

PLASMAN KORTISOLIN  
VUOROKAUSIVAIHTELU PUUNPURIJOILLA JA  
VERROKKIHEVOSILLA



Kira Kanerva  
Lisensiaatin tutkielma  
Helsingin yliopisto  
Eläinlääketieteellinen tiedekunta  
Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen laitos  
2009



Tiedekunta - Fakultet – Faculty		Laitos - Institution – Department	
Eläinlääketieteellinen Tiedekunta		Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen laitos	
Tekijä - Författare – Author			
Kira Kanerva			
Työn nimi - Arbetets titel – Title			
Plasman kortisolin vuorokausivaihtelu puunpurijoilla ja verrokkihevosilla			
Oppiaine - Läroämne – Subject			
Työn laji - Arbetets art – Level		Aika - Datum – Month and year	Sivumäärä - Sidoantal – Number of pages
Lisensiaatin tutkielma		04 / 2009	32
Tiivistelmä - Referat – Abstract			
<p>Kortisoli on lisämunuaisperäinen glukokortikoideihin kuuluva steroidihormoni, jolla on tärkeä säätelytehtävä elimistön aineenvaihdunnassa. Kortisoli on yksi tärkeimmistä stressihormoneista ja sen avulla elimistö kykenee selviytymään stressin aiheuttamista muutoksista. Kortisolin eritykselle on tyypillistä vuorokausivaihtelu. Hevosilla kortisolin pitoisuus on matalimmillaan yöaikaan ja korkeimmillaan aamulla. Vuorokausivaihtelun lisäksi plasman kortisolipitoisuuteen vaikuttaa esimerkiksi hevosen kokema stressi.</p> <p>Puunpureminen eli imppaaminen on yksi yleisimmistä stereotyyppioista hevosilla. Sitä on pidetty huonona tallitapana, josta hevosten omistajat ovat yrittäneet päästä eroon esimerkiksi erilaisten puunpuremista estävien pantojen avulla. Sen etiologia ja funktio on huonosti tunnettu. Yleisesti oletetaan, että puunpurijahevoset ovat muita hevosia stressiherkempiä, jolloin puunpureminen on ikään kuin keino käsitellä ja vähentää stressiä sekä nopeuttaa stressiin sopeutumista.</p> <p>Puunpuremisen ja plasman kortisolipitoisuuden välistä yhteyttä on tutkittu hevosilla jonkin verran. Tutkimuksissa on keskitytty enimmäkseen lyhytaikaisen kortisolipitoisuuden tutkimiseen. Hevosten stereotyyppioihin verrattavissa tilanteissa ihmisillä on havaittu muutoksia kortisolin vuorokausivaihtelussa.</p> <p>Tutkimuksen kokeellisessa osuudessa haluttiin selvittää kortisolin vuorokausivaihtelua ja verrata sitä puunpurijoiden ja verrokkihevosten välillä. Tutkimuksen kokeellinen osuus suoritettiin keväällä 2008. Tutkimuksessa ei löydetty eroavaisuuksia kortisolin pitoisuuksissa eikä vuorokausivaihtelussa puunpurijoiden ja verrokkien välillä. Selkeä kortisolipitoisuuden vuorokausivaihtelu oli havaittavissa kaikilla hevosilla.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords			
Hevonen, kortisoli, puunpureminen, imppaaminen, vuorokausivaihtelu			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited			
Viikin Tiedekirjasto			
Työn valvoja (professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) – Instruktor och ledare – Director and Supervisor(s)			
Työn valvoja ja vastuullinen ohjaaja Marja Raekallio, toinen ohjaaja Karin Hemmann			

## SISÄLLYS:

1 JOHDANTO .....	4
2 KIRJALLISUUSKATSAUS .....	5
2.1 Kortisoli .....	5
2.2 Kortisolin tehtävät elimistössä.....	6
2.3 Kortisolin pitoisuuteen vaikuttavia tekijöitä hevosilla .....	7
2.4 Kortisolin vuorokausivaihtelu.....	8
2.5 Plasman kortisolipitoisuuteen vaikuttavat patologiset tilat .....	10
2.5.1 Sekundaarinen hyperadrenokortikismi eli Cushingin tauti ..	10
2.5.2 Hyperadrenokortikismi.....	10
2.5.3 Hypoadrenokortikismi .....	11
2.5.4 Primaariset adrenokortikaaliset tuumorit .....	11
2.6 Puunpureminen eli imppaaminen .....	11
2.7 Stressin yhteys stereotypioihin.....	14
2.7.1 Stressin vaikutukset elimistöön.....	14
2.7.2 Stressi ja stereotypiat .....	14
2.7.3 Plasman kortisolipitoisuus imppaavilla hevosilla .....	15
3 AINEISTO JA MENETELMÄT.....	17
3.1 Tutkimuksen lähtökohdat .....	17
3.2 Tutkimukseen osallistuneet hevoset.....	18
3.3 Tutkimuksen kulku .....	18
3.4 Tutkimus käytännössä.....	19
3.5. Kortisolin määrittely plasmasta .....	20
3.6 Tuloksien tilastollinen käsittely .....	21
4 TULOKSET .....	21
5 POHDINTA .....	22
6 KIRJALLISUUSLUETTELO .....	26

## 1 JOHDANTO

Puunpureminen eli imppaaminen on yksi yleisimmistä stereotyyppioista hevosilla. Sitä on pidetty huonona tallitapana, josta hevosten omistajat ovat yrittäneet päästä eroon esimerkiksi erilaisten puunpuremista estävien pantojen avulla. Sen etiologia ja funktio on huonosti tunnettu. Etiologiaksi on epäilty muun muassa perinnöllisyyttä. Imppaamista on myös pidetty ruokailuun osittain liittyvänä tapana, jolla hevonen on voinut edistää hidasta ruoansulatustaan sekä helpottaa epämiellyttävää tunnetta mahassaan. Yleisesti oletetaan, että puunpurijahevoset ovat muita hevosia stressiherkempiä, jolloin puunpureminen on ikään kuin keino käsitellä ja vähentää stressiä sekä nopeuttaa stressiin sopeutumista.

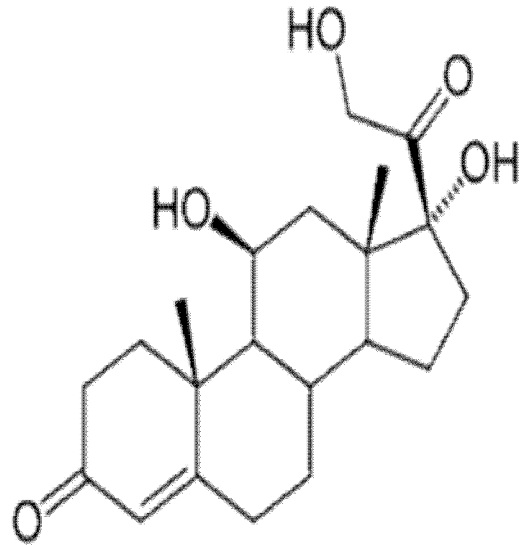
Kortisoli on yksi elimistön tärkeimmistä stressihormoneista. Sen pitoisuus kohoaa elimistön altistuessa stressille ja sen avulla elimistö kykenee selviytymään stressin aiheuttamista muutoksista. Kortisolin osuutta on tutkittu muun muassa syvästi masentuneilla ihmisillä ja havaittu näillä muutoksia kortisolin erittymisessä sekä vuorokausikäyrissä.

Tässä tutkimuksessa oli tarkoitus selvittää kortisolipitoisuuden vuorokausivaihtelua hevosilla, sekä kartoittaa eroavaisuuksia kortisolin erityksessä puunpurijoilla ja verrokkihevosilla. Tutkimukselle oli tarvetta, sillä kortisolin vuorokausivaihtelusta ja eroavaisuuksista puunpurijoiden ja verrokkien välillä ei ole aiemmin tehty näin kattavaa tutkimusta. Uskoimme löytävämme hevosilla samankaltaista vuorokausivaihtelua kortisolin erittymisessä kuin ihmisillä on todettu. Lisäksi oletimme saavamme eroavaisuuksia kortisolin erittymisessä ja vuorokausivaihtelussa puunpurijoiden ja verrokkihevosten välillä.

