



---

# Nuorten sinikettunaaraiden tuotantokauden aikaisen ruokinnan vaikutus hormonaaliseen tasapainoon

---

## Loppuraportti

Juhani Sepponen<sup>1</sup>, Hannu T. Korhonen<sup>1</sup>, Heli Lindeberg<sup>1</sup>, Nita Koskinen<sup>1</sup> ja  
Anne-Helene Tauson<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus MTT, Kotieläintuotannon tutkimus  
<sup>2</sup>Faculty of Life Sciences, Kööpenhaminan Yliopisto, Tanska

## Tiivistelmä

Elimistön energiatasapainolla on vaikutusta lisääntymistoimintoihin ja lisääntymistulokseen. Aineenvaihdunnan muutokset vaikuttavat lisääntymishormoneihin. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tarkastella siniketun elimistön tärkeimpiä sääteleviä hormoneita ja niiden vaikutusta lisääntymistulokseen. Samoin seurattiin useita aineenvaihduntaa sääteleviä metaboliitteja, jotka voivat selittää eläimen aineenvaihdunnallista tilaa. Tutkimuksessa pyrittiin kytkemään eläimen ruokintahistoria ja siten kunto eläimen lisääntymistulokseen ja edelleen pentujen eloonjäämiseen. Tutkimuksessa oli yhteensä 228 nuorta sinikettunaarasta, jotka jaettiin kolmeen ryhmään energiansaannin osalta (76 nuorta sinikettunaarasta per ryhmä). Kolme sisarusta jaettiin eri ryhmiin kokeen alussa. Ryhmä 1: ”Voimakas laihdutus” Rajoittamaton ruokinta syyskuun alusta marraskuun loppuun asti, tavoitteena erittäin lihavat eläimet. Voimakas laihdutus ennen siitoskautta, tavoitteena ihanteellinen siitosajan paino. Ryhmä 2: ”Kunnon ylläpitäminen” Ruokinnan rajoitus 35- 45 % ryhmän 1. ruokinnasta loka-marraskuun loppuun asti. Kunnon ja painon ylläpito tammikuuhun asti. Luontainen laihtuminen ihanteelliseen siitosajan painoon. Ryhmä 3: ”Nouseva kunto” Ruokinnan rajoitus 50-60 % marraskuun loppuun asti, tavoitteena laihat eläimet. Eläimillä nouseva kunto tammikuulle mentäessä, tavoitteena ihanteellinen siitosajan paino. Verinäytteet otettiin syksyn aikana kerran kuukaudessa, viimeinen verinäytteenotto vrk ennen kuin ruokinta eriytettiin marras-joulukuun vaihteessa ja sen jälkeen 1, 2, 3 ja 7 vrk laihdutuksen alkamisesta. Siitä eteenpäin näytteitä otettiin joka toinen viikko, kunnes eläimet keinosiemennettiin. Verinäytteet otettiin myös siemennyshetkellä. Siemennetyiltä naarailta verinäytteet otettiin tiineysviikolla 3, 5 ja 7. Maidontuotannon aikana verinäytteet otettiin, kun pennut ovat 2 ja 4 viikon vanhoja sekä vieroitushetkellä. Tulokset olivat seuraavat: Ureapitoisuuksissa oli nähtävissä selvää vuodenaikaista vaihtelua. Pitoisuudet olivat alhaisimmat talvikaudella. Ryhmien ruokintakäsittelyllä oli vaikutusta ryhmien välisiin eroihin syyskaudella ( $P=0.095$ ) ja talvikaudella ( $P<0.0001$ ). Ryhmällä 1 voimakas paasto alensi eniten ureapitoisuuksia talvikauden alussa. Ryhmällä 3 voimakkain ruokinnan rajoitus syyskaudella näkyi ureapitoisuuksissa. Kreatiiniarvot olivat korkeimmillaan alku- ja keskikesästä kaikilla ryhmillä. Ryhmien välillä ei ollut mitään merkitsevää eroa kreatiiniarvoissa ( $P=NS$ ). Oli kuitenkin havaittavissa, että ryhmän 1 arvot yleensä olivat jossain määrin matalammat kuin muilla ryhmillä. Glukoosipitoisuus vaihteli jonkin verran vuodenaikojen välillä (jaksot  $P<0.001$ ). Voimakas ruokinnan rajoitus vuodenvaihteessa kohotti ryhmän 1 glukoosipitoisuuksia. Koko aineistossa ei ryhmien välillä ollut tilastollista eroa glukoosipitoisuudessa ( $P=NS$ ). Syyskaudella voimakas ruokinta (ryhmä 1) selvästi kohotti insuliinieritystä ( $P<0.01$ ). Vuodenvaihteen paasto pudotti ryhmän 1 insuliinitasot normaaleiksi ( $P<0.05$ ). Ryhmien 2 ja 3 välillä ei ollut eroa insuliinitasoissa. Prolaktiinitasot olivat samalla tasolla kaikissa koeryhmissä keinosiemennykseen asti. Tiineyskaudella prolaktiinitasot kohosivat samalla lailla kaikissa ryhmissä ( $P<0.001$ ), mutta penikoimisen jälkeen ryhmän 1 tasot olivat matalampia ( $P<0.05$ ). Leptiiniipitoisuus oli kaikilla ryhmillä korkeimmillaan vuodenvaihteessa ja laski kesää kohden. Kasvuhormonissa ei ollut tilastollista eroa koeryhmien välillä ( $P=NS$ ). Hormonitasot olivat korkeimmillaan alkusyksystä kiihkeimmän kasvun aikaan ja laskivat sitten vakiotasolle ( $P<0.001$ ). IGF-1 -tasot olivat korkeimmillaan alkusyksystä ( $P<0.001$ ). Ne tasaantuivat vuodenvaihteessa, mutta alenivat jälleen tiineysajan edetessä ( $P<0.001$ ). Koeryhmien välillä ei ollut eroa ( $P=NS$ ). Triglyseridi (TG) -pitoisuuksissa oli selvä ero ryhmien välillä. Kasvukaudella alhaisimmat pitoisuudet olivat ryhmällä 3, jota rajoitettiin kaikkein voimakkaimmin ( $P<0.01$ ). Korkein pitoisuus taas oli vapaalla ruokinnalla (ryhmä 1). Alkuvuodesta alkanut paasto laski ryhmän 1 TG-tasoa ( $P<0.0001$ , yhdysvaikutus). NEFA-pitoisuudet olivat korkeimmat vapaalla ruokinnalla ja alhaisimmat rajoitetuimmalla ruokinnalla. Vuodenaikaisvaihtelut olivat vähäisiä. Yhteenvetona voidaan todeta, että tuotantokauden aikaisen ruokinnan vaikutus hormonaaliseen tasapainoon oli odotetun mukainen. Tulokset vaikuttavat pääosin loogisilta ja normaaleilta. Ruokinnan tasolla ja paastolla on selvää vaikutusta kettujen hormonaaliseen tasapainoon.

## Avainsanat:

Sinikettu, painonkehitys, pentutulos, hormonaalinen säätely, ruokintataso

---

# Sisällysluettelo

---

1 Johdanto.....	1
1.1 Tutkimuksen tausta .....	1
1.2 Tutkimuksen tavoitteet.....	3
1.3 Aikaisemmin raportoidut tulokset.....	4
2 Aineisto ja menetelmät .....	5
2.1 Eläimet ja ruokinta .....	5
2.2 Näytteenotto .....	7
2.3 Analyysit .....	8
2.4 Tilastolliset analyysit.....	8
3 Tulokset.....	9
3.1 Eläinten painonkehitys ja kuntoluokat .....	9
3.2 Lisäntymistulos.....	10
3.3 Urea.....	11
3.4 Kreatiniini .....	12
3.5 Glukoosi .....	12
3.6 Insuliini .....	13
3.7 Prolaktiini.....	13
3.8 Leptiini .....	14
3.9 Kasvuhormoni .....	14
3.10 IGF-1 .....	15
3.11 Triglyseridit.....	15
3.12 Vapaat rasvahapot (NEFA, non-esterified fatty acids).....	16
4 Pohdinta.....	17
5 Kirjallisuus .....	22

