomessa on ollut *S.zooepidemicus* (suullinen tiedonanto, tarttuvien tautien erikoiseläinlääkäri Veera Karkamo, Evira).

Herpesvirus on yleisin istukkatulehdukseen liitetty virus. Whitwellin (1988) tutkimuksessa yhdeltäkään kuolleelta sikiöltä ei löydetty herpesvirus-1:tä. Hongin ym. (1993) tutkimuksessa herpesvirus-1:tä ja virusarteriittia aiheuttavaa arteriittivirusta (EVA, equine viral arteritis) ei myös eristetty istukoista ja sikiöistä. Gilesin ym. (1993) tutkimuksessa puolestaan herpesvirus oli aiheuttaja 12 %:ssa infektiivisistä aborteista. Laugierin ym. (2011) tutkimuksessa virusinfektio käsitti 15 % infektiivisistä aborteista ja 9,6 % diagnosoiduista aborteista. Diagnosoidut virukset olivat herpesvirus-1 ja -4 sekä arteriittivirus. Näistä EHV-1 oli yleisin syy abortointiin aiheuttaen 14,5 % infektiivisistä aborteista. EHV-1:n aiheuttamien aborttien määrä vaihteli eri vuosina ja sen esiintyminen oli aaltomaista tietyissä siittoloissa. Abortteja diagnosoitiin satunnaisesti säännöllisesti rokotetuilta tammoilta. EHV-4 oli harvainen aiheuttaja ja EVA aiheutti vain yhden abortin tässä tutkimuksessa. Ero tuloksissa herpesviruksen

osalta selittyy todennäköisesti näytteiden määrällä tai aikavälillä, jolla näytteitä on kerätty. Kuten Laugierin ym. (2011) tutkimuksessa todettiin, herpesvirusinfektioita esiintyy ajoittain, rykäyksittäin tietyissä paikoissa, joten on sattumanvaraista, missä tällöinen tautipurkaus pääsee esiin tartunnan myötä. Suomessa herpesvirus-1 (EHV-1) löydettiin kahdeksasta sikiönäytteestä ja arteriittivirus (EVA) yhdestä sikiönäytteestä vuonna 2011 (suullinen tiedonanto, tarttuvien tautien erikoiseläinlääkäri Veera Karkamo, Evira).

Patogeenin kulkeutumisreitti kohtuun voi vaihdella ja jako tehdään sen mukaan: 1) askendoivaan ja 2) ei-askendoivaan istukkatulehdukseen. Askendoivassa infektiossa patogeeni pääsee tamman emättimeen, onnistuu ohittamaan kohdunkaulan puolustusmekanismin ja kulkeutuu kohtuun (Laugier ym. 2011). Istukan patologiset muutokset keskittyvät tällöin pääasiassa kohdunkaulan edessä olevalle villuksettomalle alueelle, jota kutsutaan cervical stariksi kirjallisuudessa (Whitwell 1988). Laugierin ym. (2011) tutkimuksessa makroskooppisia tulehdusmuutoksia havaittiin 39 %:ssa bakteerinfektion aiheuttamista istukkatulehduksista. Näistä askendoiva istukkatulehdus oli kyseessä 67 %:ssa tapauksista. Whitwellin (1988) tutkimuksessa makroskooppisia muutoksia rakko- ja suonikalvon pinnalla nähtiin 88 %:ssa istukkatulehduksista. Ei-askendoivat istukkatulehdukset voivat olla alkuperältään: 2a) hematogeenisia esimerkiksi emän sairaudesta johtuen tai 2b) ne voivat olla seuraus emän endometriitista (esimerkiksi uinuvat streptokokit). Endometriittimuutokset heijastuvat suonikalvon pinnalle, joka on lähes peilikuva endometriumista tiineyden aikana (Whitwell 1988). Ei-askendoivassa infektiossa makroskooppiset muutosalueet keskittyvät muualle kuin cervical star-alueelle. Tällöin nähdään yksittäisiä tai useampia paikallisia vauriokohtia istukan runko-osassa, sarvissa tai sarvien tyvessä. Laugierin ym. (2011) tutkimuksessa 33 % havaituista makroskooppisista muutoksista oli ei-askendoivia. Suurin osa mykoottisista ja bakteriaalisista istukkatulehduksista on askendoivia infektioita, poikkeuksena *Leptospira spp.* (Hong ym. 1993).

Tiineysvaihe vaikuttaa istukkatulehdustyyppiin. Se on akuutti ja baktereminen, jos sikiö on abortoitunut tiineyden varhaisessa vaiheessa. Myöhäisessä tiineysvaiheessa tulehdustyyppi on krooninen, paikallinen ja siihen liittyy vakava kudonvaurio. Suurin

osa bakteereista voi aiheuttaa akuuttia ja kroonista istukkatulehdusta (Hong ym. 1993). Makroskooppisesti selkeät istukkatulehdukset ovat histologisesti kroonisia luonteeltaan ja tulehdukset, joita ei havaita silmämääräisesti vaan histologisesti, ovat luonteeltaan akuutteja. Akuutissa tulehduksessa nähdään paikallisia nekroosialueita suonikalvon villuksissa ja neutrofiilejä villusten välisessä tilassa (Hong ym. 1993). Bakteereja nähdään runsaasti suonikalvon pinnalla ja verisuonissa ja eksudaatin määrä on vähäinen (Whitwell 1988). Kroonisessa tulehduksessa nähdään laajempimittaista suonikalvon villusten nekroosia ja mononukleaarisia tulehdussoluja villusten välisessä tilassa, villusten stroomassa sekä suoni- ja rakkokalvossa (Hong ym. 1993). Nähtävissä on tulehdusta ja alla olevan strooman paksuuntumista ja fibroplasiaa. Villusten jäänteitä peittää lima ja solueksudaatti. Lisäksi tromboosi ja vaskuliitti ovat yleisiä löydöksiä. Rakkokalvon epiteeli on hyperplastinen ja kystinen (Whitwell 1988).

Hong ym. (1993) tutkivat bakteerien ja sienten aiheuttamia patologisia muutoksia istukassa ja tiineyden kestoaikaa eri patogeenien kohdalla. Tiineyden keston keskiarvoiksi vuorokausina saatiin seuraavat: *S.equisimilis* 236, *S.zooepidemicus* 246, *Leptospira spp.* 252, *Pseudomonas aeruginosa* 261, *E.coli* 271, mykoottinen istukkatulehdus 302 ja nokardioforminen aktinomykeetti 308. Laugierin ym. (2011) mukaan pääosa (79 %) EHV-1:n aiheuttamista abortoinneista tapahtui 8. - 10. tiineyskuukaudella. Eli valtaosa tärkeimmistä istukkatulehdusta aiheuttavista patogeneista aiheuttaa abortin myöhäisessä tiineysvaiheessa tai varsa syntyy kuolleena tai sairaana. Patologiset, makroskooppiset muutosalueet sijaitsivat cervical starin alueella suurella osalla tutkituista patogeneista (*S.equisimilis*, *S.zooepidemicus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*, mykoottinen istukkatulehdus). *Leptospira spp.* aiheuttaa diffuusin istukkatulehduksen ja nokardioformisen aktinomykeetin aiheuttamassa infektiossa muutosalue löytyy molempien kohdunsarvien ja kohdun rungon liittymäkohdasta. Patologisiin makroskooppisiin muutoksiin kuuluvat esimerkiksi istukan paksuuntuminen, ödeemi, värimuutokset ja erilaisen eksudaatin esiintyminen (Hong ym. 1993). Vesikalvossa näkyviä patologisia muutoksia ovat verentungos, petekkiat, läpikuultamattomuus, kalpeus, verisuonten kiemuraisuus, granulat, nodulat ja kiinnikkeet. Muutokset sijoittuivat pääasiassa lähelle napanuoraa. Sikiöt ovat usein pieniä ja ohutluisia kasvun hidastumisen seurauksena. Infektio aiheuttaa istukan irtoamista ja pienentää siten toiminnallisen istukan pinta-alaa.

Kroonisissa istukkatulehdustapauksissa sikiöillä esiintyy eriasteista etupolven koukistumaa (Whitwell 1988).

Wilsherin ym. (2013) mukaan ravitsemuskalvon eli allantokorionin laajuudella, erityisesti runkoalueella, ja syntyneen varsan jalkojen hyperfleksiolla ja hyperekstensiolla (flexural limb deformity) on vahva yhteys. Varsoilla, joilla havaittiin näitä jalkaongelmia syntymässä, oli nähtävissä kaventuneita alueita allantokorionissa, istukan ödeemiä sekä joidenkin pääsuonien aiheuttamaa sikiökalvojen kuristumaa. Tutkimuksen mukaan on epäselvää ovatko tällaiset jalkaongelmat seurausta kohdun alueen kuristumasta vai ovatko jalkaongelmat syynä vähentyneisiin varsan liikkeisiin tai varsan väärin asettumiseen kohdussa.

4.2 Patofysiologia

Ihmispuolella tehtyjen tutkimusten mukaan on olemassa useita mahdollisia signaalintireittejä, jotka käynnistyessään voivat yksin tai yhdessä johtaa ennenaikaiseen synnytykseen sen jälkeen, kun mikro-organismi on päässyt kohdunkaulaan, kohtuun tai vesikalvoon. Todennäköinen reitti on luonnollisen immuunijärjestelmän aktivoituminen. Siihen kuuluvat reseptorit (toll-like receptors) tunnistavat bakteereja ja niiden osia, lipopolysakkarideja. Kun reseptorit ovat sitoneet bakteereja, ne käynnistävät useita reittejä, joista vapautuu sytokiineja ja muita tulehduksen välittäjäaineita. Näitä tuottavat useat kohdunkaulan, kohdun ja vesikalvon solut vasteena bakteeri-infektiolle. Sytokiinit ja mikrobien endotoksiinit stimuloivat vesikalvoa, suonikalvoa, katekalvoa ja myometriumiä vapauttamaan prostaglandiinia sekä vesi- ja suonikalvoa vapauttamaan matriksin metalloproteinaaseja. Prostaglandiinin vapautuminen käynnistää kohdun supistukset johtaen kohdunkaulan laajenemiseen, mikä päästää lisää mikrobeja kohtuun. Matriksin metalloproteinaasit edistävät sikiökalvojen repeämistä (Bastek ym. 2011).