## 2 KIRJALLISUUSKATSAUS

### 2.1 Kortisoli

Lisämunuaisen kuorikerroksessa tuotetaan kahta steroidihormonien päätyyppiä; mineralokortikoideja ja glukokortikoideja. (Cunningham ja Klein 2007) Kortisoli on tärkein glukokortikoidi useimmilla nisäkkäillä. (Sjaastad ym. 2003) Se on rasvaliukoinen steroidihormoni, jota syntetisoidaan kolesterolista (Kuva 1). Glukokortikoideja muodostetaan lisämunuaisen kuorikerroksen zona fasciculata-nimisessä keskimmaisessa

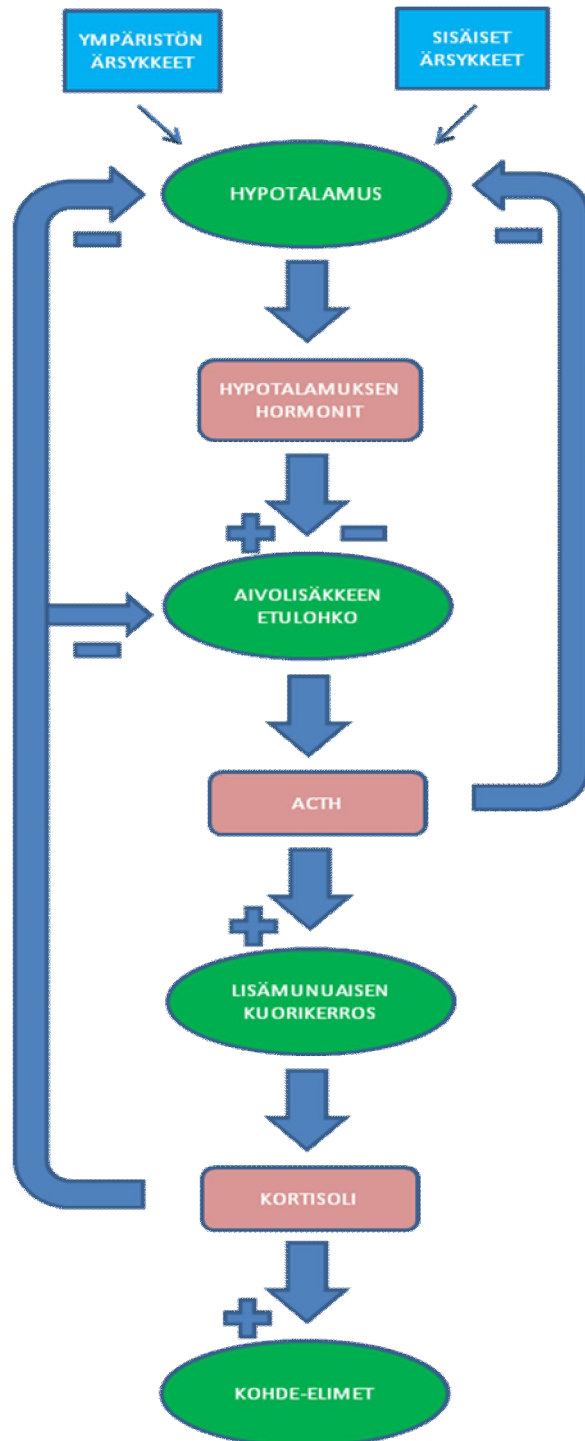


Kuva 1 Kortisolin rakennekaava (fi.wikipedia.org/wiki/kortisoli)

kerroksessa. (Cunningham ja Klein 2007, Reed ym. 2004, Sjaastad ym. 2003) Kortisolin erittymistä säätelee aivolisäkkeen etulohkosta erittyvä peptidihormoni kortikotropiini eli ACTH, jonka eritystä puolestaan säätelee hypotalamuksesta erittyvä kortikoliberiini eli ACTH-RH. (Lääketieteen termit 2002) Hypotalamukseen vaikuttavat monet sisäiset ja ulkoiset tekijät, kuten esimerkiksi stressi. (Cunningham ja Klein 2007, Hellhammer ym. 2007, Reed ym. 2004, Sjaastad ym. 2003) Kortisolin erittymistä sääteleviä mekanismeja on esitelty kuvassa 2.

Kortisoli on veressä valtaosin sitoutuneena proteiiniin. Plasman kortisolista 75% on sitoutuneena transkortiiniin eli kortikosteroidia sitovaan globuliiniin ja 15% albumiiniin. Loput 10% kortisolista on plasmassa sitoutumattomana. (Cunningham ja Klein 2007) Vain vapaa

kortisoli on biologisesti aktiivinen. Kortisolin vaikutukset kohdesoluihin välittyvät solunsisäisen reseptorin välityksellä. (Reed ym. 2004, Sjaastad ym. 2003) Eläimillä kortisolin puoliintumisaika plasmassa on noin 60 minuuttia. (Cunningham ja Klein 2007)



## 2.2 Kortisolin tehtävät elimistössä

Kortisolin tehtävät elimistössä liittyvät ravinteiden aineenvaihduntaan ja stressiin sopeutumiseen. Se onkin yksi tärkeimmistä stressihormoneista. Elimistön altistuessa stressille kortisolin plasmapitoisuus lisääntyy. Kortisoli lisää elimistössä glukoneogeneesiä stimuloimalla maksan entsyymejä, jotka tuottavat aminohapoista glukoosia. Kortisoli vapauttaa kudoksista glukoneogeneesiin tarvittavia amino- ja rasvahappoja sekä vähentää glukoosin hyväksikäyttöä kudoksissa. Suurina pitoisuuksina kortisoli saa aikaan hyperglykemiaa. (Cunningham & Klein 2007, Reed ym. 2004, Sjaastad ym. 2003) Kortisoli tehostaa

Kuva 2 Kortisolin erittymistä säätelevät mekanismit elimistössä

noradrenaliinin verenpainetta kohottavaa vaikutusta ylläpitämällä vasokonstriktiota. (McKeever ja Gordon 2004) Se on myös tarpeellinen normaalin verenpaineen säilyttämisessä. Munuaisissa kortisoli lisää veden eritystä. Kortisoli inhiboi DNA:n synteesiä monissa kudoksissa toimien näin kasvua inhiboivana tekijänä. Lisäksi kortisolilla on suurina pitoisuuksina sekä anti-inflammatorinen että immunosuppressiivinen vaikutus. Kortisoli vähentää prostaglandiinien muodostumista ja leukosyyttien kuljetusta tulehdusalueelle. Sen immuunipuolustusta inhiboiva ominaisuus välittyy vasta-aineiden tuotannon sekä lymfosyyttien määrän vähenemisen kautta. Mahalaukussa kortisoli lisää mahanesteen eritystä. (Cunningham ja Klein 2007, Reed ym. 2004, Sjaastad ym. 2003, McKeever ja Gordon 2004)

Kortisolin synteettistä muotoa hydrokortisonia käytetään hyväksi lääketeollisuudessa muun muassa suonensisäisesti ja suun kautta annosteltavissa valmisteissa sekä ihosumutteissa, silmä- ja korvatipoissa. (Pharmaca Fennica Veterinaria 2009, Lääkelaitos 2009) Hevosille hyväksytyjä hydrokortisonivalmisteita löytyy emulsiovoiteena, korvatippoina ja injisoitavana valmisteena. (Eviran Lääkeaineluettelo 2009)

### 2.3 Kortisolin pitoisuuteen vaikuttavia tekijöitä hevosilla

Fazio ym. (2009) totesivat tutkimuksessaan, että hevosten keskimääräinen plasman kortisolipitoisuus levossa kohoaa varsan kasvaessa 1kk:n iästä 13 kk:n ikään. 1kk:n iässä varsojen keskimääräinen kortisolipitoisuus oli kliinisesti terveillä täysiverivarsoilla  $52 \pm 22$  nmol/l, kun taas 13 kk:n iässä keskimääräinen kortisolipitoisuus oli samoilla varsoilla  $227 \pm 40$

nmol/l. Vieroitus kohotti ohimenevästi plasman kortisolipitoisuutta. (Fazio ym. 2009)

Stressitilanteissa kortisolin pitoisuus kohoaa selvästi. Fazio ym. totesivat kuljetuksen (100, 200 ja 300km) kohottavan plasman kortisolipitoisuutta merkittävästi tutkimuksessaan oreilla. Samassa tutkimuksessa ei havaittu merkittäviä eroja erirotuisten ja eri-ikäisten hevosten välillä. (Fazio ym. 2008)

Fyysinen rasitus kohottaa ohimenevästi plasman kortisolipitoisuutta. (Gordon ym. 2007, Malinowski ym. 2006, Marc ym. 2000) Tosin Malinowski ym. (2006) totesivat, että kortisolin kohoamista rasituksen jälkeen ei tapahdu vanhoilla tammoilla (27,0 ± 0,2 vuotta). Vanhoja tammoja lukuun ottamatta kortisolipitoisuudet säilyvät perustasoa korkeammalla rasituksen jälkeen noin 40-60 minuutin ajan. (Malinowski ym. 2006) Marc ym. (2000) havaitsivat, että valmentamattomilla hevosilla kortisolipitoisuudet kohoavat rasituksessa korkeammalle kuin valmennetuilla.