---

# 1 Johdanto

---

## 1.1 Tutkimuksen tausta

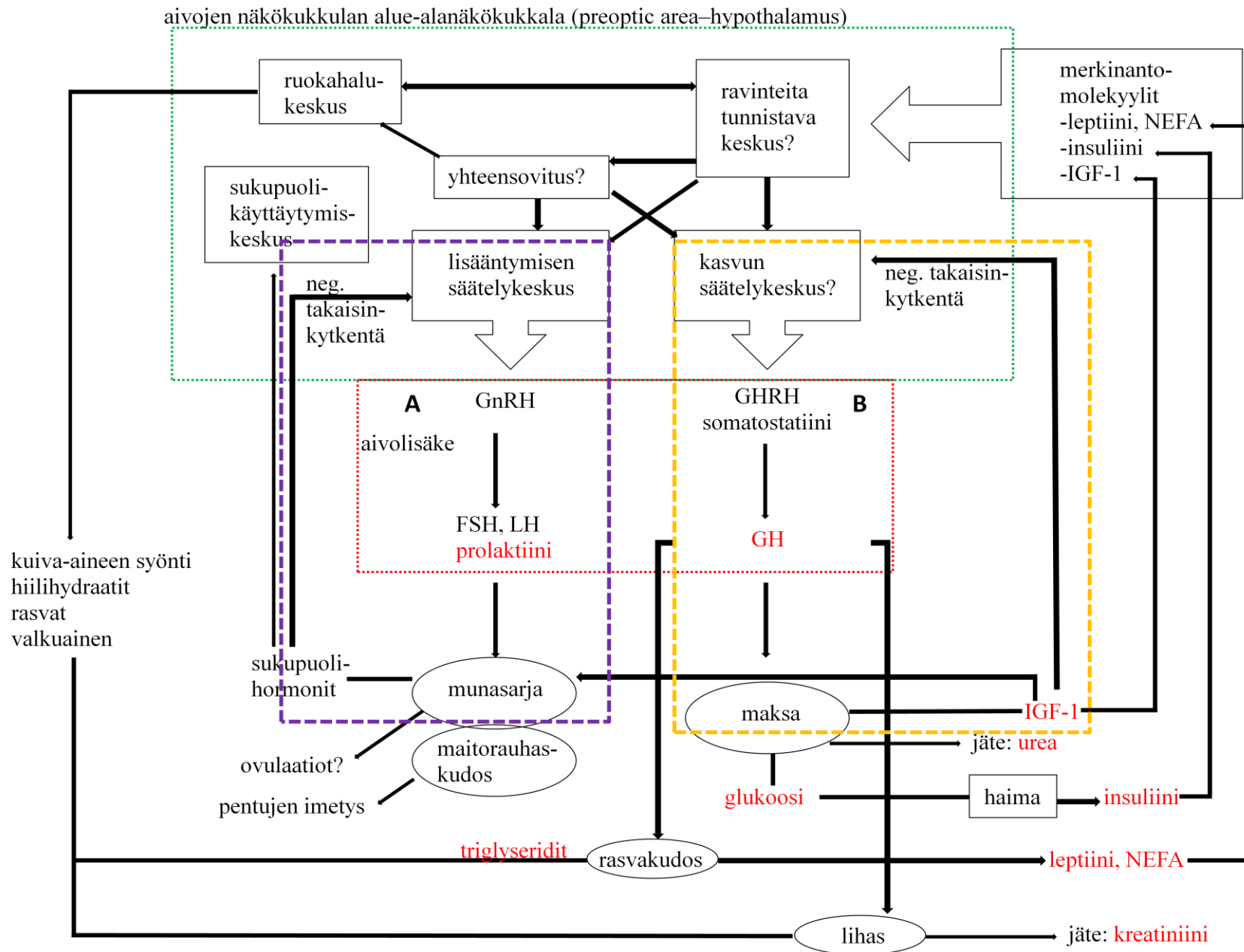
Tämä tutkimus liittyy osana laajempaan kokonaisuuteen ”Siniketun energia-aineenvaihdunnan määrittäminen” ja on jatkoa kahdelle edelliselle tutkimukselle: Siniketun energia-aineenvaihdunnan määrittäminen (2007-2008) sekä Tuotanto- ja siitoskauden ruokinnan vaikutus siniketun rasva-aineenvaihduntaan sekä siitoskuntoon (2008-2009).

Useilla eläinlajeilla on osoitettu, että eläimen kunnolla ja ravitsemuksellisella tilalla on merkittävä vaikutus lisääntymistulokseen. Energian saanti, ruumiin kunto ja lisääntymistoiminnot ovat vahvasti kytköksissä toisiinsa (Blache et al., 2003). Hyvän lisääntymiskapasiteetin ylläpitäminen vaatii tasapainoa energiansaannin ja kulutuksen välillä. Jos energiaa ei ole riittävästi saatavilla, olemassa olevat elimistön energiareservit ohjataan elintärkeisiin toimintoihin (Wade et al., 1996). Äärimmäisissä tapauksissa negatiivinen energiatase eli laihdutus johtaa lisääntymistoimintojen lakkautumiseen.

Aineenvaihdunnan ylläpidon ja lisääntymistehokkuuden väliset yhteydet tarkoittavat monitasoisia umpierityksellisten ja aineenvaihdunnallisten ärsykkeiden yhteyksiä aineenvaihdunnan ja lisääntymisen hallitsemiseksi (Roche 2006). Näiden reaktioiden on väistämättä pidettävä sisällään merkinantomolekyylejä ja hormoneja, jotka ovat olennainen osa säätelyjärjestelmää. Merkinantomolekyylejä valmistetaan useissa elimissä, jotka osallistuvat ravinteiden käsittelyyn, varastointiin tai käyttöön sekä elimissä, jotka osallistuvat lisääntymistapahtumaan. Lisäksi varmistaakseen energian ja valkuaisaineiden osituksen täsmällisen säätelyn jokainen tietty merkinantomolekyyli on todennäköisesti vuorovaikutuksessa toisen merkinantomolekyylin/toisten merkinantomolekyylin kanssa.

On todennäköistä, että edellä mainittuja säätely- ja yhteistoimintoja sisältävät pääjärjestelmät ovat aivoissa sijoittuneet joko näkökukkulan-alanäkökukkulan (preoptic area-hypotalamus) alueelle tai lähelle gonadotrooppisten hormonien vapauttajahormonia (GnRH) erittäviä hermosoluja. Aivojen näkökukkula-alanäkökukkulassa (kuvan 1 (mukaeltu Chagas ym. 2007) vihreällä suorakaiteella rajattu alue) yhdentyvät ruokahalu, kiimakäyttäytyminen ja ravinteiden tunnistaminen ja alueella tuotetaan vapauttajahormoneja, jotka säätelevät gonadotropiinihormonien (sukurauhasiin vaikuttavia) ja somatotropiinihormonin (kasvuun vaikuttavaa) erittymistä aivolisäkkeestä.

Gonadotrooppinen järjestelmä on lisääntymisen avainohjaaja, kun taas somatotrooppinen järjestelmä on maidontuotannon, rasvojen hajotuksen ja kudosten ylläpidon avainohjaaja. Alanäkökukkulan (hypotalamus) säätelyalueelle tulevilla syötöillä eli ärsykkeillä saattaa olla poikkeava vaikutus gonadotrooppiselle ja somatotrooppiselle polulle siten, että ärsyke, joka johtaa somatotrooppisella polulla kasvuhormonin erittymiseen saattaa gonadotrooppisella polulla olla yhteydessä gonadotropiineja vapauttavan hormonin eli GnRH:n erittymisen estymiseen (Zieba ym. 2005).



Kuva 1. Lisääntymisakselia ohjaava palautesäätelyjärjestelmä (violetti katkoviiva-alue A) ja kasvua ohjaava palautesäätelyjärjestelmä (keltainen katkoviiva-alue B) ovat vuorovaikutuksessa monella tasolla ja yhdistävät näin ruokinnalliset ja aineenvaihdunnalliset syötöt lisääntymistapahtumaan.

Hormonaaliset polut, jotka lähettävät merkkejä/ärsykeitä ääreiskudoksista aivoihin ja ne hermopeptidergiset polut, jotka aivoissa yhdistävät ääreiskudoksista tuleville hormoneille herkäät hermosolut GnRH-hermosolujen kanssa ovat tällä hetkellä tutkimuksen pääkohteita, mutta edelleen huonosti ymmärrettyjä. Kuitenkin järjestelmät, jotka yhdistävät lisääntymisen ravinnon sisäänottoon ja aineenvaihduntaan, ovat ensiarvoisen tärkeitä yhtenäisen järjestelmän ymmärtämiseksi. Insuliini-, IGF-1- ja mahdollisesti leptiinihormonijärjestelmien tärkeys on vahvasti tunnustettu ja toistaiseksi tuotantoeläinpuolella parhaiten tutkittu lypsykarjalla (Chagas ym. 2007).

Aivolisäkkeen etulohkon vapauttama kasvuhormoni (kuvan 1 somatotrooppinen polku, violetti katkoviiva-alue B) vapauttaa maksasta, lihaksista ja rasvakudoksesta aineenvaihduntatuotteita kuten sokeria ja NEFA:a ja sen lisäksi kasvuhormoni tehostaa useiden hormonien ja aineenvaihduntatuotteiden vapauttamista maksasta, haimasta ja suolesta kuten IGF-1:n, insuliinin ja leptiinin, jotka puolestaan syötetään takaisin aivojen keskuksiin säätelemään ruokahalua ja lisääntymistä kuten myös suoraan vaikuttamaan maitorauhaskudokseen ja lisääntymiselimiin yhdessä aivolisäkkeen etulohkon erittämien FSH:n, LH:n ja prolaktiinin kanssa (kuvan 1 gonadotrooppinen polku, keltainen katkoviiva-alue A).

Aikaisemmin on osoitettu, että syyskauden lihavilla ja sitten laihdutetuilla minkkinaarilla on huonompi pentutulos kuin minkkinaarilla, jotka ovat olleet tuotantokauden aikana normaalikuntoisia (Tauson & Aldén, 1984). Useissa tutkimuksissa on osoitettu, että elimistön energiatasapainolla on vaikutusta lisääntymistoimintoihin ja lisääntymisiän pituuteen (Tauson, 1985; Tauson & Aldén, 1985). Aineenvaihdunnan muutokset vaikuttavat nopeasti ja selvästi lisääntymishormoneihin (Tauson et al., 2000, 2002; Tauson & Forsberg, 1992).

Suomessa sinikettujen huononeva lisääntymistulos yhdistetään syksyn korkeaan painoon ja siten rankkaan laihdutukseen. Uusien tulosten mukaan (Koskinen et al., 2008)) sinikettuun pätee sama kuin minkkiin: siitoseläinten lihottamista ja sitten voimakasta laihduttamista on vältettävä. Siniketun huonoa tiinehtyvyyttä, keskenmenoja, pentujen huonoa eloonjääntiä ja siten alhaista pentutulosta ja niiden yhteyttä alhaiseen energian- ja ravintoaineiden saantiin ei tosin ole vielä täysin selvitetty. Usein nuorilla sinikettunaarilla havaitaan korkeaa pentujen kuolleisuutta penikoinnin jälkeen. Ei tiedetä, onko syynä emän heikko ravitsemuksellinen tila ja/tai maidontuotannon ongelmat. Molemmilla seikoilla on todennäköisesti vaikutusta eläimen hormonaaliseen tasapainoon.

## 1.2 Tutkimuksen tavoitteet

Tutkimuksen tavoitteena oli tarkastella siniketun elimistön tärkeimpiä sääteleviä hormoneita ja niiden vaikutusta lisääntymistulokseen. Samoin seurattiin useita aineenvaihduntaa sääteleviä metaboliitteja, jotka voivat selittää eläimen aineenvaihdunnallista tilaa. Pyrittiin kytkemään eläimen ruokintahistoria ja siten kunto eläimen lisääntymistulokseen ja edelleen pentujen eloonjäämiseen.