LeBlanc ym. (2002) mukaan ennenaikainen varsominen ja abortointi kohtutulehdustammoilla johtuvat tulehdukseen liitettyjen sytokiinien lisääntyneestä

tuotosta istukan kudoksissa ja prostaglandiinien tuotosta rakkokalvon nesteessä. Tammoille aiheutettiin kohdunkaulan kautta *S. zooepidemicus* -infektio 285 - 293 tiineysvuorokaudessa. Tulehduksellisten sytokiinien, IL-6:n ja IL-8:n, tuotanto lisääntyi istukassa tämän seurauksena. Rakkokalvon nesteessä sytokiinien pitoisuus normaaleilla ja infektoiduilla tammoilla ei eronnut. Seitsemän tammaa kahdeksasta abortoi tai synnytti kuolleen varsan 5 - 27 vuorokauden kuluttua aiheutetusta infektiosta. Kaikilla infektoiduilla tammoilla havaittiin kohonneet prostaglandiinien E2 ja F2 α -pitoisuudet rakkokalvon nesteessä.

McGlothlin ym. (2004) tutkivat kohdun myometriumin aktiivisuutta tiineyden viimeisinä päivinä ja istukkatulehduksen vaikutusta siihen. Heidän mukaan tamman kohdun myometriumin aktiivisuus lisääntyy yöaikaan viimeisen tiineysviikon aikana. Samanlaista muutosta ei nähdä tammoilla, joilla on istukkatulehdus. Normaalisissa tiineydessä supistusten määrä tuntia kohden lisääntyy viimeisen 10 vuorokauden aikana pienten supistusten (kesto alle 30 sekuntia) lisääntymisen vuoksi. Supistusten määrä tuntia kohden ei muutu tänä aikana istukkatulehdustammoilla. Niillä havaitaan suurten (kesto yli 30 sekuntia) supistusten voimakkuuden ja kestoajan lisääntymistä tiineyden viimeisen neljän vuorokauden aikana. Tutkijat päättelivät, että tämä voi lisääntyneen kohdun paineen myötä johtaa kohdunkaulan relaksaatioon ja laajenemiseen ja siten varsan ennenaikaiseen ulostuloon. Varsa on usein elinkyvytön, koska hevosen kohdalla sikiön lopullinen kypsyminen tapahtuu kohdussa vasta tiineyden viimeisinä päivinä (Fowden ym. 2012). Kohdunkaulan kautta kohtuun pääsevät bakteerit aiheuttavat ensin nekrotisoivan tulehduksen cervical star -alueen ravitsemuskalvoon eli allantokorioniin ja kulkeutuvat tämän jälkeen napanuoraa pitkin vesikalvon nesteeseen. Sikiö nielee ja aspiroi nestettä, jolloin bakteerit kulkeutuvat sikiön keuhkoihin ja suolistoon. Kaikki ennenaikaiset varsat eivät kuitenkaan ole infektoituneita (Calderwood Mays ym. 2002).

4.3 Kliiniset merkit

Ennenaikainen utareen kehittyminen ja maitoontulo tiineyden viimeisen kolmanneksen aikana on usein ensimmäinen merkki kohdunkaulan kautta alkunsa saaneesta istukkatulehduksesta (Troedsson ym. 1997, Calderwood Mays ym. 2002, Macpherson ja

Bailey 2008). Normaalisissa tiineydessä tamman utare kehittyy noin 1 - 2 viikkoa ennen varsomista riippuen tamman aiemmista varsomiskerroista ja vuodenaajasta (Macpherson ja Bailey 2008). Whitwellin (1988) tutkimuksessa kaksi yleisintä kliinistä oiretta olivat enneaikainen maitoontulo ja emätinvuoto. Muita harvemmin havaittuja oireita olivat peräaukon ja emättimen alueen kutina, vatsaontelon kiputilat ja kiimaoireet. Emätinvuodon määrä vaihteli niukasta runsaaseen ja koostumus vetisestä paksuun ja kermamaiseen.

Bakteriaalisen istukkatulehduksen yhteydessä kliinisiä oireita ennen varsomista havaittiin 63 %:lla ja sienen aiheuttaman istukkatulehduksen yhteydessä 86 %:lla tammoista. Emätinvuotoa ei havaittu tammoilla, joilla tulehdus oli muualla kuin kohdun kaulan alueella. Tutkittujen tammojen kohdunkaula oli kiinni tai osittain auki. MacPhersonin ja Baileyn (2008) mukaan emätinvuoto on hyvin epä johdonmukainen merkki istukkatulehduksen yhteydessä. Tammalla voi olla emätinvuotoa niin vähän, että sitä ei huomata. Kokeellisten istukkatulehdusten yhteydessä on havaittu enemmän emätinvuotoa kuin käytännön tapauksissa (Troedsson ym. 1997, Bailey ym. 2010). Tämä johtuu todennäköisesti kokeellisen istukkatulehduksen suuresta bakteerin altistusmäärästä ja tammojen perineaalialueen huolellisesta tarkkailusta. Abortteja voidaan nähdä myös ilman edeltäviä merkkejä (Troedsson ym. 1997).

4.4 Diagnosointi

4.4.1 Transrektaalinen ultraäänitutkimus

Peräsuolen kautta tehtävä ultraäänitutkimus on hyvä apuväline tamman istukan arvioinnissa tiineyden aikana (Troedsson ym. 1997). Tutkittaessa kohdun ja istukan yhteenliittymän paksuutta (CTUP, combined thickness of the uterus and the placenta) ultraäänianturi asetetaan istukan ja kohdunkaulan liittymäkohtaan, 2,5 - 5 cm kohdunkaulasta kraniaalisesti (Renaudin ym. 1999). Renaudin ym. (1997) tutkivat CTUP:a tiineyden keski- ja loppuvaiheessa. Heidän mukaansa peräsuolen kautta tehtävä ultraäänitutkimus on ylivoimainen tutkittaessa CTUP:a ja sikiönesteiden kaikkisuutta, ja on parempi menetelmä kuin ultraäänitutkimus vatsanpeitteiden läpi. Peräsuolen kautta tehtävässä uä-tutkimuksessa nähdään cervical starin alue, jossa bakteerinen

istukkatulehdus yleisimmin esiintyy. Tämän tutkimuksen avulla voidaan parantaa tulehduksen aikaisempaa havaitsemista ja voidaan aloittaa lääkityshoito tammalle. Tiineyskuukausien 4 – 8 välillä CTUP ei muuttunut, mutta se lisääntyi selvästi tiineyskuukausina 10 - 12. Tiineyskuukausina 4 – 7 CTUP oli alle 4 mm ja tiineyskuukausina 10 - 12 CTUP:n keskiarvo oli 5,8 - 9,5 mm. Vesikalvon ja rakkokalvon nesteiden kaikuisuus ei muuttunut jatkuvasti tiineysajan myötä. Vesikalvon neste oli kaikuisempaa kuin rakkokalvon neste 6. tiineyskuukaudesta eteenpäin. Kaikuisuuden aiheuttavat vapaana kelluvat partikkelit, joita on enemmän vesikalvon nesteessä, jossa partikkelit ovat myös pienempiä.

Mahdollinen tulehdus voidaan havaita CTUP:n lisääntymisenä ja lisäksi voidaan nähdä istukan irtoaminen endometriumista. Peräsuolen kautta tehty CTUP-mittaus ei korreloinut istukkalöydöksiin varsomisen jälkeen. Ultraäänessä havaittu paksuin kohta istukassa ei ollut paksuin kohta istukan makroskooppisessa tutkimuksessa. Tämä selittyy verenkierron puutteella ja pelkän istukan osuudella mittauksessa varsomisen jälkeen. Renaudin ym. (1999) jatkotutkimuksen mukaan menetelmä on nopea ja yksinkertainen ja sopii rutiinimenetelmäksi kenttäolosuhteisiin. Tutkimus kannattaa tehdä tammoille, joilla on istukkatulehdus- tai abortointihistoriaa, emätinvuotoa, ennenaikaisesti kehittynyt utare, huono perineaalialueen rakenne tai tiineyttä edeltävä endometriitti. Troedsson ym. (1997) tutkimuksen mukaan alle 5 mm:n CTUP:a on vaikea mitata tarkasti kenttäolosuhteissa ja heidän mukaan alle 7 mm:n CTUP:a ennen 300. tiineysvuorokautta on pidettävä normaalina. CTUP-arvo, joka ylittää ($>2SD$) 8 mm tiineysvuorokausina 271 - 300, 10 mm tiineysvuorokausina 301 - 330 ja 12 mm 330. tiineysvuorokauden jälkeen, on merkki istukan epänormaalista toiminnasta ja odotettavissa olevasta abortista. Buccan ym. (2005) mukaan sikiönesteillä ja sikiön asennolla on selkeä vaikutus CTUP:n paksuuteen kohdunkaulan ympärillä. Molemmat vaikuttavat siihen, kuinka venyneessä tilassa mitattava CTUP esiintyy. Morrisin ym. (2007) mukaan CTUP-arvo kasvoi bakteeritistuksen jälkeen. Tammoista 60 %:lla CTUP oli yli 1,0 cm viisi päivää bakteeritistuksesta. Transrektaalisesti mitatun CTUP:n sensitiivisyys oli 60 % ja spesifisyys 100 %. Kohdunkaulaa voidaan myös arvioida tiineyden aikana ultraäänitutkimuksen ja tunnustelun avulla. Kohdunkaulan koko, jäntevyys ja kaikurakenne muuttuvat hyvin vähän ensimmäisten yhdeksän

tiineyskuukauden aikana. Kohdunkaulan pehmenemistä ja lyhenemistä tapahtuu asteittain viimeisten kahden kuukauden aikana (Bucca ja Fogarty 2011).