## 2.4 Kortisolin vuorokausivaihtelu

Kortisolin vuorokausirytmien päätahtajana toimii nisäkkäillä hypotalamus. Ihmisillä kortisolin erityis lisääntyy aamua kohden ollen korkeimmillaan aikaisin aamulla, laskien hitaasti päivän aikana ja ollen alhaisimmillaan noin keskiyön aikaan. (Hofstra & Weerd 2008) Yhtyneet Laboratoriot Oy:n viitearvot plasman kortisolipitoisuudelle ihmisillä ovat 150-650 nmol/l (aamunäyte) sekä <100 nmol/l (keskiyön näyte).

Kotieläimillä on myös havaittu kortisolipitoisuuden vaihtelua vuorokausirytmien mukaan, mutta vaihtelu ei ole niin selväpiirteistä kuin ihmisillä (Sjaastad ym. 2003). Vuorokauden huippuarvo riippuu eläimen normaalista vuorokausirytmistä; päiväeläimillä kortisolin



huippupitoisuus saavutetaan aikaisin aamulla ja yöeläimillä alkuyöstä. (Irvine & Alexander 1994).

Terveillä hevosilla on todettu kortisolin erityksen vuorokausivaihtelun olevan samankaltaista kuin ihmisillä eli korkein plasmapitoisuus saavutetaan aamulla ja matalin illalla. (Reed ym. 2004, Irvine ja Alexander 1994, Larsson ym. 1979) Kortisolin vuorokausivaihtelu on altis ympäristön vaikutteille. Kun hevoset tuodaan uuteen ympäristöön, kortisolin vuorokausivaihtelu ei ole enää selkeää. (Irvine ja Alexander) Eläinlaboratorio Vetlab Oy tekee kaupallisesti kortisolimäärityksiä hevosten plasmasta. Viitearvoksi he ovat määrittäneet 55-300 nmol/l. Vuorokausivaihtelun lisäksi kortisolipitoisuudessa on havaittavissa myös lyhyemmällä aikavälillä tapahtuvaa pulssittaista erittymistä. (Dickmeis 2009, Lightman ym. 2008)

Ihmisillä on tutkittu kortisolin vuorokausivaihtelua ja havaittu tässä poikkeavuuksia vakavasti masentuneilla henkilöillä (Arborelius ym. 1999, Deuschle ym. 1997). Mekanismia, jolla nämä poikkeavuudet välittyvät, ei vielä täysin tunneta (Peeters ym. 2004). Masennuksen yhteydessä on havaittu muun muassa kohonneita kortisolitasoja (Deuschle ym. 1997, Linkowski 1985), muuttunut, esimerkiksi litistynyt kortisolin vuorokausikäyrä eli vuorokauden matalimman ja korkeimman kortisolipitoisuuden erotuksen pienentyminen (Deuschle ym. 1997) tai epäsäännöllinen kortisolikäyrä (Peeters ym. 2004), vuorokauden matalimman kortisolipitoisuuden (eli ns. nadiiriarvon) kohoaminen (Deuschle 1997) tai sen ilmeneminen normaalia aiemmin (Linkowski ym. 1985). Lisäksi ihmisillä on todistettu altistumisen stressitekijöille kohottavan veren kortisolipitoisuutta (Peeters ym. 2004).

## 2.5 Plasman kortisolipitoisuuteen vaikuttavat patologiset tilat

### 2.5.1 Sekundaarinen hyperadrenokortikismi eli Cushingin tauti

Cushingin tauti on hevosilla samankaltainen sairaus kuin ihmisillä, missä ACTH:ia erittyy ylimäärin aivolisäkkeen pars intermedian toimintahäiriön tai hyperplasian vuoksi. Tämä johtaa sekundaariseen hyperadrenokortikismiin. Pars intermedian toimintahäiriön taustalla voi olla adenooma aivolisäkkeessä. Toisin kuin ihmisillä, adrenokortikaalinen hyperplasia ja hyperkortisolinemia eivät ole hevosella välttämättömiä Cushingin taudissa ja siksi diagnoosia ei voida tehdä vain määrittämällä plasman kortisolipitoisuus. Cushingin taudissa plasman kortisolikonsentraatio voi olla normaalirajoissa, kohonnut tai alentunut vaikka ACTH:n pitoisuus on korkea. Normaalin kortisolien vuorokausivaihtelun on havaittu puuttuvan Cushingin tautia sairastavilta. Cushingin tautia esiintyy iäkkäämmillä (keskimäärin 19-21 vuotiailla) hevosilla. Taudin oireita ovat mm. hirsutismi, huono karvan laatu, haluttomuus, laminiitti, narkolepsia, polyuria, polydipsia, lihasten kuihtuminen, laihtuminen ja lisääntynyt ruokahalu. (Reed ym. 2004)

### 2.5.2 Hyperadrenokortikismi

Sekä iatrogeenista että primaaria (eli lisämunuaisperäistä) hyperadrenokortikismia voi esiintyä hevosilla, mutta nämä ovat sekundaarisista hyperadrenokortikismia (Cushingin tauti) harvinaisempia. Kliiniset oireet ovat samankaltaiset kuin sekundaarisessa hyperadrenokortikismissa, mutta hepatopatiaa on raportoitu vain iatrogeenisessä hyperadrenokortikismissa. (Reed ym. 2004)

### 2.5.3 Hypoadrenokortikismi

Hypoadrenokortikismista kärsivillä hevosilla kortisolipitoisuudet ovat yleensä laskeneet. Myös hypoglykemiaa ja elektrolyyttipätasapainoa voi esiintyä. Hevoset eivät vastaa ACTH-stimulaatiotestiin hypoadrenokortikismissa. Sitä voi esiintyä kriittisen sairauden, kuten ähkyn, enterokoliitin, endotoksemian, sepsiksen tai DIC:n (disseminated intravascular coagulation) yhteydessä lisämunuaisen kuorikerroksen vioittuessa tai atrofioiduessa. Hypoadrenokortikismi on useimmissa raportoiduissa tapauksissa aiheutunut kroonisen glukokortikoidi- tai anabolisen steroidilääkityksen päätyttyä. Hypoadrenokortikismissa tavallisesti vain lisämunuaisen zona fasciculata-kerros on vioittunut tai atrofioidunut. Zona glomerulosa on minimaalisesti affektoitunut. Kliinisiä oireita hypoadrenokortikismissa ovat muun muassa apeus, ruokahaluttomuus, rasituksensietokyvyn aleneminen, laihtuminen, lievät vatsaontelokivut, heikko karvan laatu ja ontuminen. (Reed ym. 2004)

### 2.5.4 Primaariset adrenokortikaaliset tuumorit

Primaariset adrenokortikaaliset tuumorit ovat hyvin harvinaisia hevosilla ja yleensä ne eivät tuota hormoneja. Kirjallisuudessa mainitaan yksi tapaus, jossa toiminnallinen adrenokortikaalinen adenooma aiheutti Cushingin taudin kaltaiset oireet. (Reed ym. 2004)

## 2.6 Puunpureminen eli imppaaminen

Puunpuremisella eli imppaamisella tarkoitetaan tapahtumaa, jossa hevonen tukee yläetuhampaan ruokakupin, vesikupin tai muun kiinteän noin rinnankorkeudella olevan materiaalin reunaa vasten, laittaa kaulansa kaarelle ja vetää itseään taaksepäin päästään samalla

tyypillisesti korahtavan äänen. Tämä ääni muodostuu hevosen vetäessä ilmaa ruokatorveensa. (McBride ja Hemmings 2009, McGreevy ym. 1995b)