### **1.3 Aikaisemmin raportoidut tulokset**

Lisäntymistulokset on raportoitu aikaisemmin Riikka Tupelin Pro Gradu –työssä ”*Nuorten sinikettunaaraiden tuotantokauden aikaisen ruokinnan, painonkehityksen ja kuntoluokan vaikutus lisääntymistulokseen*” (Tupeli, 2011).

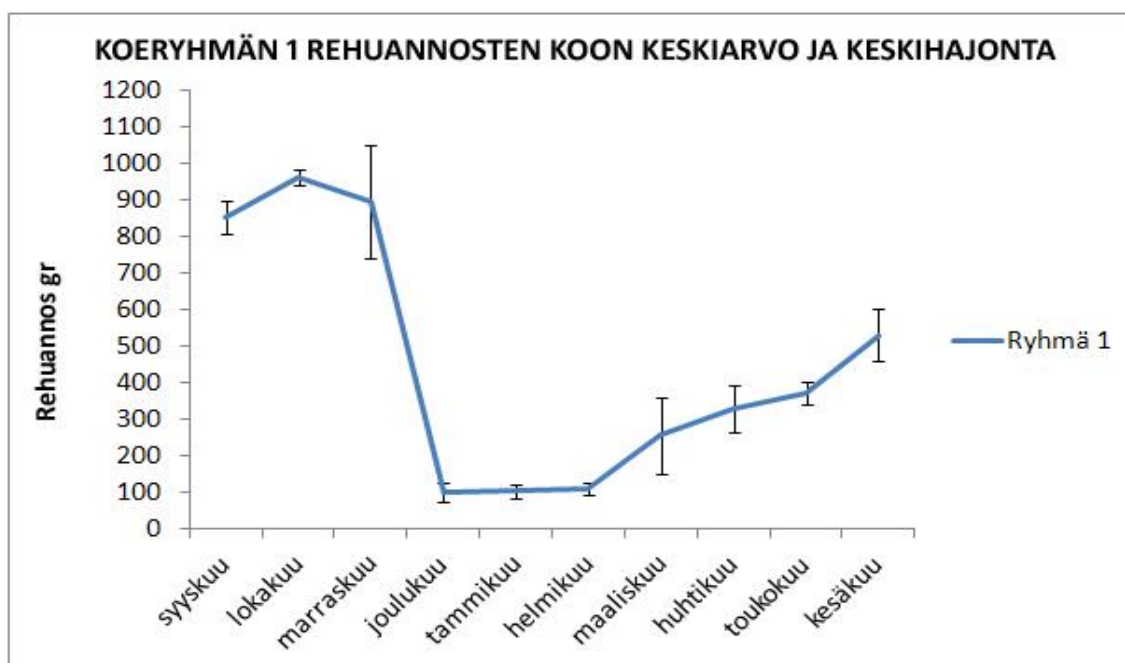
Tässä raportissa esitetään lyhyesti koeryhmien ruokinnan periaatteet kohdassa 2.1 kuvien avulla. Keskeisimmät asiat painonkehityksestä ja lisääntymistuloksesta esitetään kohdissa 3.1 ja 3.2. Kuvat perustuvat alkuperäiseen 228 sinikettunaaraan aineistoon.

## 2 Aineisto ja menetelmät

### 2.1 Eläimet ja ruokinta

Tutkimuksessa oli yhteensä 228 nuorta sinikettunaarasta, jotka jaettiin kolmeen ryhmään energiansaannin osalta (76 nuorta sinikettunaarasta per ryhmä). Kolme sisarusta jaettiin eri ryhmiin kokeen alussa. Verinäytteet otettiin kerrallaan 24 eläimeltä eli kahdeksalta eläimeltä jokaisesta ryhmästä (taulukko 1).

*Ryhmä 1* ”Voimakas laihdutus” Rajoittamaton ruokinta syyskuun alusta marraskuun loppuun asti, tavoitteena erittäin lihavat eläimet. Voimakas laihdutus ennen siitoskautta, tavoitteena ihanteellinen siitosajan paino (kuva 2).



**Kuva 2.** Koeryhmän 1 rehuannosten kuukausittainen keskiarvo ja ryhmän päivittäisen rehuannoksen keskiarvon keskihajonta kyseessä olevan kuukauden sisällä kokeen koko seuranta-ajalta (Tupeli 2011).

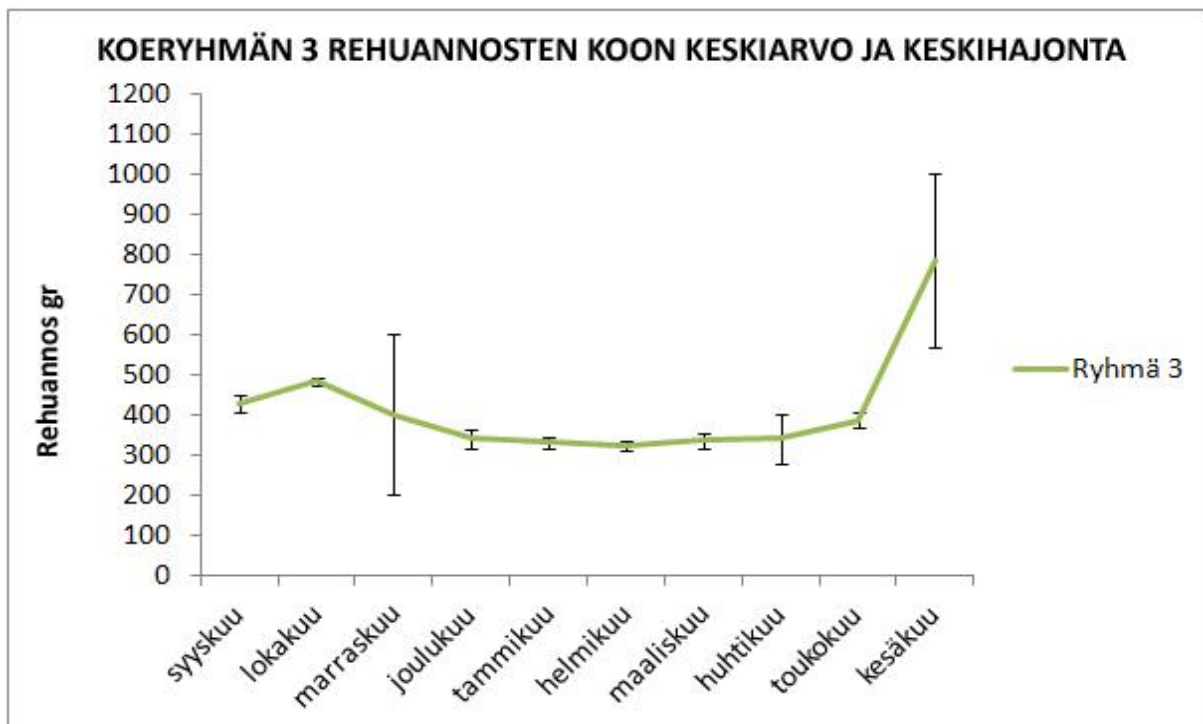
*Ryhmä 2.* ”Kunnon ylläpitäminen” Ruokinnan rajoitus 35- 45 % ryhmän 1. ruokinnasta lokamarraskuun loppuun asti. Kunnon ja painon ylläpito tammikuuhun asti. Luontainen laihtuminen ihanteelliseen siitosajan painoon. Ryhmän ruokinta ja paino seuraa aikaisemman Tanskassa (Koskinen et al., 2009) suoritettujen kokeiden ryhmän 3 painoja (kuva 3).





**Kuva 3.** Koeryhmän 2 rehuannosten kuukausittainen keskiarvo ja ryhmän päivittäisen rehuannoksen keskiarvon keskihajonta kyseessä olevan kuukauden sisällä kokeen koko seuranta-ajalta (Tupeli 2011).

*Ryhmä 3.* ”Nouseva kunto” Ruokinnan rajoitus 50-60 % marraskuun loppuun asti, tavoitteena laihat eläimet. Eläimillä on nouseva kunto tammikuulle mentäessä, tavoitteena ihanteellinen siitosajan paino (kuva 4).



**Kuva 4.** Koeryhmän 2 rehuannosten kuukausittainen keskiarvo ja ryhmän päivittäisen rehuannoksen keskiarvon keskihajonta kyseessä olevan kuukauden sisällä kokeen koko seuranta-ajalta (Tupeli 2011).

## 2.2 Näytteenotto

Verinäytteet otettiin syksyn aikana kerran kuukaudessa, viimeinen verinäytteenotto vrk ennen kuin ruokinta eriytettiin marras-joulukuun vaihteessa ja sen jälkeen 1, 2, 3 ja 7 vrk laihdutuksen alkamisesta. Verinäytteitä otettiin joka toinen viikko, kunnes eläimet siemennettiin. Verinäytteet otettiin myös siemennyshetkellä. Tuolloin suurin osa eläimistä jouduttiin vaihtamaan, koska kokeessa jatkavien eläinten siemennysajankohdan haluttiin osuvan kahden päivän sisälle (13.-14.4.). Siemennetyiltä naarailta verinäytteet otettiin tiineysviikolla 3, 5 ja 7. Maidontuotannon aikana verinäytteet otettiin, kun pennut olivat 2 ja 4 viikon vanhoja sekä vieroitushetkellä. Jos verinäyteohjelmassa oleva naaras ei penikoinut tai hävitti pentunsa, otettiin näytteet toiselta naaraalta, jolla oli pennut (taulukko 1). Verinäytteiden ottoa varten naaraat nukutettiin Zoletil 100 ja Domitor –yhdistelmällä sekoittamalla 20 ml Zoletil 100 ja 5 ml Domitor keskenään samaan pulloon ja piikittämällä yhdistelmäseosta 0,2 ml/naaras takajalan lihakseen. Naaraita ei ruokittu aamulla ennen verinäytteiden keräämistä. Naaraat oli ruokittu edellisenä aamupäivänä ja mikäli naaras ei silloin ollut syönyt kaikkea samaansa ruokaa vaan syönyt sen myöhemmin päivän aikana, ei näytteenottoa edeltävä paastoaminen välttämättä ollut vuorokauden mittainen. Nukutus, näytteiden keruu ja käsittely alkoivat näytteenottopäivinä noin klo 9 aikoihin ja kestivät 2 - 4 tuntia kullakin näytteenottokerralla. Verinäytteet sentrifugoitiin, plasma erotettiin ja pakastettiin min. – 20 °C lämpötilaan analysointia varten.