4.4.2 Transabdominaalinen ultraäänitutkimus

Vatsanpeitteiden läpi tehtävä ultraäänitutkimus on hyvä menetelmä arvioitaessa sikiötä ja CTUP:a muualta kuin cervical starin alueelta. Sikiöstä tutkittavia parametreja ovat esimerkiksi sydämen syke, sikiön koko ja aktiivisuus (Macpherson ja Bailey 2008). Koska vain osa kohdusta ja istukasta on kontaktissa vatsaontelon ventraaliseenämän kanssa, osa epänormaaleista alueista voi jäädä huomaamatta (Bucca ym. 2005).

4.4.3 Biomarkkerit

Ousey ym. (2005) tutkivat progestageenien esiintymistä tiineyden aikana normaaleilla ja istukkatulehdustammoilla. Pregnenoloni- ja progesteronipitoisuudet olivat korkeammat istukkatulehdustammojen plasmassa kuin normaaleilla tammoilla. Tutkimuksen mukaan tämä voi olla seuraus sikiön steroidiyliuotannosta tai istukkakudoksen alentuneesta aineenvaihdunnasta. Infektoitunut kudoks ei pysty käsittelemään pregnenolonia ja progesteronia 5α -pregnaaniksi ja muiksi progestageeneiksi, jolloin niiden pitoisuudet emän verenkierrossa nousevat. Istukan vajaatoiminta aiheuttaa kroonista stressiä sikiölle, mikä puolestaan johtaa sikiön pregnenolonin yliuotantoon. Normaaleilla tammoilla progesteronia ei havaittu 240. tiineysvuorokauden jälkeen. Morrisin ym. (2007) mukaan tammojen progestiiniprofiili muuttui epänormaaliksi bakteeritistuksen jälkeen. Plasman progestageenipitoisuus aleni tammoilla, jotka abortoivat seitsemän päivän sisällä bakteeritistuksesta ja nousi tammoilla, joiden tiineys säilyi yli kahdeksan päivää. Progestageeniprofiilin muutoksen sensitiivisyys oli 87 % ja spesifisyys 100 %. Ennenaikainen progestageenipitoisuuden nousu voi kiihdyttää sikiön kypsymistä. Ousey ym. (2011) havaitsivat, että kortisonihoitoa saaneet tammot varsoivat aiemmin kuin kontrollitammot ja hoitoa saaneiden tammojen progestageenipitoisuudet nousivat. Hypoksia ja muut stressitekijät stimuloivat sikiön hypotalamus-aivolisäke-lisämunaaisakselia ja sikiön toimesta emän plasman progestageenipitoisuus nousee (Stawicki ym. 2002).

Relaksiinipitoisuudet voivat heijastaa istukan ja sikiön tilaa tiineyden aikana (Stewart ym. 1992, Ryan ym. 1998). Koska relaksiini on tammalla pääosin istukan tuottamaa, muutokset sen pitoisuudessa voivat auttaa istukan vajaatoiminnan havaitsemisessa (Stewart ym. 1992). Relaksiinin normaali seerumipitoisuus vaihtelee välillä 45 - 85 ng/ml viimeisen seitsemän tiineysviikon aikana (Ryan ym. 1998). Istukkatulehdustammoilla relaksiinipitoisuus alenee (Stewart ym. 1992, Ryan ym. 1998). Sen pitoisuus on alentunut myös kaksostiineydessä, hydropsiassa, oligohydrallantoisissa (sikiönesteiden vähäisyys), istukan enneaikaisessa irtoamisessa sekä tamman aivolisäkkeen kasvainten yhteydessä. Varsat syntyivät hypoksisina ja kypsymättöminä niistä tiineyksistä, joissa emän relaksiinipitoisuus oli matala (Ryan ym. 1998).

Coutinho Da Silvan ym. (2013) mukaan seerumin amyloidi A -pitoisuus on käyttökelpoinen indikaattori istukkatulehduksen ennustamisessa. Normaalisissa tiineydessä sen pitoisuus on matala, mutta pitoisuus nousee 36 tunnin sisällä varsomisesta ja laskee perustasolle 60 tunnin sisällä varsomisesta. Istukkatulehdustammoilla pitoisuus nousi 96 tunnin sisällä bakteerialtistuksesta ja pysyi korkeana hoitamattomilla tammoilla aborttiin asti. Antibiootin, tulehduskipulääkkeen ja progestiinin hoitoyhdistelmä esti tehokkaasti SAA:n nousua. Jos pitoisuus oli noussut, hoitomenetelmä alensi pitoisuuden perustasolle.

4.5 Hoito

4.5.1 Yleistä hoitokäytännöistä

Istukkatulehduksessa bakteeri-infektio aloittaa tapahtumaketjun, mutta sikiön infektion sijaan suonikalvon tulehdus johtaa sikiön enneaikaiseen syntymään (Calderwood Mays ym. 2002, LeBlanc ym. 2002). Rakkokalvon tuottamien prostaglandiinien, E_2 :n ja $F_{2\alpha}$:n, tuotto lisääntyy tulehdusprosessissa, mikä lisää kohdun supistelua ja johtaa sikiön ulostuloon (LeBlanc ym. 2002, McGlothlin ym. 2004). Kokeellisesti aiheutetuissa infektioissa tulehduksellisten sytokiinien tuotanto lisääntyy sikiökalvoissa ja

rakkokalvon nesteessä (LeBlanc ym. 2002, Lyle ym. 2009). Kroonisessa tulehduksessa ja infektiossa sikiönesteiden kortisolipitoisuuden on havaittu nousevan lopputiineydessä sikiön toimesta (Lyle ym. 2009). Näihin seikkoihin perustuen käytössä olevat hoitomenetelmät pyrkivät estämään mikrobin leviämistä, kohdun supistuksia ja sytokiinien tuotantoa. Antibiootit, tulehduskipulääkkeet, pentoksifylliini ja altrenogesti tai progesteroni kuuluvat yleisiin hoidoissa käytettäviin lääkeaineisiin. Jotta tamma synnyttäisi elävän varsan, hoito pitäisi aloittaa mahdollisimman aikaisin. Hoidettavaa tammaa on hyvä kontrolloida viikottain varsan elävyyden varmistamiseksi.

Hoitoaikojen pituudessa antibioottien, tulehduskipulääkkeiden ja altrenogestin osalta esiintyy erilaisia käytäntöjä. Toiset puoltavat 10 - 14 vuorokauden antibioottikuureja ja 5 - 7 vuorokauden tulehduskipulääkitystä, toiset aloittavat lääkityksen istukatulehduksen havainnoinnin yhteydessä ja jatkavat lääkitystä varsomiseen saakka. Pitkäaikaisesti käytettynä antibiootit voivat aiheuttaa emälle mahasuolikanavan häiriötiloja ja antibioottiresistenssiä (LeBlanc 2010). Varsomisen työntövaihe voi pidentyä ja vastasyntyneiden komplikaatioiden määrä lisääntyä, jos altrenogestiä käytetään varsomiseen saakka (Neuhauser ym. 2008), ja tämän vuoksi sen käytön lopettamista suositellaan 320. tiineysvuorokaudessa (LeBlanc 2010). LeBlancin (2010) mukaan yleinen hoitokäytäntö ongelmatammoille on sellainen, jossa 7. tiineyskuukauden alussa tammalle annetaan kymmenen päivää antibioottia, tavallisesti sulfatrimetopriimiä, viisi päivää tulehduskipulääkettä ja päivittäin altrenogestiä 325. tiineysvuorokautteen saakka. Tämän hoitomenetelmän tehokkuutta ei ole vielä tieteellisesti todistettu.

Varsojen elävyyttä on tutkittu monissa kokeissa. Muutama elävä varsa syntyi ennenaikaisen kypsänä ennen 315. tiineysvuorokautta tammoilla, joille oli aiheutettu istukatulehdus kokeellisesti (LeBlanc ym. 2002, Bailey ym. 2007). Tutkimuksissa havaittiin, että enemmän eläviä varsoja syntyi, jos hoito aloitettiin 48 tunnin kuluessa bakteeriokulaatiosta kuin jos hoito aloitettiin yli 48 tunnin kuluttua tai hoitoa ei ollut. Trimetopriimisulfa- ja pentoksifylliinihoito, joka aloitettiin 4 päivää bakteeriokulaation jälkeen, pidensi tiineyttä, mutta ei nostanut elävänä syntyneiden varsojen määrää verrattuna infektoituihin, hoitamattomiin tammoihin (Rebello ym. 2006). Baileyn ym.

(2010) tutkimuksessa puolestaan trimetopriimisulfa-, pentoksifylliini- ja altrenogestilääkityksen aloitus 48 tuntia bakteeri-infektion jälkeen sai aikaan 10/12 elävää varsaa. Christiansenin ym. (2010) tutkimuksessa trimetopriimisulfa yksin, TMS yhdistettynä laskimonsisäisen kortisonin kanssa ja TMS:n ja asetyyliisalisyylihapon yhdistelmä aikaansai 12/17 ennenaikaisen kypsää, elävää varsaa. Pelkästään trimetopriimisulfalla hoidettujen tammojen varsoista 67 % syntyi elävinä ja yhdistelmähoidoilla hoidettujen tammojen varsoista 73 % syntyi elävinä. Tässä tutkimuksessa pelkkää antibioottia saaneita tammoja oli kuusi, joista neljä varsoi elävän varsan. Otokoko on melko pieni, joten johtopäätöstä pelkän antibiootin käytöstä ei voi tehdä. Yhdistelmähoidossa oli mukana 18 tammaa, joista 13 varsoi elävän varsan. Antibiootin, NSAID:n ja progestiinin yhdistelmällä kahdeksan tammaa yhdeksästä varsoivat elävän varsan (Coutinho da Silva ym. 2013).