Imppaaminen luokitellaan oraaliseksi stereotypiaksi (Mills ym. 2002), jonka on yleisesti kuviteltu vähentävän hevosten kokemaa stressiä (mm. McGreevy ja Nicol 1998) sekä ruokinnan jälkeistä abdominaalista kipua (Clegg ym. 2008). Stereotypiat ovat toistuvia, suhteellisen muuttumattomia käyttäytymiskaavoja, joilla ei ole ilmeistä tehtävää tai tavoitetta (Mason 1991) ja joiden on yleisesti uskottu viittaavan vallitsevaan tai aiemmin ilmenneeseen hyvinvointiongelmaan (Wiepkema ja Koolhaas 1993). Stereotypiat eroavat huomattavasti toisistaan, ja vain osa niistä on ympäristötekijöiden aikaansaannosta. (Mason 1993) Hevosten stereotypioita samoin kuin ihmisten neuroottisia häiriöitä on kuvattu "pakko-oireisina häiriöinä" etiologisen ja käyttäytymisellisen samankaltaisuuden vuoksi (Luescher ym. 1991). Stereotypioita ei esiinny syntymästä lähtien, vaan ne kehittyvät elämän aikana. (Mason 1993) Syytä siihen miksi jotkut hevoset imppaavat ja miten imppaaminen saa alkunsa, ei tiedetä. On epäilty, että hevoset voivat oppia imppaamisen matkimalla imppaavan hevosen käytöstä. Kuitenkin, Albright ym. (2009) totesivat tutkimuksessaan, että vain 1,0% hevosista, jotka oli altistettu imppaavan hevosen läsnäololle, alkoivat harjoittaa imppaamista. Hemmings ym. (2007) esittävät tutkimustulostensa perusteella, että imppaavilla hevosilla olisi muutoksia aivojen tyvitumakkeissa. Tutkimuksessaan he eivät kokonaan sulje pois sitä mahdollisuutta, että imppaamisella olisi myös yhteys epäsopivaan ruokintaan. (Hemmings ym. 2007)

Imppaavia hevosia on koko aikuishevospopulaatiosta noin 4,4-5,5% (Albright ym. 2009, McGreevy ym. 1995a). Imppaamista on todettu esiintyvän enemmän tammoilla ja ruunilla kuin oreilla (Mills ym. 2002). Vuonna 1996 tehdyssä tutkimuksessa, johon osallistui 4061

täysiveristä myyntihevosta, havaittiin yhden tai useamman stereotypian esiintymistä 3%:lla oreista, 6,9%:lla ruunista ja 6,4%:lla tammoista. Stereotyyppiä luokiteltiin tässä tutkimuksessa imppaaminen, kutominen ja karsinakäveleminen. Samassa tutkimuksessa havaittiin yhden stereotypian altistavan toisen stereotypian esiintymiselle yksilön kohdalla. Kaikkiaan hevosista, joilla oli jokin stereotypia, esiintyi 9,1%:lla enemmän kuin yksi stereotypia. Kaikista tähän tutkimukseen osallistuneista 4061 hevosesta esiintyi 5,1%:lla jokin stereotypia. Tosin tähän tutkimukseen osallistuneista hevosista 41,6% oli yksivuotiaita, joilla on todettu alhainen stereotypia-prevalenssi (2% tässä tutkimuksessa), joten hevosten, joilla on jokin stereotypia, osuus oli suhteellisesti pienempi verrattuna todelliseen prevalenssiin koko hevospopulaatiossa. (Mills ym. 2002)

Stereotyyppien on oletettu olevan jollain tasolla perinnöllisiä. Vecchiotti ja Galanti (1986) todistivat tutkimuksessaan tiettyjen täysiverisukujen altistavan stereotypian ilmenemiselle. Albright ym. (2009) havaitsivat tutkimuksessaan imppaamista esiintyvän eniten täysiverisillä. Täysiverisistä 13,3%:lla esiintyi imppaamista. Toiseksi eniten imppaamista esiintyi puoliverisillä (5,5%). Lämminverisillä imppaamista ei esiintynyt ollenkaan. (Albright ym. 2009) Stereotypian ja hevosen värin välillä ei ole havaittu korrelaatiota. Toisin sanoen stereotyyppiä esiintyy kaiken värisillä hevosilla yhtä paljon. (Mills ym. 2002)

Imppaavat hevoset kuluttavat tallissa viettämästä ajastaan keskimäärin 26,5% (10,44-64,7%) imppaamiseen (vähintään yksi imppaamistapahtuma per minuutti). (Bachmann ym. 2003)

## 2.7 Stressin yhteys stereotypioihin

### 2.7.1 Stressin vaikutukset elimistöön

Stressi on termi, jolla on useita määritelmiä. Fysiologisesti stressillä tarkoitetaan usein elimistön ulkopuolisia tekijöitä, jotka muuttavat tai uhkaavat muuttaa elimistön sisäistä ympäristöä. Näitä tekijöitä voivat olla muun muassa kylmyys, pitkittynyt fyysinen rasitus tai fyysinen vamma. Stressi saa aikaan kortisolin erittymisen lisääntymisen. Stressin indusoimana myös katekoliamiinien erityis lisäämunuaisytimestä lisääntyy. Kortisolin lisäksi myös adrenaliini kohottaa veren glukositasoa stressitilanteessa, millä taataan aivojen riittävä energiansaanti. Stressin vaikutuksesta myös muun muassa kilpirauhashormonien sekä prolaktiinin pitoisuudet kohoavat. Yhdessä sympaattisen hermoston lisääntyneen aktiivisuuden kanssa lisäämunuaiskuoren hormonit saavat aikaan stressitilanteessa ruoansulatuksen hidastumisen, elimistön energiavarojen vähenemisen ja verenpaineen kohoamisen. Pitkittynyt stressi lisää sairastumisriskiä. Infektiot, sydän- ja verenkiertoelimistön häiriöt sekä nuoren eläimen hidastunut kasvu voivat olla seurausta kroonisesta stressistä. (Sjaastad 2003)

### 2.7.2 Stressi ja stereotypiat

Kirjallisuudessa on esitetty lukuisia tutkimuksia stressin ja stereotyyppien välisestä yhteydestä. Tulokset ovat kuitenkin osin ristiriitaisia, eikä stressin osuudesta stereotyyppien puhkeamiseen tai sen esiintymiseen ole yhteneväistä mielipidettä. On mahdollista, että hevoset sopeutuvat (adaptoituvat) stereotyyppien harjoittamisen avulla stressiin, joka on alun perin aiheuttanut stereotyyppien kehittymisen. (Pell ja McGreevy 1999) Stereotyyppien, esimerkiksi imppaamisen

harjoittaminen ei kuitenkaan näyttäisi vähentävän yksilön kokemaa senhetkistä stressiä (Schouten ym. 1991) On todettu, että stressiherkillä hevosilla, kuten täysiverisillä, stereotypioita esiintyy muita enemmän. (Lüscher ym. 1998, Bachmann ym. 2003). Kroonisen kontrolloimattoman stressin on todettu vaikuttavan dopamiinireseptoreiden sensitiivisyyteen ja siten altistavan stereotypiakäyttäytymiselle. (Cabib 1993). Millsin ym. (2002) tutkimuksessa havaittiin muita suurempi prevalenssi stereotypioita 2-vuotiailla täysiverisillä (16,4%), mikä tukee edellä mainittua teoriaa kroonisen kontrolloimattoman stressin vaikutuksesta stereotypiakäyttäytymisen puhkeamiselle, sillä 2-vuotiaat täysiveriset käyvät läpi elämän muutosta varsasta laukkaratsuksi ja koulutuksen aiheuttama stressi on huipussaan. (Mills ym. 2002)

Clegg ym. (2008) tutkimuksessaan havaitsivat, että ruokinnoilla oli selkeä vaikutus imppaamisfrekvenssiin. Tutkimuksen aikana hevoset ruokittiin kahdesti päivässä. Havaittiin, että imppaamistiheys lisääntyi ruokinnan jälkeen saavuttaen huippunsa (11,6 ±2,1 kertaa tunnissa) 6-8 tunnin kuluttua ruokinnasta. Tämän jälkeen imppaaminen vähentyi ennen seuraavaa ruokintakertaa minimiinsä (2,6 ±0,9 kertaa tunnissa).