**Taulukko 1.** Näytteenottoaikataulu ja näytteiden lukumäärä

Päivämäärä	Näytteiden lukumäärä			
	Ryhmä 1	Ryhmä 2	Ryhmä 3	
6.9.2010	8	8	8	Syyskausi
28.9.2010	8	8	8	
26.10.2010	8	8	8	
7.12.2010	8	8	8	Kaksi eläintä / häkki
9.12.2010	8	8	8	Talvikausi
10.12.2010	8	8	8	
11.12.2010	8	8	8	
15.12.2010	8	8	8	
29.12.2010	8	8	8	
12.1.2011	8	8	8	
26.1.2011	8	8	8	
9.2.2011	8	8	8	
23.2.2011	8	8	8	
9.3.2011	8	8	8	
29.3.2011	8	8	8	
Siemennyshetkellä 13.-14.4.	8	8	8	Tiineyskausi
3. tiineysviikolla 3.5.	8	8	8	
5. tiineysviikolla 17.5.	8	8	8	Uudet eläimet
7. tiineysviikolla 31.5.	8	8	8	
Pennut 2 viikon ikäisiä 21.6.	8	8	8	Penikoimisen jälkeinen aika
Pennut 4 viikon ikäisiä 5.7.	8	8	8	
Vieroitushetkellä 1.8.	8	8	8	
Yhteensä	176	176	176	

Pennut 2 viikon ikäisiä	21.6.	5	1	2	Penikoimattomien ja pentunsa hävittäneiden tilalle otetut eläimet
Pennut 4 viikon ikäisiä	5.7.	5	1	2	
Vieroitushetkellä	1.8.	5	1	2	
		15	3	6	

## 2.3 Analyysit

Plasmanäytteistä (hepariiniputkissa) analysoitiin: insuliini, leptiini, kasvuhormoni, IGF-1 ja prolaktiini. Analysointi tapahtui Länsi Australian yliopistossa Perthissä, yhteistyössä tohtori Dominique Blachen kanssa.

Plasmanäytteistä (EDTA-putkissa) analysoitiin: glukoosi, vapaat rasvahapot (NEFA), triglyseridit, urea ja kreatiniini. Analyysit tehtiin Itä-Suomen yliopistolla Joensuussa.

## 2.4 Tilastolliset analyysit

Näytteenotokertoja oli kaikkiaan 22 kappaletta. Tilastollisia analyysejä varten koko tutkimusjakso jaettiin neljään lyhyempään jaksoon: syyskausi (ryhmällä 1 lihotus), talvikausi (ryhmällä 1 voimakas laihduttaminen), kevätkausi (tiineysaika) ja kesäkausi (penikoimisen jälkeinen aika) (Taulukko 1) ja analyysit tehtiin erikseen kullekin jaksolle. Tulokset analysoitiin SAS-ohjelmiston MIXED-toistomittausmallilla. Tulokset analysoitiin SAS-ohjelmiston MIXED-toistomittausproseduurilla.

Tilastollinen malli oli

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \nu_k + \zeta_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

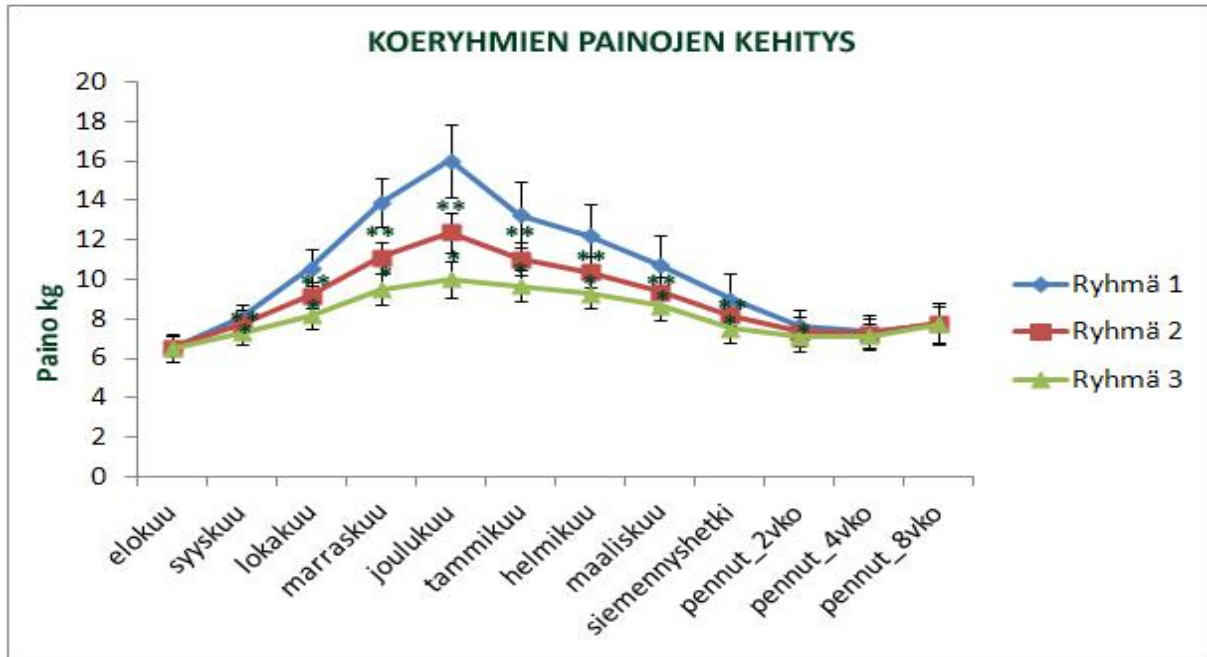
missä  $\mu$  on yleiskeskisarvo,  $\tau_i$  käsittelyn  $i$  vaikutus,  $\nu_k$  ajan  $k$  vaikutus,  $\zeta_{ik}$  käsittely  $x$  aika yhdysvaikutus ja  $\varepsilon_{ijk}$  on jäännösvirhe.

Koska eläimiä kasvatettiin pareittain joulukuun alkuun (8.12.) asti, häkkikeskiarvoja käytettiin syyskauden analyyseissä. Varianssien homogeenisuuden saavuttamiseksi insuliini-, IGF-1-, prolaktiini- ja triglyseridiarvojen tilastoanalyyseissä käytettiin logaritimuunnoksia kaikilla neljällä jaksolla. Logaritimuunnoksia käytettiin talvi- ja kevätkaudella kasvuhormoni- ja glukoosiarvojen laskennassa, urealla lisäksi kesäkauden tulosten laskennassa.

## 3 Tulokset

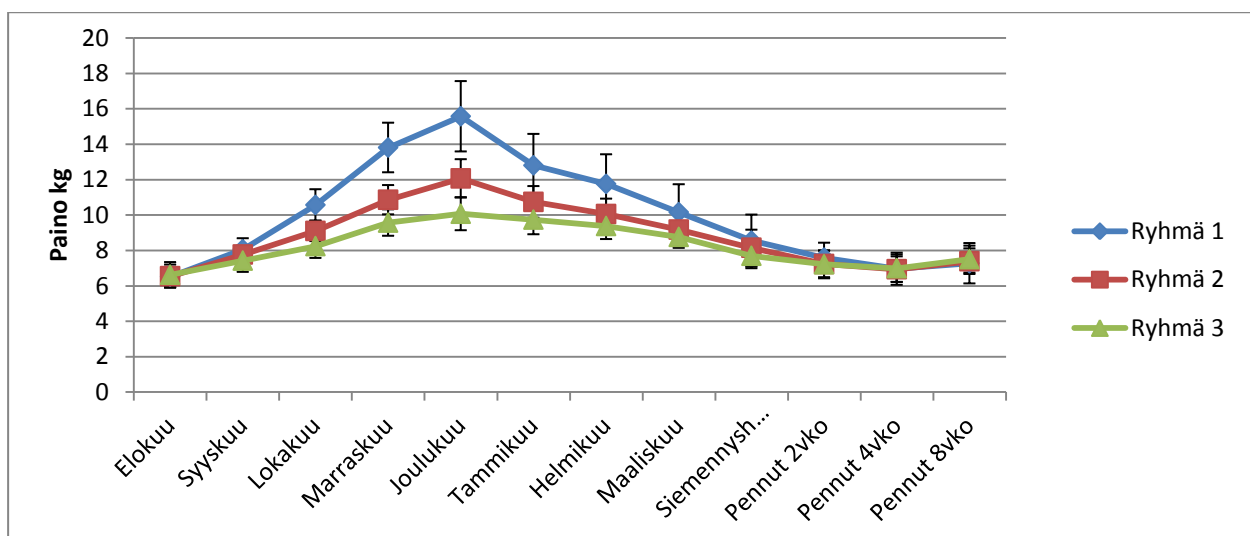
### 3.1 Eläinten painonkehitys ja kuntoluokat

Kuvassa 5 on esitetty lisääntymiskokeessa olleiden naaraiden painonkehitys kokeen aikana.