4.5.2 Mikrobilääkkeiden jakautuminen

Valtaosa istukkatulehduksen aiheuttajista on grampositiivisia tai gramnegatiivisia opportunistibakteereita (Whitwell 1988, Hong ym. 1993, Laugier ym. 2011), joten mikrobilääkkeen pitää olla laajakirjainen, molempiin tehoava. Istukan lääkeaineiden läpäisevyyttä on tutkittu määrittämällä eri lääkeaineiden pitoisuuksia rakkokalvon tai vesikalvon nesteessä (Sertich ja Vaala 1992, Murchie ym. 2006, Rebello ym. 2006, Bailey ym. 2007). Sertich ja Vaala (1992) tutkivat G-penisilliinin, gentamisiinin ja trimetopriimisulfan kulkeutumista rakko- ja vesikalvon nesteisiin ja seerumiin normaaleilla, tiineillä tammoilla (11 tammaa). Penisilliini ja gentamisiini esiintyivät tamman seerumissa normaalipitoisuuksina, mutta eivät vesikalvon nesteessä tai varsan seerumissa. Trimetopriimisulfa löydettiin kahden tamman kohdalla vesikalvon nesteestä ja neljän tamman kohdalla rakkokalvon nesteestä sekä kahden vastasyntyneen varsan seerumista. Sertichin ja Vaalan (1992) mukaan penisilliini ja gentamisiini eivät saavuta riittävän tehokasta pitoisuutta sikiönesteissä sikiön infektion hoitamiseksi, mutta ne eivät myös siten aiheuta vaaraa sikiölle. Sikiönesteiden trimetopriimisulfapitoisuus puolestaan nousee pitoisuuksiin, jotka riittävät tuhoamaan sille herkät bakteerit.

Myös Santschin ja Papichin (2000) mukaan gentamisiini ei läpäise tammamman istukkaa. He tutkivat gentamisiinin farmakokinetiikkaa seitsemällä tammalla tiineyden loppuvaiheessa ja laktaation alkuvaiheessa. Gentamisiinia ei havaittu varsan seerumissa eikä vesikalvon nesteessä. Tutkimuksen virhelähteenä voidaan pitää sitä, että seerumi- ja sikiönestenäytteet otettiin melko pian lääkityksen jälkeen, jolloin lääke ei välttämättä ollut kunnolla vielä jakautunut.

Trimetopriimisulfan, G-penisilliinin ja gentamisiinin pitoisuutta rakkokalvon nesteessä on arvioitu myös *in vivo* -mikrodialyysitutkimuksissa terveillä ja kokeellisesti infektoiduilla ponitammoilla (Murchie ym. 2006, Rebello ym. 2006). Murchien ym. (2006) tutkimuksessa rakkokalvon nesteeseen laitettiin ultraääni-ohjauksessa mittausanturi, joka mahdollisti jatkuvan mittauksen lääkkeen annostelun jälkeen. Penisilliinin ja gentamisiinin istukan läpäisevyydestä saatiin päinvastaista tietoa kuin edellä mainituissa tutkimuksissa. Penisilliinin ja gentamisiinin huippupitoisuudet rakkokalvon nesteessä olivat 80 % niiden plasmatasoista. G-penisilliinin pitoisuus ylitti *S.zooepidemicus*:n MIC-arvon sekä terveillä että infektoiduilla tammoilla. Gentamisiinin pitoisuus rakkokalvon nesteessä ylitti raportoidut MIC-arvot joillekin gramnegatiivisille patogeeneille (*Klebsiella spp.*) terveillä ja infektoiduilla tammoilla, mutta huippupitoisuus kahdella infektoidulla tammalla oli alentunut lähes 80 %. Gentamisiinin teho perustuu lääkeaineen jäännösvaikutukseen (post antibiotic effect, PAE), joka korreloi lääkeaineen huippupitoisuuden kanssa. Lääkeaineen jäännösvaikutuksen kesto on suurin, kun lääkeaineen huippupitoisuus on noin kymmenkertainen mikrobin MIC-arvoon verrattuna. Gentamisiinin tehokkuus gramnegatiivisia bakteereita vastaan voi alentua, jos infektoituneiden tammojen rakkokalvon huippupitoisuudet alenevat tutkimuksen mukaisella tavalla. Murchien ym. (2006) mukaan G-penisilliini ja gentamisiini kulkeutuvat istukan läpi sekä terveillä että infektoituneilla tammoilla, mutta istukan infektio voi alentaa rakkokalvon gentamisiinipitoisuutta. Rebellon ym. (2006) tutkimuksessa tammammat (10 kpl) saivat trimetopriimisulfaa (30 mg/kg suun kautta kahdesti päivässä) enintään kahden viikon ajan. Tutkimuksen mukaan istukkaveri-esteiden läpäisevyys ei muutu infektoiduilla tammoilla. Trimetopriimisulfan pitoisuus rakkokalvon nesteessä oli yhtäläinen infektoiduilla ja kontrollitammoilla. Perustuen raportoituihin MIC-arvoihin *S. zooepidemicus*:ta vastaan trimetopriimisulfan pitoisuudella rakkokalvon nesteessä olisi

antibioottinen vaikutus neljän tunnin ajan. Myös Graczykin ym. (2006) tutkimuksessa trimetopriimisulfa oli havaittavissa sikiönesteistä ja sikiöiden kudoksista. Trimetopriimisulfa imeytyy hyvin ruuansulatuskanavasta ja se on laajakirjoinen ja bakterisidinen (Bailey ym. 2010). Macpherson ym. (2012) tutkivat keftiofuurin vaikutusta infektoiduilla ponitammoilla sekä yksin että yhdistettynä pentoksifylliiniin ja altrenogestiin. Kolme tammaa sai pelkkää keftiofuuria ja kuusi tammaa yhdistelmä-lääkitystä. Seitsemän tammaa yhdeksästä abortoi sikiönsä ja kahdeksan tammaa yhdeksästä ei onnistunut tuhoamaan bakteeria kohdustaan. Keftiofuuripitoisuudet sikiönesteissä, istukkakudoksessa ja sikiön kudoksissa olivat hyvin alhaiset ja alittivat lääkeaineen MIC-arvon yleisimpiä patogeeneja vastaan.

4.5.3 Tulehduskipulääkkeet ja niiden käyttöön liittyviä riskejä tiineyden aikana

Fluniksiinimeglumiinin ja pentoksifylliinin pitoisuutta rakkokalvon nesteessä arvioitiin *in vivo* -mikrodialyysitutkimuksissa terveillä ja kokeellisesti infektoiduilla ponitammoilla (Murchie ym. 2006, Rebello ym. 2006). Rebellon ym. (2006) tutkimuksessa tammät (10 kpl) saivat pentoksifylliiniä (8,5 mg/kg suun kautta kahdesti päivässä), jonka pitoisuus oli yhtäläinen infektoitujen ja kontrollitammojen rakkokalvon nesteessä. Pentoksifylliini on tulehdusta estävä ja se on annosriippuvainen tulehduksen välittäjäaineiden, TNF α :n ja IL-1:n, vähentämisessä. Pentoksifylliini ei lisää kohdun verenvirtausta ainakaan kohtuvaltimosta mitattuna (Bailey ym. 2012). Sillä on havaittu jänistutkimuksessa suotuisa vaikutus bakteeripuhdistumaan verestä esimerkiksi *E.coli* -endotoksemiatapauksissa. Lisäksi se vähensi bakteerien kolonisaatiota keuhkoissa ja munuaisissa (Heller ym. 1999). Murchien ym. (2006) tutkimuksessa tammät saivat fluniksiinimeglumiinia (1 mg/kg iv), mutta sen pitoisuutta ei voitu määrittää rakkokalvon nesteestä sen suuren koon vuoksi. Mikrodialyysimenetelmä aliarvioi tutkijoiden mukaan proteiineihin kiinnittyneiden lääkeaineiden pitoisuutta, jolloin se ei havaitse 99 %:sti plasman proteiineihin kiinnittyvää fluniksiinimeglumiinia. Graczyk ym. (2006) tutkivat trimetopriimisulfan ja pentoksifylliinin yhteisvaikutusta tiineyden jatkamiseen kokeellisesti infektoiduilla tammoilla. Kuusi ponitammaa sai lääkityksen kliinisten oireiden ilmaannuttua. Yksi varsa syntyi elävänä, eli vastasyntyneiden selviytymisaste ei lisääntynyt. Tämän lääkeyhdistelmän todettiin viivyttävän ennenaikaista varsomista, mutta se ei estä varsomista ja sikiön kuolemaa.

Tulehduskipulääkkeiden vaikutuksista löytyy paremmin tietoa muiden eläinlajien ja ihmisen osalta. Tulehduskipulääkkeisiin kuuluva indometasiini estä prostaglandiinin eritystä ja kohdun supistelua tiineillä apinoilla, joiden vesikalvon onteloon infusoitiin tulehduksellisia sytokiineja (IL-1 β). Kontrollieläinten kohdun aktiivisuus lisääntyi moninkertaiseksi verrattuna eläimiin, jotka saivat sytokiini-infuusion lisäksi indometasiinia. Sikiönesteen leukosyyttien ja sytokiiniinien määrä lisääntyi merkittävästi IL-1 β -infuusion jälkeen sekä kontrollieläimillä että indometasonia saavilla eläimillä. Sikiönesteen prostaglandiini E₂ ja F_{2 α} -pitoisuudet alentuivat indometasiinihoidon aikana, mutta nousivat merkittävästi IL-1 β -infuusion jälkeen eläimillä, jotka eivät saaneet indometasiinihoitoa. Tutkijoiden mukaan indometasiinilla on suora, kohdun supistusta estävä vaikutus (Sadowsky ym. 2000). Sadowsky ym. (2003) tutkivat myös immunomodulaattorien, deksametasonin ja interleukiini-10:n, estovaikutusta IL-1 β -infuusion aiheuttamiin kohdun supistuksiin apinoilla. Molemmilla aineilla havaittiin samanlainen estovaikutus kohdun supistuksiin ja vaikutus välittyi myös prostaglandiiniinien tuoton vähenemisen kautta. Apinat, joita ei hoidettu immunomodulaattoreilla, synnyttivät enneaikaisesti. Tutkijoiden mukaan kyseiset aineet voivat estää enneaikaisen synnytyksen tulehdus- tai infektiotapauksissa.