### 2.7.3 Plasman kortisolipitoisuus imppaavilla hevosilla

Clegg ym. julkaisivat vuonna 2008 tutkimuksen, johon oli osallistunut viisi imppaavaa, kuusi kutovaa ja kuusi verrokkia. Kaikki hevoset olivat täysiveriruunia. Tutkimus kesti 16 viikkoa, jonka aikana mm. hevosten käyttäytymistä seurattiin videoimalla hevosia karsinoissaan, hevosten plasman kortisolipitoisuus määritettiin joka toinen aamu, hevosten keskimääräistä syketiheyttä seurattiin ja hevosten painon muuttumista tarkkailtiin säännöllisten punnitusten avulla. Tutkimus suoritettiin

erillisessä tallissa, jonne kokeeseen osallistuneet hevoset muuttivat tutkimuksen ajaksi. Hevosten hoito ja ruokinta oli kaikilla yksilöillä samanlaista. Mielenkiintoista tässä tutkimuksessa oli, että plasman kortisolipitoisuudessa ei löydetty eroavaisuuksia imppaavien ja kontrollihevosten välillä. Tosin kortisolipitoisuus määritettiin vain kerran kahdessa päivässä. (Clegg ym. 2008)

Samankaltaisia tuloksia saivat aikaan Bachmann ym. (2003) seuratessaan plasman kortisolipitoisuuksia kolmena peräkkäisenä aamuna yhdellätoista imppaavalla ja yhdellätoista verrokkihevosella. Tässä tutkimuksessa hevoset olivat rodultaan puoliverisiä, täysiverisiä ja sveitsin freiberginhevosiä. Imppaavien hevosten kortisolitasot olivat keskimäärin 69,0-87,2 nmol/l, kun taas verrokkien vastaavat arvot olivat 62,8-65,6 nmol/l. Vaikka ryhmien välillä olikin pientä eroa kortisolipitoisuuksissa, erot eivät kuitenkaan olleet merkittäviä. Mielenkiintoista tässä tutkimuksessa kuitenkin oli se, että samaan aikaan eri päivinä mitatut kortisolipitoisuudet eivät olleet yhteneväiset. Päivien välillä oli jopa 18,2 nmol/l eroavaisuus keskimääräisessä plasmakortisolipitoisuudessa samaan kellonaikaan otetuissa näytteissä. (Bachmann ym. 2003)

Pell ja McGreevy (1999) eivät löytäneet eroavaisuuksia imppaavien ja verrokkihevosten kortisolipitoisuuksien välillä tutkimuksessaan 1-6-vuotiailla täysiverisillä. Pellin ja McGreevyn tutkimuksessa otettiin vain yhdet verinäytteet kortisolin määrittämiseksi 24 imppaavalta ja 24 verrokkihevoselta. Kaikki näytteet otettiin aamupäivällä klo 08 ja 11.30 välillä.

McGreevy ja Nicol (1998) saivat tutkimuksessaan eron imppaavien ja verrokkien kortisolipitoisuuden välille. Plasman kortisolipitoisuus oli imppaavilla keskimäärin  $142 \pm 13$  nmol/l ja verrokeilla  $96 \pm 16$  nmol/l.



### 3 AINEISTO JA MENETELMÄT

#### 3.1 Tutkimuksen lähtökohdat

Tutkimus suoritettiin kahdessa osuudessa tammi-maaliskuussa 2008. Siihen valittiin perusterveitä hevosia ja poneja kahdelta eri tallialueelta pääkaupunkiseudulla. Tutkimukseen valittiin sekä imppaavia että verrokkeihevosia. Hevoset olivat harrastus-, ratsastuskoulu- tai kilpahevosia. Kaikki hevoset olivat ratsuja. Rodultaan tutkimukseen valitut hevoset olivat suurimmalta osalta puoliverisiä. Mukana olivat myös kaksi eestinhevosta sekä yksi täysiverinen. Ikäjakaumaltaan hevoset olivat 5-20 vuotta vanhoja. Tutkimukseen osallistuneet hevoset ja ponit olivat yksityisten henkilöiden tai yritysten omistuksessa. Tutkimukseen osallistui 12 ruunaa ja 6 tammaa, joista 10 ruunan sekä 6 tamman tulokset otettiin huomioon lopputuloksissa (Taulukko 1). Yhden verrokkeihevosien näytteenotto ei onnistunut ilman avustajaa, joten tämän hevosen ja sen parin arvot jätettiin huomioimatta lopullisissa tuloksissa.

Tutkimuksen aikana hevoset viettivät mahdollisimman normaalia elämää oman rutiininsa mukaan. Hevoset olivat kokeen aikana tarhassa ja niillä ratsastettiin normaalisti. Ratsastuskouluhevoset työskentelivät normaalisti tunneilla. Tutkimuksen hevosille mahdollisesti aiheuttama stressi pyrittiin minimoimaan ja tämän vuoksi hevosten normaalia päivärytmiä ei muutettu. Tutkimuksen aikana hevosilla ei saanut olla lääkityksiä. Tammat eivät saaneet olla tutkimuksen aikana kiimassa.

### 3.2 Tutkimukseen osallistuneet hevoset

Ensimmäiseen osuuteen (osa 1) valikoitui yhteensä 12 hevosta, joista kuusi imppasi säännöllisesti. Imppaavien hevosten lisäksi tutkimukseen valittiin samalta tallilta kuusi sukupuoleltaan, iältään ja käytöltään mahdollisimman samankaltaista verrokkia. Näin muodostettiin parit, joiden kortisolipitoisuudet ovat vertailukelpoisia keskenään. Yhden parin arvoja ei valitettavasti voitu käyttää lopputuloksissa, kuten edellä jo mainittiin. Osa 1:n hevoset sijaitsivat kolmessa eri tallirakennuksessa, mutta samalla tallialueella. Jälkimmäiseen osuuteen (osa 2) osallistui kuusi hevosta, joista kolme imppasi. Nämä hevoset sijaitsivat kahdessa eri tallirakennuksessa, mutta samalla tallialueella.

Taulukko 1. Tuloksissa huomioidut hevoset lajiteltuna ikänsä ja sukupuolensa mukaan. Suluissa on imppaavien hevosten osuus ko. ikä- ja sukupuoliryhmästä.

Ikä	5-6-v.	7-8-v.	9-11-v.	12-14-v	15-18-v.	18-20-v.	Yht.
Tamma		2(1)	1	2(1)	1(1)		6(3)
Ruuna	2(1)		2(1)		5(3)	1	10(5)

### 3.3 Tutkimuksen kulku

Tutkimukseen osallistuneet hevoset kanyloitiin paikallispuudutuksessa kaulalaskimoon tutkimuksen alkua edeltävänä iltana, jotta kanyloinnin aiheuttama mahdollinen stressi ei vaikuttaisi ensimmäisiin kortisolipitoisuuksiin. Kaksi hevosta tosin jouduttiin kanyloimaan

uudelleen kanyylin irrottua kokeen jo alettua. Tutkimuksessa käytettiin Mila 14G:n kanyyliä sekä letkullista kolmitiehanaa. Verinäytteet otettiin kanyylin kautta. Verinäytteen otto tehtiin jokaisella kerralla samalla tavalla. Ensin kanyylistä otettiin 5 ml muoviruiskullinen verta, joka heitettiin pois. Tämän jälkeen kanyylistä otettiin verta 10ml muoviruiskuun, josta veri injisoitiin 9ml edta-putkeen. Putkea käänneltiin rauhallisesti noin kymmenen kertaa, jonka jälkeen putki laitettiin seisomaan viileään styroksiseen kuljetusastiaan. Verinäytteenoton jälkeen kanyyleihin ruiskutettiin n. 3 ml heparinisoitua natriumkloridia estämään kanyyliä tukkeutumasta. Kun kaikista hevosista oli otettu näytteet, edta-putket fuugattiin 15-20 minuutin ajan plasman erottamiseksi. Tämän jälkeen plasma erotettiin, pipetoitiin Eppendorf-putkiin ja pakastettiin -20 °C:een. Verinäytteen otosta plasman pakastamiseen kului keskimäärin aikaa 1,5 tuntia. Plasma säilytettiin pakastettuna kortisolin määrittämiseen asti. Kanyyli poistettiin hevosilta viimeisen verinäytteenoton jälkeen.