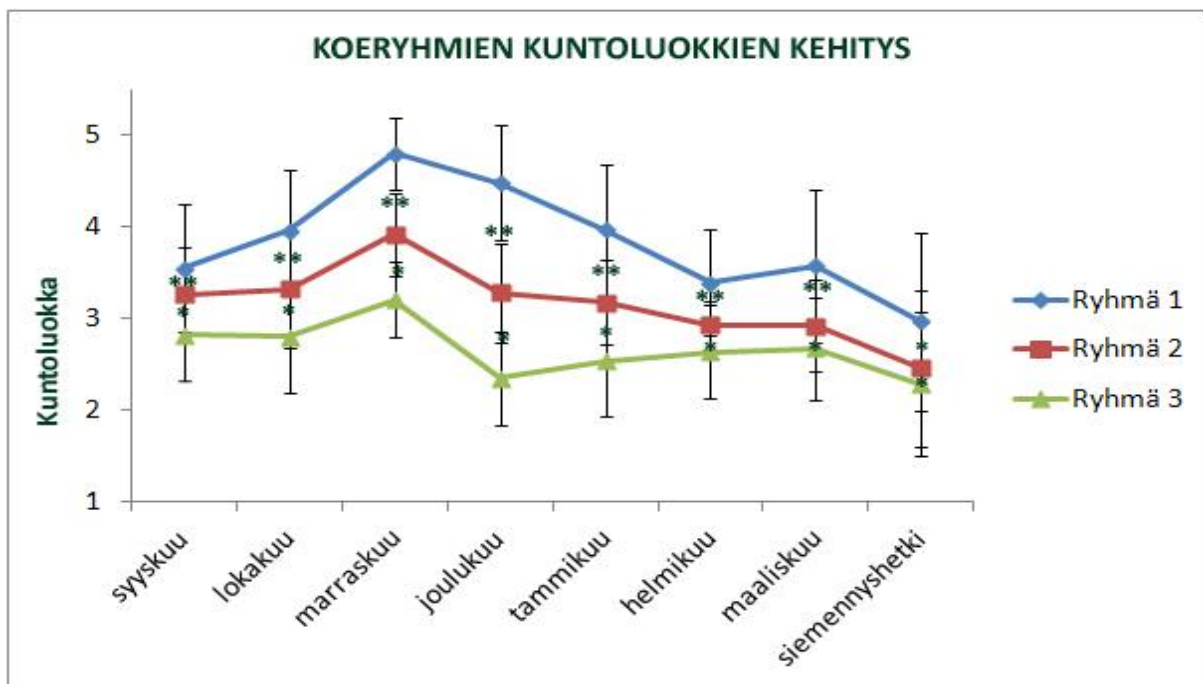


**Kuva 5.** Koeryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa koe-eläinten painoissa elokuussa ( $p > 0.05$  kaikkien ryhmien kohdalla). Syyskuusta siemennyshetkelle kaikkien koeryhmien välillä koe-eläinten painoissa oli tilastollisesti merkitsevää eroa verrattaessa toisiinsa ( $p < 0.05$  kaikkien ryhmien kohdalla). Pentujen ollessa kahden viikon ikäisiä koeryhmien 1 ja 3 välillä koe-eläinten painoissa oli tilastollisesti merkitsevää eroa ( $p < 0.05$ ). Pentujen ollessa neljän ja kahdeksan viikon ikäisiä koeryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa koe-eläinten painoissa ( $p > 0.05$  kaikkien ryhmien kohdalla) (Tupeli 2011).

Kuvassa 6 on esitetty verikokeisiin valittujen eläinten painonkehitys. Se vastasi hyvin lisääntymiskokeessa olleiden eläinten painonkehitystä. Kuvassa 7 on esitetty lisääntymiskokeessa olleiden naaraiden kuntoluokan kehitys kokeen aikana.



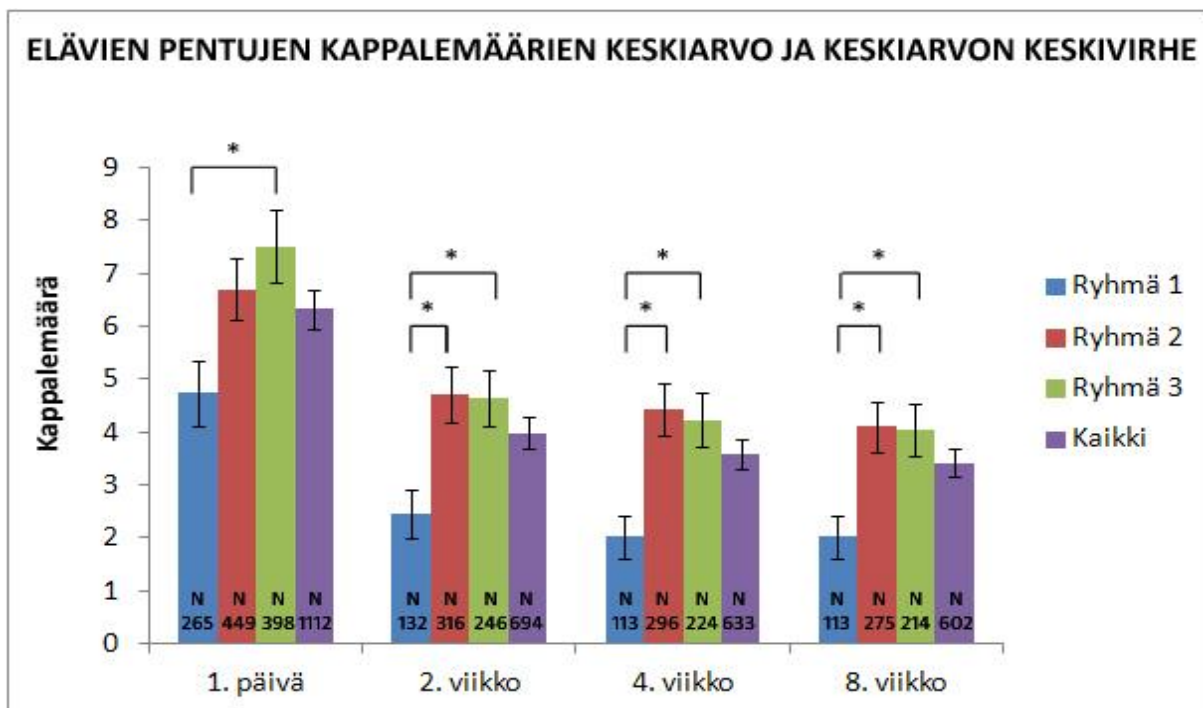
**Kuva 6.** Verikokeisiin valittujen eläinten painonkehitys



**Kuva 7.** Kaikkien koeryhmien välillä oli tilastollisesti merkitsevää eroa koe-eläinten kuntoluokissa syyskuusta maaliskuulle saakka ( $p < 0.05$  kaikkien ryhmien kohdalla). Siemennysaetkellä tehdyssä kuntoluokituksessa koeryhmän 1 ja koeryhmän 2 välillä oli tilastollisesti merkitsevää eroa kuntoluokissa samoin kuin koeryhmän 1 ja koeryhmän 3 välillä ( $p < 0.05$ ) (Tupeli 2011).

### 3.2 Lisääntymistulos

Kuvasta 8 nähdään, että ryhmän 1 lisääntymistulos oli huonompi kuin kahdessa muussa ryhmässä. Tässä aineistossa ovat mukana kaikki 176 siemennettyä naarasta.



**Kuva 8.** Päivän ikäisten pentujen laskennassa elävien pentujen määrissä ryhmän 1 ja ryhmän 3 välillä oli tilastollisesti merkitsevää eroa ( $p < 0.05$ ), mutta muiden ryhmien välillä tilastollisesti merkitsevää eroa ei ollut ( $p > 0.05$ ). Kahden, neljän ja kahdeksan viikon ikäisten pentujen laskennassa elävien pentujen määrässä ryhmän 1 ja ryhmän 2 välillä sekä ryhmän 1 ja ryhmän 3 välillä oli tilastollisesti merkitsevää eroa ( $p < 0.05$ ). Ryhmän 2 ja ryhmän 3 välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ( $p > 0.05$ ) (Tupeli 2011).

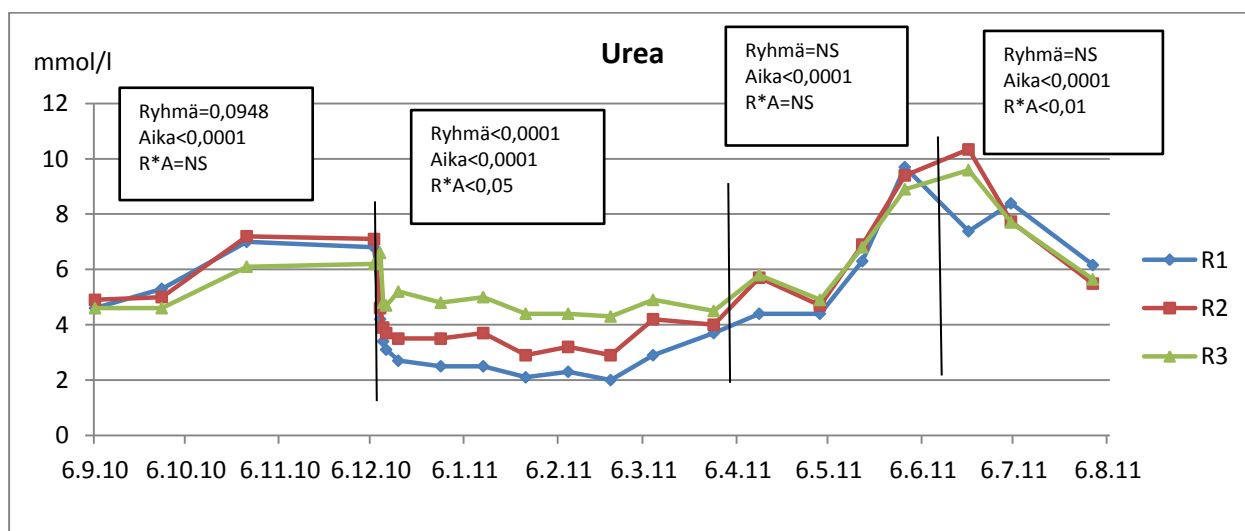
Verikokeisiin valittujen, siemennettyjen eläinten lisääntymistulos vastasi kaikkien siemennettyjen eläinten lisääntymistulosta. Ryhmän 1 pentutulos poikkesi selvästi muiden ryhmien tuloksesta. Selittäväenä tekijänä oli muita suurempi pentukuolleisuus ennen kahden viikon ikää (taulukko 2). Aineiston pienuudesta johtuen tilastollisia eroja pystyttiin osoittamaan vain kahden viikon laskennasta eteenpäin.