Tulehduskipulääkkeiden käyttöön liittyy mahdollisia riskitekijöitä. Avoin valtimotiehyt (patent ductus arteriosus, PDA) on synnynnäinen sydämen kehityshäiriö, jossa vastasyntyneen yksilön ductus arteriosus ei sulkeudu syntymän jälkeen, vaan yhteys keuhkovaltimosta aorttaan säilyy. Ihmispuolella se on melko yleinen kehityshäiriö keskosvauvoilla. Lago ym. (2014) tutkivat jatkuvaa ibuprofeeni-infuusiota PDA:n hoitomenetelmänä. He totesivat, että jatkuva infuusio sulkee tiehyeen tehokkaammin kuin ibuprofeenibolukset ja aiheuttaa vähemmän nekrotisoivaa enterokolittia. Lago ym. (2002) vertasivat ibuprofeenia ja indometasiinia PDA:n hoidossa. Ibuprofeenilla oli vähemmän haittavaikutuksia munuaisten toimintaan kuin indometasiinilla. Molemmat olivat tehokkaita PDA:n hoidossa. Ibuprofeenilla saatiin suljettua 86 % ja indometasiinilla 82 % PDA:sta. Indometasiinilla hoidetuilla vauvoilla diureesi oli vähäisempää ja oliguria yleisempää. Ibuprofeenilla ja indometasiinilla on negatiivinen vaikutus prostaglandiiniinien tuotantoon. Ennen syntymää annetut steroidit lisäävät

tiehyen herkkyyttä hapen supistavaan vaikutukseen ja alentavat herkkyyttä prostaglandiinien laajentavaan vaikutukseen. Beetametasonilla hoidettujen yksilöiden tiehyet sulkeutuivat huomattavasti tehokkaammin kuin hoitamattomien yksilöiden tiehyet.

Sikiönkehityksen aikana valtimotiehyen kuuluu olla avoin. Vastasyntyneillä ja kuolleena syntyneillä vauvoilla valtimotiehyen enneaikainen sulkeutuminen on harvinainen, mutta huomattava löydös, joka liittyy äidin raskaudenaikaiseen tulehduskipulääkkeiden käyttöön (Menahem 1991). Valtimotiehyen tai sydämen eteisten välisen aukon enneaikainen sulkeutuminen johtaa keuhkoverenkierron tilavuusylikuormitukseen ja edelleen vakavaan sydämen vajaatoimintaan ja kuolemaan (Kondo ym. 2006). Mefenaamihappoa ja indometasiinia enneaikaisen synnytyksen estoon ja liiallisen sikiönesteen kertymisen ehkäisyyn käyttäneet naiset joutuivat kiireelliseen sektioon sikiöiden hengenvaaran vuoksi. Ekkokardiografiassa avoimen valtimotiehyen halkaisijaksi mitattiin 1 - 2 mm. Käytetyillä prostaglandiini-inhibiittoreilla epäiltiin olevan yhteys valtimotiehyen liian aikaiseen sulkeutumiseen (Menahem 1991). Schiesslin ym. (2005) mukaan valtimotiehyen herkkyyks prostaglandiinien laajentavalle vaikutukselle pienenee raskauden edetessä. Herkkyyks monissa analgeeteissa esiintyville prostaglandiini-inhibiittoreille lisäänty ja nämä voivat lisätä tiehyen supistumista. Metamitsolilla, ibuprofeenilla ja alhaisella aspiriinin annostustasolla havaittiin supistava vaikutus valtimotiehyeseen. Jos tulehduskipulääkitystä käytetään raskauden aikana, sikiötä pitäisi seurata tarkasti NSAID:n mahdollisten henkeä uhkaavien vaikutuksien vuoksi.

4.5.4 Enneaikaisten supistusten estäjät (tokolyytit)

Tokolyyteillä pyritään estämään kohdun supistuksia ja enneaikaista synnytystä. Yhdysvalloissa erilaisten tokolyyttien käyttö ihmisillä on laajalle levinnyttä huolimatta niiden todistamattomasta tehosta ja mahdollisista haittavaikutuksista sekä äidille että sikiölle. Tutkittuja tokolyyttejä ovat esimerkiksi etanoli, magnesiumsulfaatti, β -sympatomimeetit (ritodriini, terbutaliini), prostaglandiinin synteessin estäjät (indometasiini, sulindaakki, ibuprofeeni), kalsiumkanavan salpaajat (nifedipiini),

oksitosiiniantagonisti (atosibaani) ja typpioksidien luovuttajat. Ihmispuolella näitä tokolyyttejä on tutkittu paljon ja niiden ei ole havaittu pidentävän raskautta tai parantamaan vastasyntyneen tilaa. Parhaimmillaan raskauden kesto on pidennetty näiden avulla 48 tuntia (Ramsey ja Rouse 2002).

Tammalla on tutkittu klenbuterolin vaikutusta tiineyden pidentämiseen lopputiineydessä. Klenbuteroliannokset vaihtelivat 1,97 - 5,62 µg/kg. Klenbuterolihoito ei pidentänyt tiineyttä. Sen β_2 -adrenergiset agonistiominaisuudet eivät olleet riittäviä estämään myometriumin supistuksia. Sivuvaikutuksina korkeammilla annoksilla havaittiin hikoilua ja vatsakipuja. Tutkijat päättelivät, että klenbuterolin käyttöä pitäisi välttää (Palmer ym. 2002).

Myometriumin sileiden lihassolujen välisten aukkoliitosten määrä ja koko on lisääntynyt tiineyden lopussa. Niiden synkronisoitu toiminta mahdollistaa kohdun supistelut synnytyksen aikana. Rotalla tehdyissä tutkimuksissa havaittiin, että aukkoliitoksia muodostuu ilman estrogeenia tai progesteronia, mutta nämä hormonit ovat tärkeitä niiden muodostumisen säätelyssä. Pelkällä progesteronihoidolla *in vitro* ei ollut vaikutusta aukkoliitosten muodostumiseen myometriumissa. Estrogeenin läsnäollessa progesteronilisäys aiheutti aukkoliitosten määrän vähenemisen. Estrogeeni stimuloi aukkoliitosten muodostumista ja progesteroni estää sitä (Garfield 1980). Prostaglandiinien tuotanto lisääntyy synnytyksen lähestyessä. Prostaglandiini stimuloi myometriumin supistumista. Se osallistuu myös aukkoliitosten muodostamiseen syklo-oksigenaasiriippuvaisten aineiden kautta, jotka kiihdyttävät aukkoliitosten muodostamista. Estrogeeni lisää prostaglandiinin tuotantoa ja progesteroni estää sitä (Nathanielsz 1978). PGE-syntaasin ja PGF-syntaasin lähetti-RNA:n transkriptiota säätelee 17β -estradioli. Progesteroni puolestaan säätelee prostaglandiiniendoperoksidisyntaasin (PTGS, syklo-oksigenaasi) lähetti-RNA:n transkriptiota endometriumin epiteelisoluissa. Näin ollen steroidit vaikuttavat PG:n eritykseen syntaasimuodostusta muuntamalla (Szostek ym. 2012). Istukkatulehduksessa bakteerit ja niiden tuottamat ainesosat stimuloivat tulehduksellisten sytokiinien vapautumista eri soluista. Sytokiinit puolestaan stimuloivat endometriumin prostaglandinieritystä, jotka aloittavat kohdun supistelut (LeBlanc ym. 2002).

Progestiinilisäys estää tehokkaasti prostaglandiinin aiheuttamia abortteja. Daels ym. (1996) injektoivat prostaglandiinianalogia, kloprostenolia, 16 tiineelle tammalle viitenä peräkkäisenä päivänä. Kahdeksalle tammalle injektoitiin progesteronia (300 mg SID) aina 18 tunnin kuluttua kloprostenoli-injektiosta. Toiset kahdeksan tammaa sai altrenogestia (44 mg SID) suun kautta 12 tunnin kuluttua kloprostenoli-injektiosta. Progesteronilla hoidetuista tammoista kolme abortoi ja viiden tamman tiineys jatkui. Altrenogestilla hoidettujen tammojen tiineys jatkui, eikä yhtään aborttia aiheutunut. Progestiinia saaneilla tammoilla myös endogeenisen prostaglandiinin tuotanto aleni. Näistä voidaan päätellä, että progestiinilisän käyttö on eduksi istukkatulehdustammoille.

Bailey ym. (2010) halusivat lisätä ennenaikaisia supistuksia estävän tokolyytin trimetopriimisulfan (30 mg/kg suun kautta kahdesti päivässä) ja pentoksifylliinin (8,5 mg/kg suun kautta kahdesti päivässä) rinnalle. Progestiinilisäyksellä (altrenogesti, 0,088 mg/kg suun kautta kerran päivässä) oli tarkoitus ehkäistä tammalla raportoituja, tulehduksen aiheuttamia ennenaikaisia supistuksia (McGlothlin ym. 2004). Tutkimuksen tarkoitus oli selvittää, pidentääkö tämä lääkeyhdistelmä tiineyden kestoa ja parantaako se myös vastasyntyneen varsan elinkelpoisuutta. Tutkimuksen infektoiduista tammoista 83 % varsoi elävän varsan. Nämä vaativat minimaalista tukihoitoa ja olivat kypsiä syntymähetkellä. Kohdun bakteereita hoitoyhdistelmä ei poistanut, vaan tammat vaativat kohtuhoitoja post partum (Bailey ym. 2010).