### 3.4 Tutkimus käytännössä

Osa 1:ssä verinäytteiden otto aloitettiin tutkimuspäivän aamuna kello 7.48. Viimeinen verinäyte otettiin seuraavana aamuna kello 8.30. Osa 2:ssa verinäytteiden otto aloitettiin tutkimuspäivän aamuna kello 7.54. Viimeinen näyte otettiin seuraavana aamuna kello 7.53. Verinäytteet pyrittiin ottamaan tasatunnein kahden tunnin välein 24 tunnin ajan. Yhteensä otettiin kultakin hevoselta kolmetoista verinäytettä kortisolin määrittystä varten. Koska yksi henkilö otti verinäytteet, ei kaikista hevosista saatu näytteitä samanaikaisesti, vaan näytteidenottoon kului kerrallaan osa 1:ssä keskimäärin 40 minuuttia (vaihteluväli 30-59 minuuttia) ja osa 2:ssa keskimäärin 18 minuuttia (vaihteluväli 12-26 minuuttia). Verinäytteidenottoon kuluu aikaa lisäksi se, että hevoset sijaitsivat eri tallirakennuksissa (osa 1; 3 tallia ja osa 2; 2 tallia). Osa

2:ssa hevosmäärä oli pienempi, joten näytteidenottoakin sujui nopeammin. Yöaikana näytteidenotto sujui päiväaikaan verrattuna nopeammin, kun hevoset olivat karsinoissaan. Päivällä näytteidenottoon kulunutta aikaa lisäsi se, että osa hevosista oli ratsastustunneilla, osa tarhassa ja osa karsinassa. Kahden tunnin väliajasta näytteidenoton välillä pyrittiin kuitenkin pitämään kiinni ja näytteet otettiin siksi myös hevosten ollessa tarhassa tai ratsastuksessa. Hevosten kokema stressi verinäytteenoton yhteydessä pyrittiin minimoimaan. Verinäytteet otettiin mahdollisimman ripeästi samalla tavalla koko kokeen läpi yhden henkilön toimesta. Yhden verinäytteen ottoon kului keskimäärin noin yksi minuutti. Yhden verrokkihevosen kohdalla näytteenotto ei onnistunut ilman avustajaa. Tämän hevosen kohdalla päädyttiin jättämään näytteenotto väliin yön aikana, jolloin avustajaa ei ollut saatavilla. Näin ollen neljä kortisoliarvoa jäi määrittämättä. Lopputuloksissa tämän hevosen sekä sen verrokkiparin kaikki kortisoliarvot on jätetty huomioimatta, koska näytteitä ei saatu kattavasti eikä avustajan mahdollista vaikutusta tuloksiin voida varmuudella sulkea pois.

### 3.5. Kortisolin määrittäminen plasmasta

Kortisolin määrittäminen plasmasta tehtiin käyttäen kaupallista Orion Diagnostica Oy:n SPECTRIA Cortisol RIA (radioimmunoassay) testiä, joka on kehitetty humaanikäyttöön kortisolipitoisuuden määrittämiseen seerumista, plasmasta, virtsasta ja syljestä. Testi toimii niin, että tietty määrä merkittyä kortisolia kilpailee näytteen merkkeämättömän kortisolin kanssa rajoitetuista vasta-aineen sitoutumispaikoista. Tämän jälkeen sitoutumaton kortisoli huuhdellaan pois ja merkätyn kortisolin määrä mitataan. Tämä on käänteisesti verrannollinen näytteessä olleen kortisolin määrään. Näytteessä olleen kortisolin konsentraatio saadaan luettua kalibraatiokäyrästä.

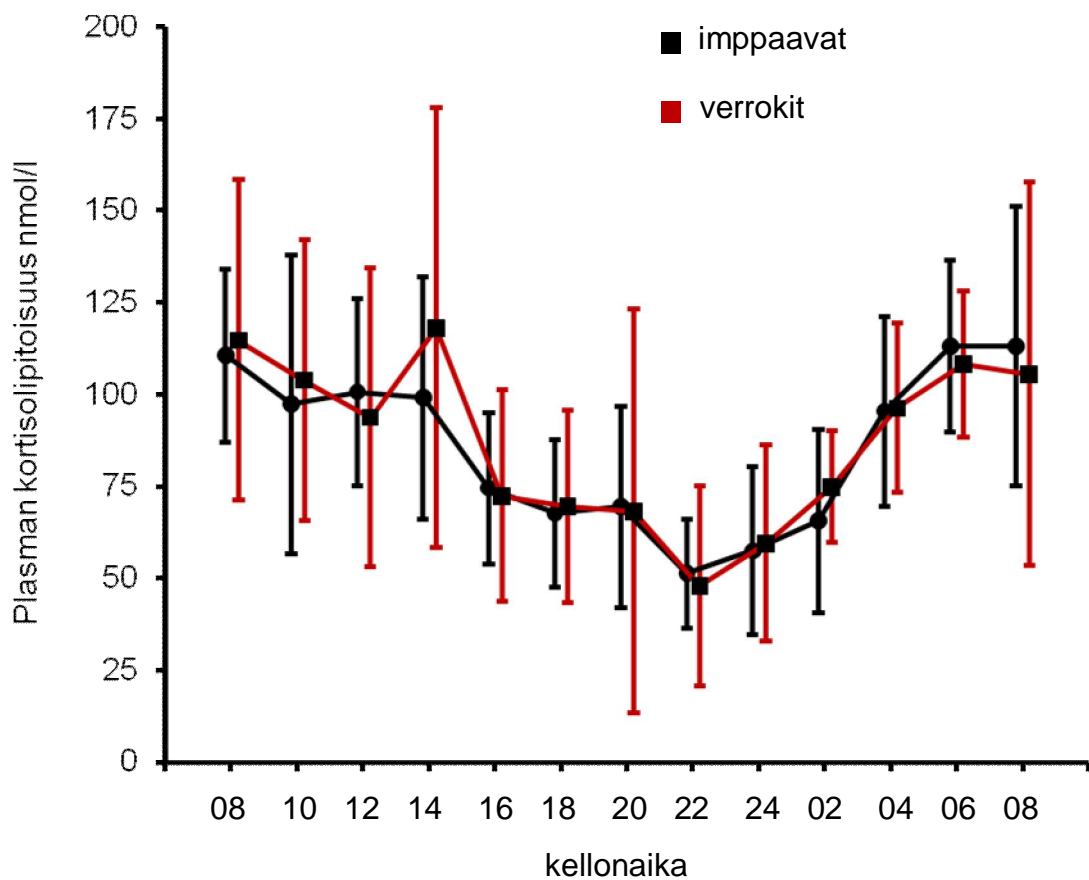
### 3.6 Tuloksien tilastollinen käsittely

Imppaavien ja verrokkien kortisoliarvoille laskettiin pienimpien ja suurimpien arvojen sekä vuorokauden suurimman ja pienimmän arvon erotuksien keskiarvot sekä näille keskihajonnat. Tuloksia verrattiin T-testillä.

## 4 TULOKSET

Hevosten kortisolipitoisuudet vaihtelivat tutkimuksen aikana välillä 22-238 nmol/l. Keskimääräinen vuorokausivaihtelu (korkeimman ja matalimman arvon erotus) kortisolipitoisuudessa yksittäisen hevosen kohdalla oli 96 nmol/l (vaihteluväli 51-160 nmol/l). Imppaajien kohdalla keskimääräinen vuorokausivaihtelu kortisolipitoisuudessa oli 93 nmol/l. Verrokeilla keskimääräinen vuorokausivaihtelu oli 99 nmol/l. Sekä suurin (160 nmol/l), että pienin (51 nmol/l) kortisolipitoisuuden vuorokausivaihtelu yksittäisen hevosen kohdalla löytyivät verrokkiryhmästä. Keskimääräinen plasman kortisolipitoisuus oli imppaavilla 86 nmol/l ja verrokeilla 87 nmol/l. Plasman kortisolipitoisuuden vuorokausivaihtelu ilmeni kuvan 3 osoittamalla tavalla.

Matalimmat kortisoliarvot sijoittuivat kaikilla hevosilla klo 14 ja klo 02 välille. Keskimäärin matalin arvo saavutettiin molemmissa ryhmissä illalla klo 22. Vuorokauden korkein plasman kortisolipitoisuus saavutettiin kaikilla hevosilla klo 04 ja klo 14 välillä. Keskimäärin korkein kortisolipitoisuus saavutettiin aamulla klo 9.



Kuva 3. Plasman kortisolipitoisuuden keskiarvojen vuorokausivaihtelu sekä keskihajonnat imppaavilla ja verrokeilla.

## 5 POHDINTA

Plasman kortisolipitoisuutta on tutkittu imppaavilla hevosilla aiemminkin (muun muassa Clegg ym. 2008, Bachmann ym. 2003, Pell ja McGreevy 1999, McGreevy ja Nicol 1998), eikä eroavaisuuksia imppaavien ja verrokkien välillä kortisolin erityksessä McGreevyn ja Nicolin (1998) tutkimusta lukuunottamatta ole havaittu. Tutkimuksemme erosi edellä mainituista tutkimuksista siinä, että plasman kortisolipitoisuutta seurattiin vuorokauden ympäri, eikä vain aamupäivällä kuten edellä mainituissa tutkimuksissa. Samalla

pystyimme muodostamaan kuvan hevosen plasman kortisolipitoisuuden normaalista vuorokausivaihtelusta. Tutkimukseemme osallistuneiden hevosten rotu- ja ikäjakauma oli monipuolisempi kuin Cleggin ym. 2008 ja Pell ja McGreevyn 1999 tutkimuksessa. Imppaavien ja verrokkihevosten välillä ei kuitenkaan havaittu eroavaisuuksia plasman kortisolipitoisuudessa ja sen vuorokausivaihtelussa. Tutkimustuloksemme tukee näin ollen aiempia tutkimustuloksia (Clegg ym. 2008, Bachmann ym. 2003, Pell ja McGreevy 1999). Tutkimustuloksista saatu hevosten kortisolin vuorokausikäyrä vastaa aiemmissä tutkimuksissa (mm. Sjaastad ym. 2003, Irvine ja Alexander 1994, Larsson ym. 1979) tehtyjä havaintoja.