**Taulukko 2.** Verikokeisiin valittujen siemennettyjen eläinten lisääntymistulos (keskiarvo±SE). Taulukossa ei ole mukana penikoimattomien emien tilalle otettuja penikoineita naaraita.

	Ryhmä 1	Ryhmä 2	Ryhmä 3
<b>1.päivä yhteensä</b>	5.88±1,93	8.25±1,26	7.13±1,82
<b>1.päivä kuolleita</b>	2.00±0,80	1.00±0,50	0.13±0,13
<b>1.päivä eläviä</b>	3.88±1,25	7.25±1,28	7.00±1,79
<b>2. viikko</b>	0.88±0,58	5.50±1,15	4.38±1,41
<b>4. viikko</b>	0.88±0,58	5.38±1,19	3.50±1,41
<b>8. viikko</b>	0.88±0,58	5.25±1,15	3.38±1,40

### 3.3 Urea

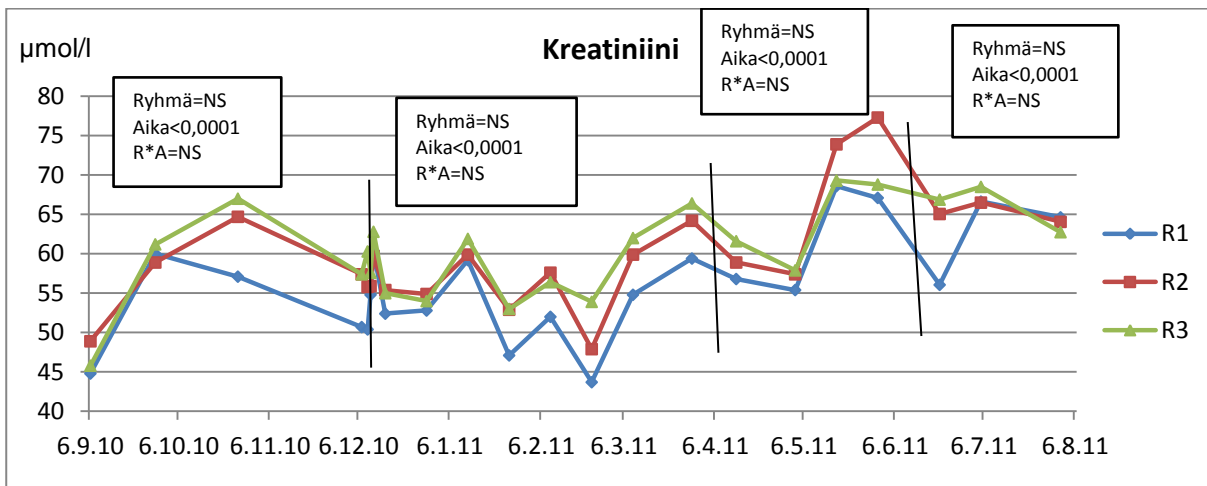
Plasman ureapitoisuuksissa oli nähtävissä selvää vuodenaikaisvaihtelua ja ne noudattivat ruokintamäärien muutoksia. Pitoisuudet olivat alhaisimmat talvikaudella ja tiineysajan alussa. Syyskaudella ureapitoisuus nousi kaikilla ryhmillä joulukuun alkuun mennessä ( $P<0.0001$ ). Ryhmien ruokintakäsittelyllä oli lievää vaikutusta ryhmien välisiin ( $P=0.0948$ ). Ryhmällä 1 voimakas paasto alensi selvästi eniten ureapitoisuuksia heti talvikauden alussa ( $P<0.05$ ). Joulukuun puolivälistä maaliskuun alkuun ureapitoisuudessa oli tilastollinen ero kaikkien ryhmien välillä ( $P<0.0001$ ). Alin arvo oli ryhmällä 1 ja korkein ryhmällä 3. Maaliskuun lopussa eroa ei ollut enää havaittavissa. Tiineyskauden lopulla ureapitoisuus nousi korkeimmalle tasolle kaikilla ryhmillä. Imetyskauden alussa ryhmän 1 ureapitoisuudet olivat muita alemmalla tasolla. Ero hävisi vieroitukseen mennessä (kuva 9).



**Kuva 9.** Ureapitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

### 3.4 Kreatiniini

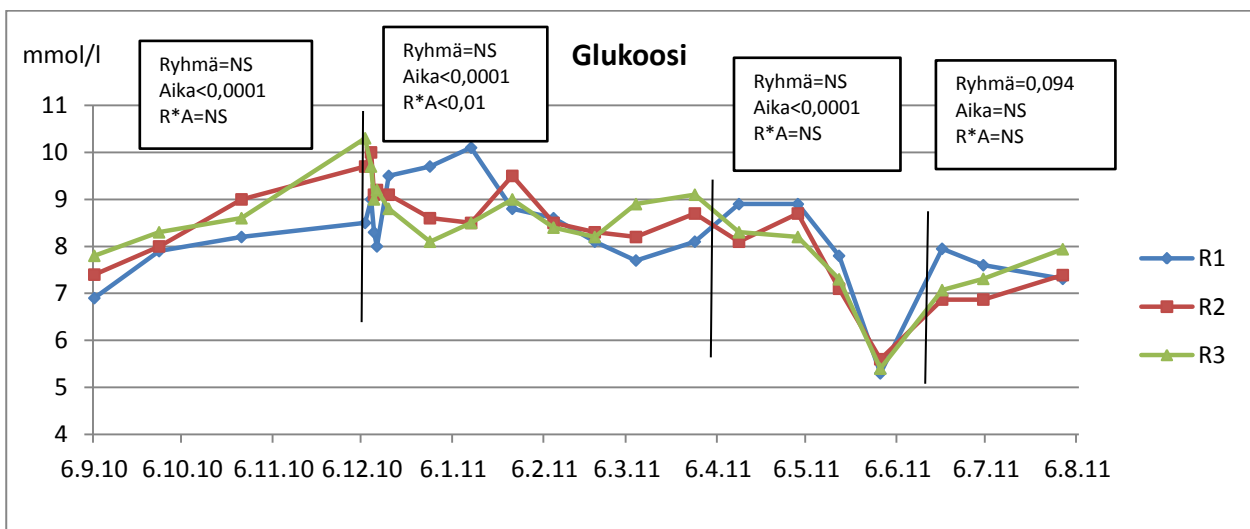
Plasman kreatiniiniarvot olivat korkeimmillaan tiineysajan lopussa kaikilla ryhmillä, muutoin näytteenottokertojen välinen vaihtelu vaikuttaa satunnaiselta. Ryhmien välillä ei ollut mitään merkitsevää eroa kreatiniiniarvoissa millään neljällä jaksolla ( $P=NS$ ). Oli kuitenkin havaittavissa, että ryhmän 1 arvot yleensä olivat jossain määrin matalammat kuin muilla ryhmillä (kuva 10).



Kuva 10. Kreatiniinipitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

### 3.5 Glukoosi

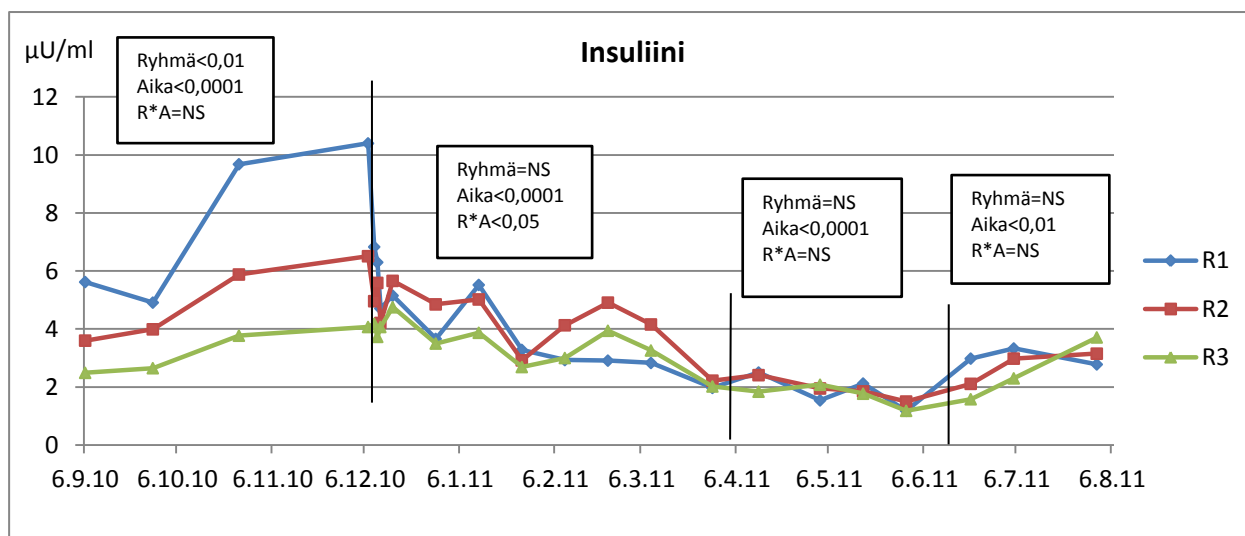
Plasman glukoosipitoisuus vaihteli jonkin verran vuodenajoittain. Syyskauden aikana pitoisuudet kasvoivat kaikissa ryhmissä ( $P<0.0001$ ). Voimakas ruokinnan rajoitus vuodenvaihteessa kohotti ryhmän 1 glukoosipitoisuuksia, kun taas ryhmällä 3 pitoisuudet laskivat ( $P<0.01$ , yhdysvaikutus). Tiineysajan puolen välin jälkeen kaikkien ryhmien glukoosipitoisuus laski voimakkaasti ( $P<0.0001$ ). Penikoimisen jälkeen pitoisuudet asettuivat tasolle 7-8 mmol/l. Koko aineistossa ei ryhmien välillä ollut tilastollista eroa glukoosipitoisuudessa (kuva 11).