5 POHDINTA

Tamman istukan toimivuus ja normaali kehittyminen on edellytys sikiön normaalille kasvulle kohdussa. Vaikka mikrokotyledonit ovat hyvin kehittyneet jo 150. tiineysvuorokautena (Samuel ym. 1974), on tärkeää muistaa, että istukka kasvaa ja muotoutuu tiineyden edetessä. On ollut mielenkiintoista havaita tieteellisistä tutkimuksista se, miten istukka vastaa lisääntyvään aineenvaihduntatarpeeseen

esimerkiksi makrovillusten pituutta ja haarojen määrää kasvattamalla ja mikrokarunkkelien aukkojen määrää lisäämällä. Emän ruokintaa koskien on hyvä pitää mielessä se, että ruokintataso ei vaikuttanut istukan ja sikiön kasvuun (Wisher ja Allen 2006). Runsas energiansaanti tiineysaikana lisää tamman elopainoa. Tiineyden aikana ei saisi kuitenkaan tapahtua äkillistä emän painon menetystä, koska se voi johtaa istukan kehittymishäiriöihin ja sitä kautta varsan alempaan syntymäpainoon. Tamman tiineyshistoriaan on syytä kiinnittää huomiota. Jos tamma siirretään siitokseen myöhäisellä iällä, tiineyden kanssa voi tulla ongelmia endometriumin rappeumamuutosten johdosta. Myös ensi kertaa varsovalla tammalla mikrokotyledonien tiheys on alhaisempi ja se korreloi suoraan varsan syntymäpainoon (Wilsher ja Allen 2003). On selvää, että mikrokotyledonien vähäisemmän määrän myötä emä ja sikiön välinen kontaktipinta-ala on myös pienempi. Tiineyksillä oli edistävää vaikutus mikrokotyledonien tiheyteen ja varsan syntymäpainoon (Wilsher ja Allen 2003). Tällöin on hyvä miettiä, kannattaako esimerkiksi ravuritammaa kilpailuttaa viimeiseen asti vai siirtäisikö sen siitokseen hieman nuorempana.

Altrenogestia käytetään hevospraktiikassa tiineyden ylläpitoon tammoilla, joilla epäillään heikentyntä keltarauhasen toimintaa. Toiset praktikot antavat altrenogestivalmistetta tammoille lähes koko tiineyden ajan. Tutkimuksissa on todettu, että alkutiineydessä tamman munasarjat vastaavat progesteronituotannosta (Squires ja Ginther 1975), mutta jo tiineysvuorokausina 70 – 100 istukka vastaa progesteronin tuotosta (Holtan ym. 1979). Lisääntymistieteen opinnoissa neuvotaan antamaan atrenogestia keltarauhasen toimimattomuudessa kolmen kuukauden tiineyteen asti. Tutkimustulokset tukevat tätä eli altrenogestia ei tarvitse käyttää sen jälkeen, kun istukka on alkanut tuottaa progesteronia. On hyvä muistaa, että tamma poikkeaa muista nisäkkäistä siinä, että sen kohdalla progesteronipitoisuus laskee 125. tiineysvuorokaudesta eteenpäin ja sitä ei havaita lopputiineydessä. Viimeisen kuukauden aikana lukuisten progestageenien pitoisuudet nousevat tamman plasmassa (Holtan ym. 1991).

Istukatulehduksen aiheuttajista *S.zooepidemicus* ja *E.coli* ovat tärkeässä asemassa (Whitwell 1988, Hong ym. 1993, Laugier ym. 2011). Ensin mainittu kuuluu hevosen

normaaliflooraan esimerkiksi emättimessä ja jälkimmäinen suoliston normaaliflooraan. Monet tekijät voivat edesauttaa kyseisten opportunistien pääsyä kohtuun. Hygienian puute ja tamman perineaalirakenne ovat tässä avainasemassa. Jos tamman peräaukko on syvälle painunut ja tamma vetää ilmaa emättimeen helposti, bakteerien pääsy kohtuun helpottuu. Myös kohdunkaulan liian aikainen sulkeutuminen ovulaation jälkeen voi johtaa infektiin. Toisaalta myös kohdunkaulan epätäydellinen sulkeutuminen tiineyden aikana altistaa istukkatulehdukselle. Tamman perineaalialueen ja kohdunkaulan tutkimus on siten tärkeää infektiin ennalta ehkäisyn kannalta.

Tamman istukkatulehduksen havainnointi kotitallilla ei ole aina helppoa. Jos tamman utare kasvaa ennen aikaisesti ja alkaa tuottaa maitoa, on tamman omistajan helppo havaita asioiden olevan pielessä. Emätinvuoto puuttuu kuitenkin usein tai on niin vähäistä, että se jää helposti huomaamatta (Macpherson ja Bailey 2008). Varsan selviytymisen kannalta on tärkeää, että antibioottilääkitys päästään aloittamaan mahdollisimman varhaisessa vaiheessa. Tamma voi olla näyttämättä ulkoisia merkkejä ongelmasta, jolloin varsa usein menetetään. Peräsuolen kautta tehtävä ultraäänitutkimus voi auttaa istukkatulehduksen diagnosoinnissa. On hyvä muistaa, että istukan ja kohdun yhteenliittymän mitattu paksuus voi vaihdella sikiönesteen määrän ja sikiön asennon vuoksi (Bucca ym. 2005). Tutkimuksissa on tämän vuoksi kyseenalaistettu CTUP:n arvoa diagnosoinnissa. On selvää, että sikiön painuminen lähelle seinämää venyttää sitä ja alentaa mitattavaa CTUP:a. Mittausvirhe pitää tällöin ottaa huomioon. Ultraäänitutkimuksessa nähdään kuitenkin lisääntynyt ödeemi ja kalvojen irtoaminen toisistaan, joten ongelmatammoilla tämä tutkimus kannattaa tiineyden loppuvaiheessa esimerkiksi kerran kuukaudessa tai jos epäillään jotain ongelmaa. Uudessa tutkimuksessa tamman seerumin amyloidi A-pitoisuus näytti olevan käyttökelpoinen indikaattori istukkatulehduksen havaitsemiseen. Sen pitoisuuden havaittiin olevan kohonnut istukkatulehdustammoilla. Tämä tutkimus olisi helppo toteuttaa myös käytännön praktiikassa sen nopeuden ja helppouden vuoksi.

Istukkatulehduksen hoidossa toimivaksi yhdistelmäksi on osoittautunut tutkimuksissa trimetopriimisulfan, tulehduskipulääkkeen ja altrenogestin yhdistelmä (Bailey ym. 2010). Näiden lisäksi pentoksifyylliinillä on havaittu olevan tulehduksen välittäjäaineita

vähentävä vaikutus (Bailey ym. 2012). Antibiooteista trimetopriimisulfan käyttö on perusteltua, koska se kulkeutuu hyvin sikiönesteisiin ja sikiöön. Gentamisiini ja penisilliini eivät tutkimusten mukaan kulkeudu niin hyvin sikiönesteisiin, joten trimetopriimisulfa on antibiooteista ensisijainen ja järkevin vaihtoehto. Hoitoajaksi suositellaan vähintään kahta viikkoa. Tulehduskipulääkettä on hyvä käyttää prostaglandiinien ja sytokiinien tuoton estämiseksi. Tulehduskipulääkkeen pitkäaikaiskäyttö voi altistaa mahahaavalle. Ihmispuolella prostaglandiini-inhibiittorit ovat aiheuttaneet valtimotiehyen liian aikaista sulkeutumista. Kirjallisuudesta ei löydy tietoa siitä, voiko tulehduskipulääke aiheuttaa vastaavaa varsalle. Tulehduskipulääkkeitä käytetään yleisesti hevosilla ja raportointia tällaisesta haittavaikutuksesta ei löydy, mikä kuvaa ehkä sitä, että valtimotiehyen liian aikainen sulkeutuminen tulehduskipulääkkeen käytön vuoksi ei ole kovin yleistä. Saattaa tietysti olla, että mahdollisesti kuolleet varsat jätetään patologisesti tutkimatta ja tämä vaikutus jää huomaamatta. Altrenogestilla ehkäistään kohdun supisteluja. On tärkeä seurata varsan tilannetta kohdussa, sillä altrenogestilääkitys voi estää varsan ulostulon, vaikka se olisi kuollut. Kyseisellä yhdistelmä-lääkityksellä on tutkimusten mukaan nostettu elävinä syntyneiden varsojen lukumäärää.

6 KIITOKSET

Kiitokset ohjaajalleni Maria Kareskoskelle ohjaustyöstä ja aina auttavaisesta asenteesta ja nopeasta avusta pulmassa kuin pulmassa. Kiitokset myös työnjohtajalleni Terttu Katilalle arvokkaista neuvoista tammojen lisääntymistieteen alalla.

7 KIRJALLISUUSLUETTELO

Abd-Elnaeim MMM, Leiser R, Wilsher S, Allen WR. Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares. *Placenta* 2006, 27: 1103-1113.

Allen WR. The influence of fetal genotype upon endometrial cup development and PMSG and progestagen production in equids. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1975, 23: 405-413.

Allen WR. Immunological aspects of the endometrial cup reaction and the effect of xenogeneic pregnancy in horses and donkeys. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1982, 31:57-94.

Allen WR, Moor RM. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 1972, 29 (2):313-316.

Allen WR, Hamilton DW, Moor RM. The origin of equine endometrial cups II. Invasion of the endometrium by trophoblast. *Anatomical Record* 1973, 117: 475-501.

Allen WR, Wilsher S, Stewart F, Ousey J, Fowden A. The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. *Journal Of Endocrinology* 2002a, 172(2):237-246.

Allen WR, Wilsher, S, Turnbull C, Stewart F, Ousey J, Rosedale PD, Fowden AL. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. development in utero. *Reproduction* 2002b, 123(3):445-453.

Bailey CS, Macpherson ML, Graczyk J, Pozor MA, Troedsson MHT, LeBlanc MM, Vickroy TW. Treatment efficacy of trimethoprim sulfamethoxazole, pentoxifylline, and altrenogest in equine placentitis. *Proceedings of the 53rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners* 2007: 339-340.

Bailey CS, Sper RB, Schewmaker JL, Buchanan CN, Beachler TM, Pozor MA, Whitacre MD. Uterine artery blood flow remains unchanged in pregnant mares in response to short-term administration of pentoxifylline. *Theriogenology* 2012, 77: 430-436.