Tutkimuksessamme kortisolin korkein plasmakonsentraatio yksittäisten hevosten kohdalla saavutettiin klo 04 ja 14 välillä. Keskimäärin korkein kortisolin plasmakonsentraatio saavutettiin klo 9. Irvine ja Alexander (1994) havaitsivat kortisolin korkeimman plasmakonsentraation esiintyvän klo 06 ja 09 välillä treenaamattomilla kotitarhassaan ulkoilevilla tammoilla. Larssonin ym. tutkimuksessa vuonna 1979 korkein plasmapitoisuus kortisolin osalta havaittiin klo 06. Sekä Irvinen ja Alexanderin että Larssonin tutkimuksessa otoskoko oli pienempi kuin meidän tutkimuksessamme. Siksi on selvää, että tutkimuksessamme kortisolin plasmapitoisuuden vaihtelussa on enemmän hajontaa. Tutkimuksessamme saatu kaikkien hevosten keskimääräinen korkein plasman kortisolikonsentraatio oli 138 nmol/l ja matalin pitoisuus 42 nmol/l. Larssonin ym. tutkimuksessa (1979) vastaavat arvot olivat 179 nmol (65 ng/ml) ja 55 nmol/l (20 ng/ml). Arvot ovat samansuuntaiset, vaikka kortisolipitoisuudet ovatkin hieman suuremmat Larssonin ym. tutkimuksessa. Tämä ero johtuu todennäköisesti laboratoriomenetelmien eroavaisuudesta tai pienestä otoskoosta.

Suurin ero imppaavien ja verrokkihevosten välisessä kortisolipitoisuuksien keskiarvossa oli klo 14, jolloin imppaavien kortisolin keskiarvo oli 99 nmol/l ja verrokkihevosten 118 nmol/l. Ero ei ole kuitenkaan merkittävä. 19 nmol/l suuruinen ero on voinut muodostua kahden verrokkihevosen korkeasta kortisolipitoisuudesta (161 ja 238 nmol/l). Pienessä aineistomäärässä (yhteensä 16 hevosta) yksittäisten hevosten arvot vaikuttavat suhteellisesti enemmän tuloksiin kuin suuressa aineistomäärässä. Ilman näitä kahta yksittäistä korkeaa arvoa verrokkihevosten kortisolipitoisuuden keskiarvo olisi klo 14 91 nmol/l. Vaihteluväli klo 14 näytteissä oli imppaajilla 63-156 nmol/l kun taas verrokeilla keskihajonta oli selvästi suurempi eli 52-238 nmol/l. Tekijöitä, jotka ovat voineet sekoittaa kortisolin normaalia vuorokausivaihtelua, kuten fyysinen rasitus, ei pystytty tässä tutkimuksessa täysin yhdenmukaistamaan, sillä hevoset olivat tutkimuksen ajan omistajiensa käytettävissä ratsastus- ja harrastustoimintaan. Esimerkiksi fyysinen rasitus on voinut aiheuttaa yksittäisten hevosten kohdalla kortisolin vuorokausikäyrässä piikkejä, joita ei ole muiden hevosten kohdalla havaittavissa.

Muita mahdollisia tekijöitä, jotka ovat voineet saada aikaan poikkeavia kortisolipitoisuuksia ja joita ei tutkimuksessa pystytty täysin sulkemaan pois, ovat hevosten kokema yksilöllinen näytteenottostressi sekä mahdolliset piilevät sairaudet. Tutkimukseen osallistui hevosia kaikkiaan viidestä eri tallirakennuksesta. Tästä johtuva ruokinnan ja tarhauksen eriaikaisuus on voinut aiheuttaa yksilöiden välille poikkeavia kortisolin pitoisuuksia. Koska hevoset viettivät tutkimuksen ajan mahdollisimman normaalia elämää omissa talleissaan, on muuttuvien stressitekijöiden, kuten tallin vaihtumisen aiheuttama stressi, minimoitu. Sitä, olisiko tulokset mahdollisesti erilaisia, mikäli hevosten tarhaus, liikunta ja ruokinta olisi pystytty suorittamaan samaan kellonaikaan kaikilla tutkimukseen osallistuneilla hevosilla, on mahdotonta arvailla. Olosuhteiden yhtenäistämiseen ei kuitenkaan



ollut mahdollisuutta, sillä tutkimuksen aiheuttama vaiva hevosten omistajille haluttiin pitää kohtuullisena.

Impaavat hevoset valittiin tutkimukseen melko väljin kriteerein. Valituksi tulemiseen riitti se, että hevonen oli omistajansa mukaan impannut vähintään vuoden ajan. Kirjallisuudessa on todettu, että hevosen imppaamiseen käyttämä aika tallissa vietetystä kokonaisajasta vaihtelee 10,44-64,7%:n välillä (Bachmann ym. 2003). Olisi ollut mielenkiintoista huomioida tutkimuksessa imppamistiheyden mahdollista vaikutusta plasman kortisolipitoisuuteen. Tämä olisi kuitenkin vaatinut erikoisjärjestelyinä hevosten ympärivuorokautisen videovalvonnan, jonka avulla imppaamista olisi voitu linkittää määritettyihin kortisolipitoisuuksiin.

Matalin kortisoliarvo saavutettiin sekä imppaavilla että verrokeilla klo 22. Irvine ja Alexanderin tutkimuksessa plasman matalin kortisolipitoisuus saavutettiin klo 18 ja 21 välillä eli hieman meidän tutkimustamme aiemmin. Tämä ero voi johtua tutkimukseen osallistuneiden hevosten erilaisesta päivärytmistä näiden kahden tutkimuksen välillä.

Bachmannin ym. tutkimuksessa vuonna 2003 havaittiin eroavaisuutta keskimääräisessä kortisolipitoisuudessa eri vuorokausina, mutta samaan kellonaikaan otetuissa näytteissä. Tämän vuoksi olisikin ollut mielenkiintoista jatkaa kortisolipitoisuuksien määrittämistä vielä toisen vuorokauden ajan. Bachmannin ym. (2003) tekemä havainto voi johtua sisäisen "tahdistimen" vuorokausirytmistä, joka eroaa normaalista 24 tunnin vuorokausirytmistä (Dickmeis 2009).

Kahden tunnin väli näytteidenotossa oli onnistunut valinta. Kaikilla hevosilla oli nähtävissä selkeä vuorokausivaihtelu kortisolipitoisuudessa. Kaksi tuntia on, kortisolin puoliintumisaika

(n.60min) huomioiden, todennäköisesti riittävän lyhyt väli pulssittaisen kortisolierityksen havaitsemiseksi. Windle ym. (1998) mukaan kortisolia vapauttavia pulsseja esiintyy rotilla noin kerran tunnissa. Koska hevosilla pulsittaista kortisolin eritystä ei ole tutkittu, ei voida sanoa onko pulssittainen erityys mahdollisesti samankaltaista kuin rotilla. Kahta tuntia lyhyempi näytteidenottoväli olisi saattanut lisätä näytteenotosta hevosille aiheutuvaa stressiä huomattavasti, jolloin tulokset olisivat vääristyneet. Pidempi näytteidenottoväli, kuten Cleggin ym. (2008), Bachmannin ym. (2003) sekä Pellin ja McGreevyn (1999) tutkimuksissa ei olisi antanut riittävän kattavaa kuvaa kortisolin vuorokausivaihtelusta, johon tässä tutkimuksessa haluttiin kiinnittää huomiota.

Tutkimuksessamme havaittujen plasman kortisolipitoisuuksien perusteella stressillä ei näyttäisi olevan yhteyttä imppaamisen harjoittamiseen. Stereotypian puhkeamiseen ja siihen mahdollisesti liittyvään stressiin ei tutkimustulostemme perusteella voida ottaa kantaa. Tämä vaatisi pidempiaikaista seurantatutkimusta.