Kuva 11. Glukoosipitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

### 3.6 Insuliini

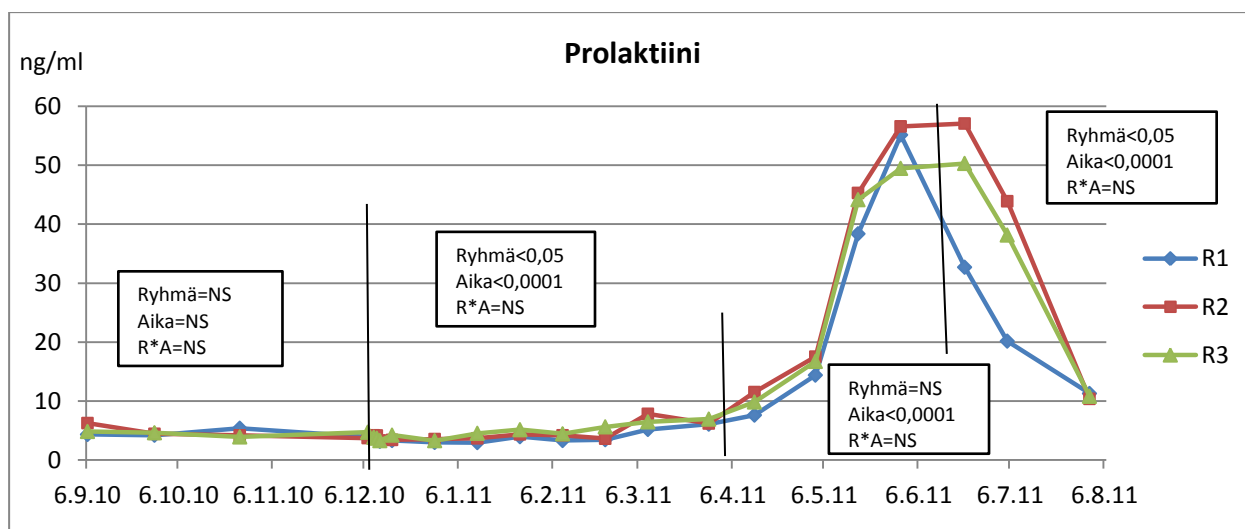
Syyskaudella plasman insuliinieritys kasvoi joulukuun alkuun asti ( $P < 0.0001$ ) ja voimakas ruokinta (ryhmä 1) selvästi kohotti sitä ( $P < 0.01$ ). Joulukuun alussa aloitettu paasto pudotti insuliinitasot nopeasti normaaleiksi (ryhmän 3 tasolle). (kuva 12)



Kuva 12. Insuliinipitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

### 3.7 Prolaktiini

Plasman prolaktiinitasot olivat samalla tasolla kaikissa koeryhmissä koko syyskauden ( $P = NS$ ). Talvikauden aikana prolaktiinitaso nousi hieman kevääseen mennessä ( $P < 0.0001$ ). Ryhmän 3 tasot olivat korkeammalla kuin ryhmällä 1 ( $P < 0.05$ ). Erot eivät ole suuria, mutta ne ovat kuitenkin tilastollisesti merkitseviä. Tiineyskaudella kaikkien ryhmien prolaktiinitasot kohosivat samankaltaisesti ( $P < 0.001$ ) ja saavuttivat korkeimman tasonsa seitsemännellä tiineysviikolla. Kahden viikon kuluttua penikoimisesta ryhmän 1 prolaktiinitaso oli tippunut lähes puoleen tiineysajan loppuun verrattuna (viikko ennen penikointia otettu näyte), muilla ryhmillä taso pysyi ennallaan. Ryhmien välinen ero oli samanlainen kahta viikkoa myöhemmin pentujen ollessa neliviikkoisia. Vieroitushetkellä eroja ei enää havaittu (kuva 13).

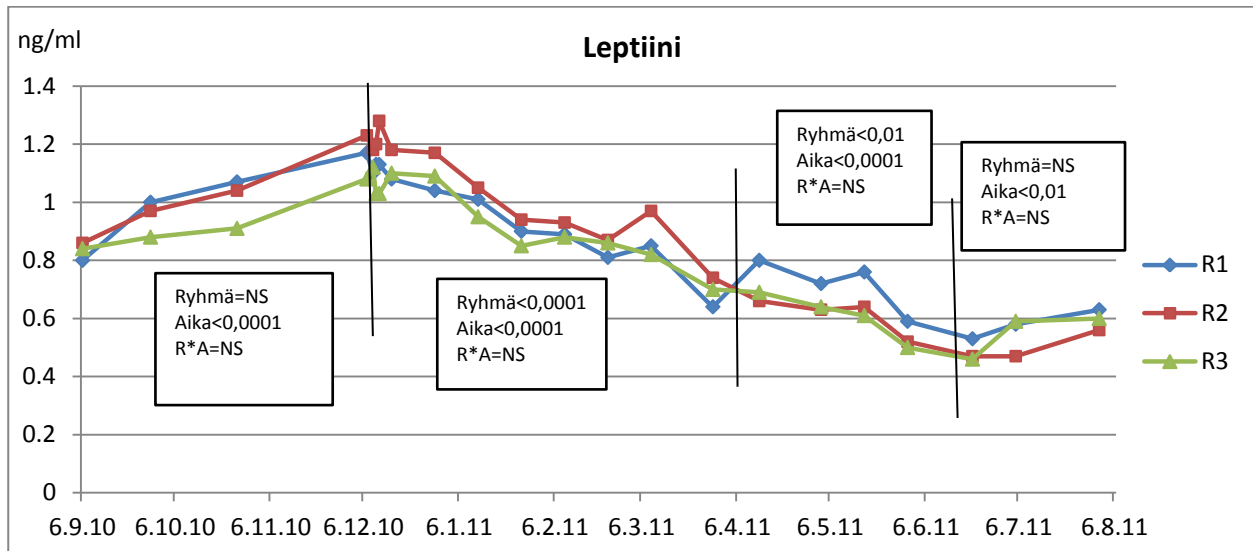


Kuva 13. Prolaktiinipitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana



### 3.8 Leptiini

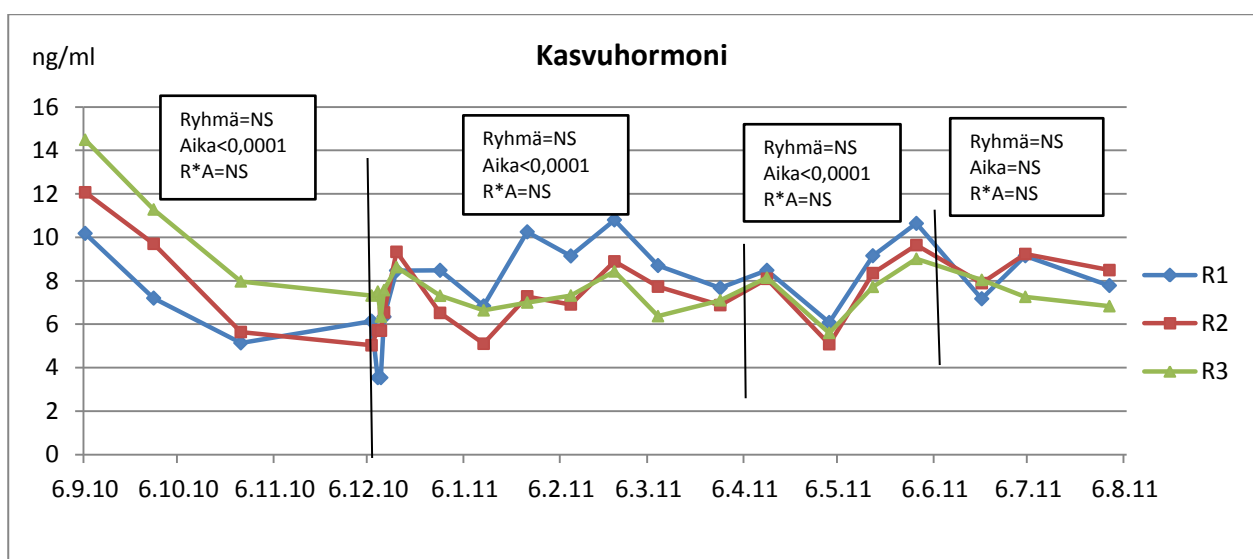
Plasman leptiinipitoisuus kohosi merkitsevästi syyskuusta joulukuuhun ( $P < 0.0001$ ). Leptiinipitoisuus oli kaikilla ryhmillä korkeimmillaan vuodenvaihteessa ja laski kesää kohden. Alhaisimmillaan pitoisuudet olivat penikoimisen jälkeen. Joulukuusta maaliskuun loppuun ryhmän 2 leptiinipitoisuudet olivat muita ryhmiä korkeammalla ja siemennyshetkestä kesäkuuhun ryhmän 1 pitoisuudet olivat puolestaan korkeammalla ( $P < 0.01$ ) (kuva 14).



Kuva 14. Leptiinipitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

### 3.9 Kasvuhormoni

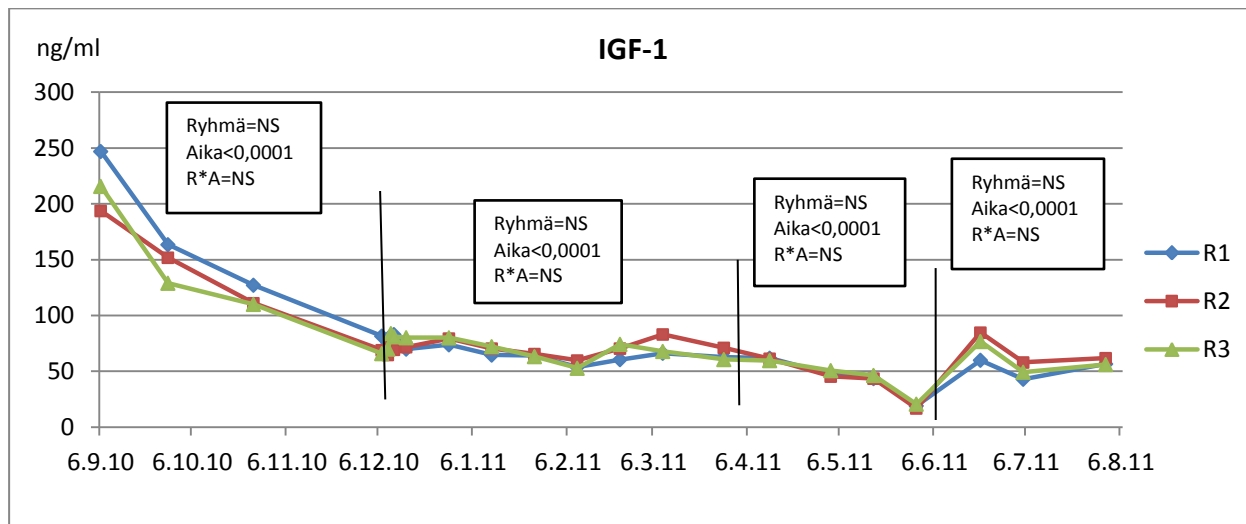
Plasman kasvuhormonipitoisuuksissa ei ollut tilastollista eroa koeryhmien välillä ( $P = NS$ ). Hormonitasot olivat korkeimmillaan alkusyksystä kiihkeimmän kasvun aikaan ja laskivat sitten vakiotasolle ( $P < 0.001$ ). Talvikaudesta eteenpäin mittauskertojen välillä havaitut erot olivat satunnaisia (kuva 15).