- Bailey CS, Macpherson ML, Pozor MA, Troedsson MHT, Benson S, Giguere S, Sanchez LC, LeBlanc MM, Vickroy TW. Treatment efficacy of trimethoprim sulfamethoxazole, pentoxifylline, and altrenogest in experimentally induced equine placentitis. *Theriogenology*. 2010, 74:402-412.
- Barnes RJ, Nathanielsz, PW, Rossdale PD, Comline RS, Silver, M. Plasma progestagens and estrogens in fetus and mother in late pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1975, 23:617-623.
- Bastek JA, Gómez LM, Elovitz MA. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Clinics in perinatology* 2011, 38 (3): 385-406.
- Battut I, Colchen S, Fieni F, Tainturier D, Bruyas J-F. Success rates when attempting to nonsurgically collect equine embryos at 144, 156 or 168 hours after ovulation. *Equine Veterinary Journal Supplement* 1998, 25: 60-62.
- Berglund LA, Sharp DC, Vernon MW, Thatcher WW. Effect of pregnancy and collection technique on prostaglandin F in the uterine lumen of Pony mares. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1982, 32: 335-341.
- Bishop CV, Stormshak F. Nongenomic action of progesterone inhibits oxytocin-induced phosphoinositide hydrolysis and prostaglandin F-2 alpha secretion in the ovine endometrium. *Endocrinology* 2006,147 (2):937-942.
- Bucca S, Fogarty U, Collins A, Small V. Assesment of feto-maternal well-being in the mare from mid-gestation to term: Transrectal and transabdominal ultrasonographic features. *Theriogenology* 2005, 64: 542-557.
- Calderwood Mays MB, LeBlanc MM, Paccamonti D. Route of fetal infection in a model of ascending placentitis. *Theriogenology* 2002, 58: 791-792.
- Chavatte P, Holtan DW, Ousey JC, Rossdale PD. Biosynthesis and possible biological roles of progestagens during equine pregnancy and in the newborn foal. *Equine Veterinary Journal Supplement* 1997, 24: 89-95.
- Christiansen D, Crouch J, Hopper R, Moulton K, LeBlanc MM, Ryan PL. Experimentally induced placentitis in late gestation mares with *Streptococcus equi*

zoepidemicus: therapeutic prevention of preterm birth. *Clinical Theriogenology* 2009, 1: 239.

Coutinho da Silva MA, Canisso IF, Macpherson ML, Johnson AEM, Divers TJ. Serum amyloid A concentration in healthy periparturient mares and mares with ascending placentitis. *Equine Veterinary Journal* 2013, 45(5):619-624.

Daels PF, Shideler S, Lasley BL, Hughes JP, Stabenfeldt GH. Source of oestrogen in early pregnancy in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility* 1990, 90(1): 55-61.

Daels PF, Besognet B, Hansen B, Mohammed H, Odensvik K, Kindahl H. Effect of progesterone on prostaglandin F₂ alpha secretion and outcome of pregnancy during cloprostenol-induced abortion in mares. *American Journal of Veterinary Research* 1996, 57(9): 1331-1337.

Foster SJ, Marshall DE, Houghton E, Gower DB. Investigations into the biosynthetic pathways for classical and ring B-unsaturated oestrogens in equine placental preparations and allantochorionic tissues. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2002, 82: 401-411.

Fowden AL, Forhead AJ, Ousey JC. Endocrine adaptations in the foal over the perinatal period. *Equine Veterinary Journal* 2012, 44: 130-139.

Fowden AL, Forhead AJ, White KL, Taylor PM. Equine uteroplacental metabolism at mid- and late gestation. *Experimental Physiology* 2000, 85 (5): 539-545.

Garfield RE, Kannan MS, Daniel EE. Gap junction formation in myometrium: Control by estrogens, progesterone, and prostaglandins. *The American Journal of Physiology* 1980, 238 (3): C81-89.

Giles RC, Donahue JM, Hong CB, Tuttle PA, Petrites-Murphy M, Poonacha KB. Causes of abortion, stillbirth, and perinatal death in horses: 3,527 cases (1986-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1993, 203 (8): 1170-1175.

Graczyk J, Macpherson ML, Pozor MA, Troedsson MHT, Eichelberger AC, LeBlanc MM. Treatment efficacy of trimethoprim sulfamethoxazole and pentoxifylline in equine placentitis. *Animal Reproduction Science* 2006, 94: 434-435.

Haluska GJ, Currie WB. Variation in plasma-concentrations of oestradiol-17-beta and their relationship to those of progesterone, 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin-f-2-alpha and oxytocin across pregnancy and at parturition in pony mares. *Journal of Reproduction and Fertility* 1988, 84 (2): 635-646.

Haluska GJ, Lowe JE, Currie WB. Electromyographic properties of the myometrium of the pony mare during pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility* 1987, 81(2): 471-478.

Han X, Rossdale PD, Ousey JC, Holdstock N, Allen WR, Silver M, Fowden AL, McGladdery AJ, Labrie F, Belanger A. Localisation of 15-hydroxy prostaglandin dehydrogenase (PGDH) and steroidogenic enzymes in the equine placenta. *Equine Veterinary Journal* 1995, 27 (5): 334-339.

Heller S, Weber K, Heller A, Urbaschek R, Koch T. Pentoxifylline improves bacterial clearance during hemorrhage and endotoxemia. *Critical care medicine* 1999, 27 (4): 756-763.

Holtan, DW, Squires EL, Lapin DR, Ginther OJ. Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1979, 27: 457-463.

Holtan DW, Houghton E, Silver M, Fowden AL, Ousey J, Rossdale PD. Plasma progestagens in the mare, fetus and newborn foal. *Journal of Reproduction and Fertility* 1991: 517-528.

Hong CB, Donahue JM, Giles RC, Petrites-Murphy MB, Poonacha KB, Roberts AW, Smith BJ, Tramontin RR, Tuttle PA, Swerczek TW. Etiology and pathology of equine placentitis. *Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1993, 5 (1): 56-63.

Jeffcott LB, Whitwell KE. Twinning as a cause of foetal and neonatal loss in the Thoroughbred mare. *Journal of Comparative Pathology* 1973, 83: 91-106.

Kindahl H, Knudsen O, Madej A, Edqvist LE. Progesterone, prostaglandin F-2 alpha, PMSG and oestrone sulphate during early pregnancy in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1982, 32: 353-359.

Klonisch T, Mathias S, Cambridge G, Hombach-Klonisch S, Ryan PL, Allen WR. Placental localization of relaxin in the pregnant mare. *Placenta* 1997, 18: 121-128.

- Kondo T, Kitazawa R, Noda-Maeda N, Kitazawa S. Fetal hydrops associated with spontaneous premature closure of ductus arteriosus. *Pathology International* 2006, 56: 554-557.
- Lago P, Salvadori S, Opocher F, Ricato S, Chiandetti L, Frigo AC. Continuous infusion of ibuprofen for treatment of patent ductus arteriosus in very low birth weight infants. *Neonatology* 2014, 105: 46-54.
- Lago P, Bettiol T, Salvadori S, Pitassi I, Vianello A, Chiandetti L, Saia OS. Safety and efficacy of ibuprofen versus indomethacin in preterm infants treated for patent ductus arteriosus: A randomised controlled trial. *European Journal of Pediatrics* 2002,161(4): 202-207.
- Laugier C, Foucher N, Sevin C, Leon A, Tapprest J. A 24-Year retrospective study of equine abortion in Normandy (France). *Journal of Equine Veterinary Science* 2011, 31: 116-123.
- LeBlanc MM. Ascending placentitis in the mare: an update. *Reproduction in Domestic Animals Supplement* 2010, 2: 28-34.
- LeBlanc MM, Giguere S, Brauer K, Paccamonti DL, Horohov DW, Lester GD, O'Donnell LJ, Sheerin BR, Pablo L, Rodgeron DH. Premature delivery in ascending placentitis is associated with increased expression of placental cytokines and allantoic fluid prostaglandins E₂ and F_{2α}. *Theriogenology* 2002, 58: 841-844.
- Leiser R, Pfarrer C, Abd-Elnaeim M, Dantzer V. Feto-maternal anchorage in epitheliochorial and endotheliochorial placental types studied by histology and microvascular corrosion casts. *Placenta* 1998, 19: 21-39.
- Lyle SK, Gentry LR, Horohov DW, Johnson JR, Eilts BE, Godke RA, Paccamonti DL. Preliminary evidence of fetal cortisol production in response to inflammation in a model of equine placentitis. *Proceedings of the 55th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners* 2009: 264-265.
- Macdonald AA, Chavatte P, Fowden AL. Scanning electron microscopy of the microcotyledonary placenta of the horse (*equus caballus*) in the latter half of gestation. *Placenta* 2000, 21(5-6): 565-574.

Macpherson ML, Bailey CS. A clinical approach to managing the mare with placentitis. *Theriogenology* 2008, 70: 435-440.

Macpherson ML, Giguere S, Hatzel JN, Pozor M, Benson S, Diaw M, Sanchez LC, Vickroy TW, Tell L, Wetzlich S, Sims J. Disposition of desfuroylceftiofur acetamide in serum, placental tissue, fetal fluids and fetal tissues after administration of ceftiofur crystalline free acid (CCFA) to pony mares with placentitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2012, 36: 59-67.

McGlothlin JA, Lester GD, Hansen PJ, Thomas M, Pablo L, Hawkins DL, LeBlanc MM. Alteration in uterine contractility in mares with experimentally induced placentitis. *Reproduction* 2004, 127 (1): 57-66.

Menahem S. Administration of prostaglandin inhibitors to the mother - the potential risk to the fetus and neonate with duct-dependent circulation. *Reproduction Fertility and Development* 1991, 3(4): 489-494.

Morris S, Kelleman AA, Stawicki RJ, Hansen PJ, Sheerin PC, Sheerin BR, Paccamonti DL, LeBlanc MM. Transrectal ultrasonography and plasma progesterin profiles identifies fetoplacental compromise in mares with experimentally induced placentitis. *Theriogenology* 2007, 67 (4): 681-691.

Murchie TA, Macpherson ML, Le Blanc MM, Luznar S, Vickroy TW. Continuous monitoring of penicillin G and gentamicin in allantoic fluid of pregnant pony mares by in vivo microdialysis. *Equine Veterinary Journal* 2006, 38 (6): 520-525.

Nathanielsz PW. Endocrine mechanisms of parturition. *Annual review of physiology* 1978, 40: 411-445.