## 6 KIRJALLISUUSLUETTELO:

### Artikkelit

Albright JD, Mohammed HO, Heleski CR, Wickens CL, Houpt KA. Cribbiting in US horses: Breed predispositions and owner perceptions of aetiology. 2009, Equine Veterinary Journal, 41

Arborelius L, Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. 1999, Journal of Endocrinology 160, 1-12

Bachmann I, Bernasconi P, Herrmann R, Weishaupt MA, Stauffacher M. Behavioural and physiological responses to an acute stressor in cribbiting and control horses. 2003, *Applied Animal Behaviour Science*, 82, 297-311

Clegg HA, Buckley P, Friend MA, McGreevy PD. The ethological and physiological characteristics of cribbing and weaving horses. *Applied Animal Behaviour Science* 2008, Vol. 109, 1:68-76

Deuschle M, Schweiger U, Weber B, Gotthardt U, Korner A, Schmider J, Standhardt H, Lammers CH, Heuser I. Diurnal activity and pulsatility of the hypothalamus-pituitary-adrenal system in male depressed patients and healthy controls. 1997, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82 (1), 234-238

Dickmeis T. Glucocorticoids and the circadian clock, review. 2009, *Journal of Endocrinology* 200, 3–22

Fazio E, Medica P, Aronica V, Grazzo L, Ferlazzo A. Circulating  $\beta$ -endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels of stallions before and after short road transport: stress effect of different distances. 2008, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50:6

Fazio E, Medica P, Grasso L, Messineo C, Ferlazzo A. Changes of circulating  $\beta$ -endorphin, adrenocorticotrophin and cortisol concentrations during growth and rearing in Thoroughbred foals. 2009, *Livestock Science*

Gordon ME, McKeever KH, Betros CL, Manso Filho HC. Exercise-induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin and cortisol in horses. *Veterinary Journal* 2007, Vol. 173, 3:532-540

Hellhammer J, Fries E, Schweisthal OW, Schlotz W, Stone AA, Hagemann D. Several daily measurements are necessary to reliably assess the cortisol rise after awakening: State- and trait components. 2007, *Psychoneuroendocrinology* 32, 80-86

Hemmings A, McBride SD, Hale CE. Perseverative responding and the aetiology of equine oral stereotypy. 2007, *Applied Animal Behaviour Science* 104, 143-150

Hofstra WA, de Weerd AW. How to assess circadian rhythm in humans: A review of literature. 2008, *Epilepsy & Behavior*

Irvine CHG, Alexander SL. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. 1994, *Domestic Animal Endocrinology* 11 (2), 227-238

Larsson M, Edqvist L-E, Ekman L, Persson S. Plasma cortisol in the horse, diurnal rhythm and effects of exogenous ACTH. 1979, *Acta Veterinaria Scandinavica* 20, 16-24

Lightman SL, Wiles CC, Atkinson HC, Henley DE, Russell GM, Leendertz JA, McKenna MA, Spiga F, Wood SA, Conway-Campbell BL. The significance of glucocorticoid pulsatility. 2008, *European Journal of Pharmacology* 583, 255-262

Linkowski P, Mendlewicz J, Leclercq R, Bresseur M, Hubain P, Golstein J, Copinschi G, van Cauter E. The 24-Hour Profile of Adrenocorticotropin and Cortisol in Major Depressive Illness. 1985, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 61, 3, 429-438

Luescher UA, McKeown DB, Halip J. Reviewing the causes of obsessive-compulsive disorders in horses. 1991, *Veterinary Medicine* (May) 527-530

Malinowski K, Shock EJ, Rochelle P, Kearns CF, Guirnalda PD, McKeever KH. Plasma  $\beta$ -endorphin, cortisol and immune responses to acute exercise are altered by age and exercise training in horses. 2006, *Equine vet J. Suppl.* 36, 267-273

Marc M, Parvizi N, Ellendorff F, Kallweit E, Elsaesser F. Plasma cortisol and ACTH concentrations in the warmblood horse in response to a standardized treadmill exercise test as physiological markers for evaluation of training status. 2000, *Journal of Animal Science* 78, 1936-1946

Mason GJ. Stereotypies: a critical review. 1991, *Animal Behaviour* 41, 1015-1037

McBride S, Hemmings A. *A Neurologic Perspective of Equine Stereotypy.* 2009

McGreevy P, Cripps P, French N, Green L, Nicol C. Management factors associated with stereotypic and redirected behavior in the Thoroughbred horse. 1995a, *Equine Veterinary Journal* 27, 86-91

McGreevy P, Nicol C. Physiological and Behavioral Consequences Associated With Short-Term Prevention of Crib-Biting in Horses. 1998, *Physiology & Behavior* Vol. 65, 1, 15-23

McGreevy P, Richardson J, Nicol C, Lane J. A radiographic and endoscopic study of horses performing an oral stereotypy. 1995b, *Equine Veterinary Journal* 27, 92-95

Mills DS, Alston RD, Rogers V, Longford NT. Factors associated with the prevalence of stereotypic behavior amongst Thoroughbred horses passing through auctioneer sales. 2002, *Applied Animal Behaviour Science* 78, 115-124

Peeters F, Nicolson NA, Berkhof J. Levels and variability of daily life cortisol secretion in major depression. 2004, *Psychiatry Research* 126, 1-13

Pell SM, McGreevy PD. A study of cortisol and beta-endorphin levels in stereotypic and normal Thoroughbreds. 1999, *Applied Animal Behaviour Science*, 81-90

Schouten W, Rushen J, De Pasillè AMB. Stereotypic behavior and heart rate in pigs. 1991, *Physiology & Behavior* 50 (3), 617-624

Vecchiotti GG, Galanti R. Evidence of heredity of cribbing, weaving and stall-walking in thoroughbred horses. 1986, *Livestock Production Science* 14, 91-95

Wiepkema PR, Koolhaas JM. Stress and animal welfare. 1993, *Animal Welfare* 2, 195-218

Windle RJ, Wood SA, Shanks N, Lightman SL, Ingram CD. Ultradian Rhythm of Basal Corticosterone Release in the Female Rat: Dynamic Interaction with the Response to Acute Stress. 1998, *Endocrinology*, 139, 443-450

## Kirjat

Cabib S. Neurobiological basis of stereotypies. 1993, kirjassa Stereotypic Animal Behaviour, Fundamentals and applications to welfare, toim. Lawrence AB, Rushen J, 119-145

Lääketieteen termit. 2002, Kustannus Oy Duodecim, 319-320

Mason GJ. Forms of Stereotypic Behaviour. 1993, kirjassa Stereotypic Animal Behaviour, Fundamentals and applications to welfare, toim. Lawrence AB, Rushen J, 7-40

McKeever KH, Gordon ME. Endocrine alterations in the equine athlete. 2004, kirjassa Equine Sports Medicine and Surgery: Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete, toim. Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, 793-814

Pharmaca Fennica Veterinaria 2009, Lääketietokeskus Oy, 55, 60, 248-250, 541-542, 564, 708-709

Reed SM, Bayly WM, Sellon DC. Equine Internal Medicine. 2004, Saunders, 1327-1337, 1357-1360

Sjaastad Ø, Hove K, Sand O. Physiology of Domestic Animals. 2003, Gummerus, 144, 221-224, 227

Cunningham JG, Klein BG. Textbook of Veterinary Physiology, 2007, Saunders 436-442

## Internetjulkaisut

Eläinlaboratorio Vetlabin viitearvot hevoen plasman kortisolipitoisuudesta

<kortisolille[http://www.vetlab.fi/SIRA\\_Files/downloads/Viitearvot\\_he.pdf](http://www.vetlab.fi/SIRA_Files/downloads/Viitearvot_he.pdf)>, haettu 19.4.2009

Eviran luettelo tuotantoeläimille hyväksytyistä lääkeaineista 21.01.2009

<[http://www.evira.fi/attachments/elaimet\\_ja\\_terveys/laakeluettelot/tuotantoelaimet\\_vaik.pdf](http://www.evira.fi/attachments/elaimet_ja_terveys/laakeluettelot/tuotantoelaimet_vaik.pdf)>, haettu 18.4.2009

Kortisolin rakennekaava <[fi.wikipedia.org/wiki/kortisoli](http://fi.wikipedia.org/wiki/kortisoli)>, haettu 11.4.2009

Läkelaitoksen haku hydrokortisonivalmisteista <<http://namweb.nam.fi/namweb/do/haku/view>>, haettu 18.4.2009

Yhtyneet Laboratoriot Oy; kortisolin viitearvot ihmisillä <<http://www.yhtyneetlaboratoriot.fi/kasikirja/tutkimukset.asp?id=10252&char=k>>, haettu 19.4.2009