Neuhauser S, Palm F, Ambuehl F, Aurich C. Effects of altrenogest treatment of mares in late pregnancy on parturition and on neonatal viability of their foals. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes* 2008, 116 (7): 423-428.

Oguri N, Tsutsumi Y. Non-surgical recovery of equine eggs, and an attempt at non-surgical egg transfer in horses. *Journal of Reproduction and Fertility* 1972, 31(2):187-195.

Ousey JC. Peripartal endocrinology in the mare and foetus. *Reproduction in Domestic Animals* 2004, 39 (4): 222-231.

Ousey JC, Kölling M, Kindahl H, Allen WR. Maternal dexamethasone treatment in late gestation induces precocious fetal maturation and delivery in healthy Thoroughbred mares. *Equine Veterinary Journal* 2011, 43 (4): 424-429.

Ousey JC, Houghton E, Grainger R, Rosedale PD, Fowden AL. Progestagen profiles during the last trimester of gestation in thoroughbred mares with normal or compromised pregnancies. *Theriogenology* 2005, 63(7): 1844-1856.

Palmer E, Chavatte-Palmer P, Duchamp G, Lévy I. Lack of effect of clenbuterol for delaying parturition in late pregnant mares. *Theriogenology* 2002, 58: 797-799.

Pashen RL. Maternal and foetal endocrinology during late pregnancy and parturition in the mare. *Equine Veterinary Journal* 1984, (4): 233-238.

Pashen RL, Allen WR. The role of the fetal gonads and placenta in steroid production, maintenance of pregnancy and parturition in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1979, 27: 499-509.

Pashen RL, Sheldrick EL, Allen WR, Flint AP. Dehydroepiandrosterone synthesis by the fetal foal and its importance as an oestrogen precursor. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1982, 32:389-397.

Raeside JJ. Dehydroepiandrosterone in the fetal gonads of the horse. *Journal of Reproduction and Fertility* 1976, 46(2): 423-425.

Raeside JJ, Renaud RL, Christie HL. Postnatal decline in gonadal secretion of dehydroepiandrosterone and 3 beta-hydroxyandrost-5,7-dien-17-one in the newborn foal. *Journal of Endocrinology* 1997,155 (2): 277-282.

Ramsey PS, Rouse DJ. Therapies administered to mothers at risk for preterm birth and neurodevelopmental outcome in their infants. *Clinics In Perinatology* 2002, 29(4): 725-743.

Rebello SA, Macpherson ML, Murchie TA, LeBlanc MM, Vicroy TW. Placental transfer of trimethoprim sulfamethoxazole and pentoxifylline in pony mares. *Animal Reproduction Science* 2006, 94: 432-433.

Renaudin CD, Troedsson MH, Gillis CL. Transrectal ultrasonographic evaluation of the normal equine placenta. *Equine Veterinary Education* 1999, 11 (2): 75-76.

Renaudin CD, Troedsson MH, Gillis CL, King VL, Bodena A. Ultrasonographic evaluation of the equine placenta by transrectal and transabdominal approach in the normal pregnant mare. *Theriogenology* 1997, 47 (2): 559-573.

Roberts SJ, editor. *Veterinary obstetrics and genital diseases*. Third ed. Vermont: Author Woodstock; 1986.

Rossdale PD, Pashen RL, Jeffcott LB. The use of synthetic prostaglandin analogue (fluprostenol) to induce foaling. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1979, 27: 521-529.

Rossdale PD, Ousey JC, Cottril CM, Chavatte P, Allen WR, McGladdery AJ. Effects of placental pathology on maternal plasma progesterone and mammary secretion calcium concentrations and on neonatal adrenocortical function in the horse. *Journal of Reproduction and Fertility* 1991: 579-590.

Ryan P, Vaala W, Bagnell C. Evidence that equine relaxin is a good indicator of placental insufficiency in the mare. *Proceedings of the 44th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners* 1998: 62-63.

Sadowsky DW, Novy MJ, Witkin SS, Gravett MG. Dexamethasone or interleukin-10 blocks interleukin-1 beta-induced uterine contractions in pregnant rhesus monkeys. *American Journal Of Obstetrics And Gynecology*, 2003, 188(1): 252-263.

Sadowsky DW, Haluska GJ; Gravett MG, Witkin SS, Novy MJ. Indomethacin blocks interleukin 1beta-induced myometrial contractions in pregnant rhesus monkeys. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2000, 183(1): 173-80.

Samuel CA, Allen WR, Steven DH. Studies on the equine placenta. I. development of the microcotyledons. *Journal of Reproduction and Fertility* 1974, 41(2): 441-445.

Samuel CA, Allen WR, Steven DH. Studies on the equine placenta. II. Ultrastructure of the placental barrier. *Journal of Reproduction and Fertility* 1976, 48(2): 257-264.

- Samuel CA, Allen WR, Steven, DH. Studies on the equine placenta. III. Ultrastructure of the uterine glands and the overlying trophoblast. *Journal of Reproduction and Fertility* 1977, 51(2): 433-437.
- Santschi EM, Papich MG. Pharmacokinetics of gentamicin in mares in late pregnancy and early lactation. *Journal Of Veterinary Pharmacology And Therapeutics* 2000,23(6): 359-363.
- Schiessl B, Schneider KTM, Zimmermann A, Kainer F, Friese K, Oberhoffer R. Prenatal constriction of the fetal ductus arteriosus - related to maternal pain medication? *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie* 2005, 209(2): 65-68.
- Senger P, editor. *Pathways to pregnancy and parturition*. Second edition. Oregon, USA: Current Conceptions, Inc. 2003.
- Sertich PL, Vaala WE. Concentrations of antibiotics in mares, foals, and fetal fluids after antibiotic administration during late pregnancy. *Proceedings of the annual convention of the American Association of Equine Practitioners*. 1993: 727-736.
- Squires EL, Ginther OJ. Collection technique and progesterone concentration of ovarian and uterine venous blood in mares. *Journal of Animal Science* 1975, 40(2): 275-281.
- Squires EL, Wentworth BC, Ginther OJ. Progesterone concentration in blood of mares during the estrous cycle, pregnancy and after hysterectomy. *Journal of Animal Science* 1974, 39: 759-767.
- Stawicki RJ, Ruebel H, Hansen PJ, Sheerin BR, O'Donnell LJ, Lester GD, Paccamonti DL, LeBlanc MM. Endocrinological findings in an experimental model of ascending placentitis in the mare. *Theriogenology* 2002, 58: 849-852.
- Steven DH, Samuel CA. Anatomy of the placental barrier in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1975, 23: 579-582.
- Stewart F, Allen WR. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. *Journal of Reproduction and Fertility* 1981, 62 (2): 527-536.
- Stewart DR, Addiego LA, Pascoe DR, Haluska GJ, Pashen RL. Breed differences in circulating equine relaxin. *Biology of Reproduction* 1992, 46 (4): 648-652.

Suomen Hippos ry. Hevosalan tunnusluvut 2013.

http://www.hippos.fi/files/9102/Tunnusluvut_2013_.pdf , haettu 12.04.2014,
päivitetty 2014.

Szóstek A, Kolomycka A, Adamowski M, Ferreira-Dias G, Skarzynski D. The effect of 17-beta estradiol (E2) and progesterone (P4) on cells proliferation, prostaglandin secretion and prostaglandin (PG) synthases mRNA transcription in the equine endometrial cells in vitro. *Journal Of Reproductive Immunology* 2012, 94(1): 62.

Tait AD. Synthesis of [3α - ^3H]-Dehydroepiandrosterone and [3α - ^3H]-Pregnenolone. *Journal Of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* 1998, 41(3): 221-226.

Tait AD, Hodge LC, Allen WR. Biosynthesis of 3β -hydroxy-5,7-pregnadien-20-one by the horse fetal gonad. *FEBS Letters* 1983, 153(1): 161-164.

Tait AD, Hodge LC, Allen WR. The biosynthesis of 3β -hydroxy-5,7-androstadien-17-one by the horse fetal gonad. *FEBS Letters* 1985, 182(1): 107-110.

Terqui M, Palmer E. Oestrogen pattern during early pregnancy in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1979, 27: 441-446.

Tint GS, Irons M, Elias ER, Batta AK, Frieden R, Chen TS, Salen G. Defective cholesterol biosynthesis associated with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *The New England Journal of Medicine* 1994, 330(2): 107-113.

Troedsson MHT, Renaudin CD, Zent WW, Steiner JV. Transrectal ultrasonography of the placenta in normal mares and in mares with pending abortion: A field study. *Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association Equine Practitioners* 1997: 256-258.

Urwin VE, Allen WR. Pituitary and chorionic gonadotrophic control of ovarian function during early pregnancy in equids. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1982, 32: 371-381.

Van Niekerk CH, Allen WR. Early embryonic development in the horse. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1975, 23: 495-498.

Whitwell KE. Infective placentitis in the mare. *Equine infectious diseases V : Proceedings of the Fifth International Conference / edited by David G Powell*. 1988: 172-180.

Whitwell KE, Jeffcott LB. Morphological studies on the fetal membranes of the normal singleton foal at term. *Research in Veterinary Science* 1975, 19(1): 44-55.

Wilsher S, Allen WR. The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare. *Equine Veterinary Journal* 2003, 35(5): 476-483.

Wilsher S, Allen WR. Effects of a *Streptococcus equi* infection-mediated nutritional insult during mid-gestation in primiparous Thoroughbred fillies. part 1: Placental and fetal development. *Equine Veterinary Journal* 2006, 38(6): 549-557.

Wilsher S, Allen WR. Factors influencing equine chorionic gonadotrophin production in the mare. *Equine Veterinary Journal* 2011, 43(4): 430-438.

Wilsher S, Ousey JC, Allen WR. Observations on the placentae of eight Thoroughbred foals born with flexural limb deformities. *Equine Veterinary Education* 2013, 25 (2): 84-95.

Wooding FB, Morgan G, Fowden AL, Allen WR. A structural and immunological study of chorionic gonadotrophin production by equine trophoblast girdle and cup cells. *Placenta* 2001, 22 (8-9): 749-767.