Kuva 15. Kasvuhormonipitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

### 3.10 IGF-1

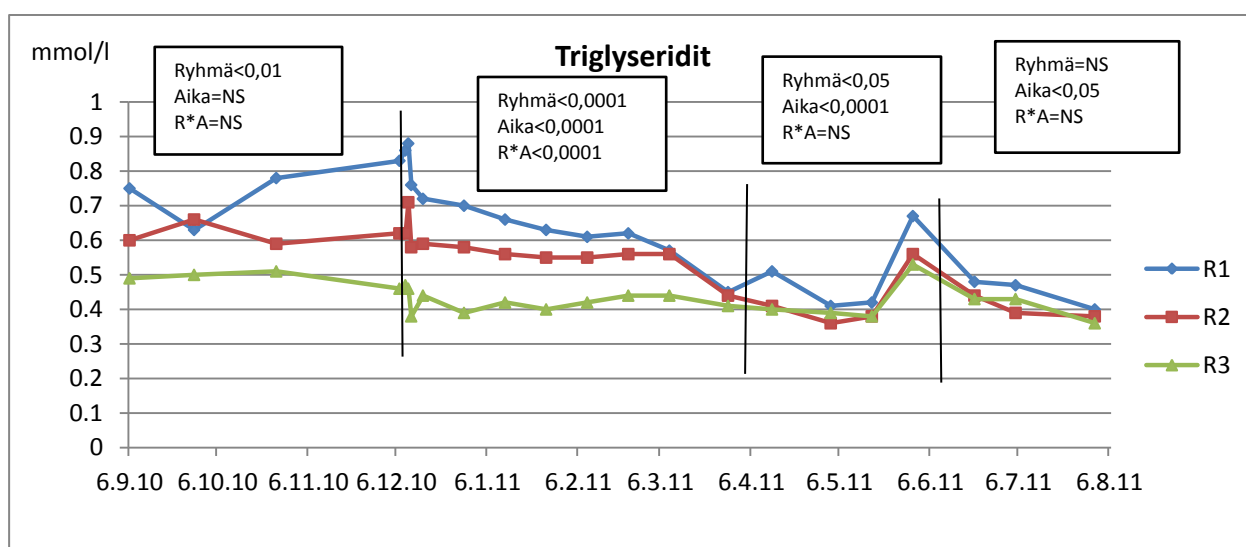
IGF-1 on insuliininkaltainen kasvutekijä 1. Plasman IGF-1 tasot olivat korkeimmillaan alkusyksystä ( $P<0.001$ ). Ne tasaantuivat vuodenvaihteessa ja pysyivät samana sen jälkeen siemennysketkeen saakka. Tiineysaikana pitoisuudet laskivat edelleen ollen alhaisimmalla tasolla ennen penikoimista. Koeryhmien välillä ei ollut eroa (kuva 16).



Kuva 16. IGF-1 -pitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

### 3.11 Triglyseridit

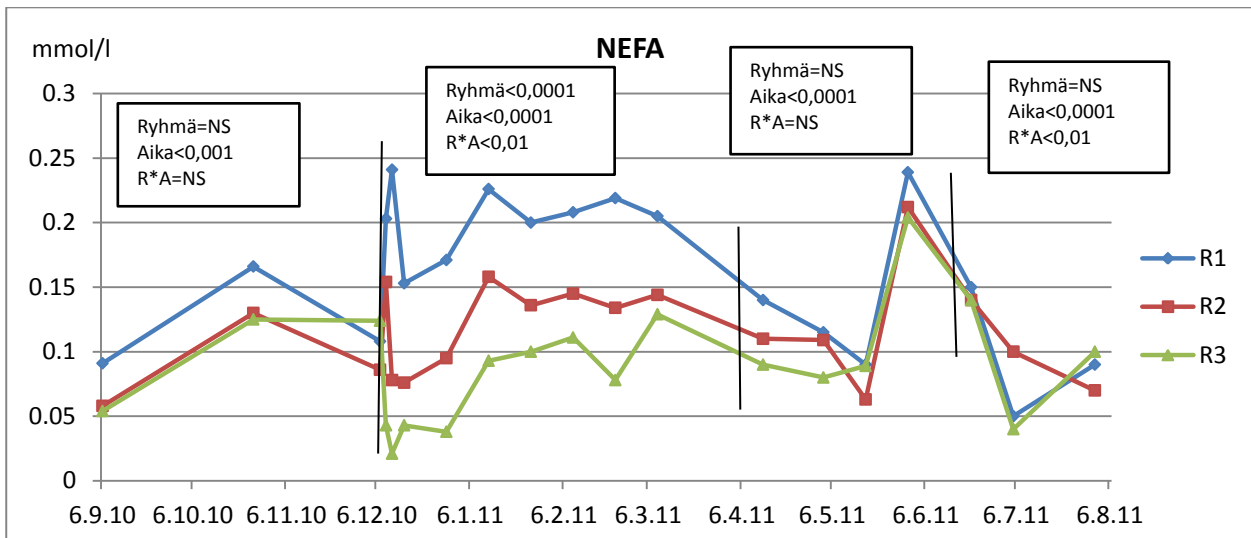
Plasman triglyseridi (TG) -pitoisuuksissa oli selvä ero ryhmien välillä ( $P<0.01$ ) kasvukaudella. Alhaisimmat pitoisuudet olivat ryhmällä 3, jota rajoitettiin kaikkein voimakkaimmin. Korkein pitoisuus taas oli vapaalla ruokinnalla (ryhmä 1). Alkuvuodesta alkanut paasto laski ryhmän 1 TG-tasoa muiden ryhmien pysyessä lähes ennallaan ( $P<0.0001$ , yhdysvaikutus). Tiineysaikana ryhmän 1 TG-tasot olivat edelleen muita korkeammalla ( $P<0.05$ ). Penikoimisen jälkeen tasot laskivat kaikilla ryhmillä samalle tasolle ( $p<0.05$ ) (kuva 17).



Kuva 17. Triglyseridipitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

### 3.12 Vapaat rasvahapot (NEFA, non-esterified fatty acids)

NEFA (nonesterified fatty acids) tarkoittaa ei esteröityjä rasvahappoja. Talvikaudella plasman NEFA-pitoisuudet olivat korkeimmat ryhmällä 1 voimakkaan laihduttamisen aikana. Alhaisimmat pitoisuudet olivat ryhmässä 3, jonka ruokintaa rajoitettiin jakson aikana vähiten. Vuodenaikaisvaihtelut olivat vähäisiä. Ryhmillä 1 ja 2 oli nähtävissä hetkellinen kohonnut arvo paaston alkamisen jälkeen (kuva 18). Eläimet siirrettiin samaan aikaan yksittäishäkkeihin.



Kuva 18. NEFA-pitoisuuksien vaihtelu koeryhmittäin kokeen aikana

---

## 4 Pohdinta

---

Kattavaa selvitystä tarhakettujen hormonitasoista (vrt. esim. Näveri, 1983; Benn et al., 1986; Kozhevnikova, 1989; Korhonen, 2014; Sepponen et al., 2014) ja niiden vuodenaikaisvaihteluista suhteessa ruokintasoihin ja lisääntymiseen ei aiemmin ole ollut olemassa. Tämä tutkimus on sen vuoksi hyvin merkittävä ja tarjoaa arvokasta lisätietoa aiheesta.

Urea on valkuaisaineiden typpiaineenvaihdunnan lopputuote, joka syntyy maksassa. Elimistö ei pysty hyödyntämään sitä, joten se pitää poistaa elimistöstä. Urea poistuu elimistöstä munuaisten kautta virtsaan. Ureapitoisuuksiin vaikuttavat mm. maksan tila, ruokavalio ja ravitsemustila. Matalia urea-arvoja esiintyy mm. aliravitsemuksessa ja voimakkaassa paastossa. Ruokinnan rajoituksen alkaessa glukoosipitoisuuden olleessa alhainen eläimet käyttävät varastorasvojaan ensisijaisena energianlähteenään, jolloin rasvojen hajotus lisääntyy ja ureapitoisuus on matala. Mikäli ruokinnan rajoitus pitkittyy (tässä kokeessa ei pitkittynyt), rasvojen hajotuksesta siirrytään valkuaisaineiden hajottamiseen energiansaannin turvaamiseksi, jolloin ureapitoisuus alkaa nousta. Kokeessa ryhmällä 3 ruokinnan rajoitus oli voimakkainta marraskuun loppuun asti. Tällä ryhmällä ureapitoisuus oli myös ko. jaksolla kaikkein alhaisin. Sen sijaan ryhmien 1 (vapaa ruokinta) ja ryhmän 2 lievästi rajoitettu ruokinta eivät vaikuttaneet syykaudella mitenkään ureapitoisuuksiin. Syyskauden loppupuolella mitatut urea-arvot olivat varsin lähellä aiemmin mitattuja arvoja (Korhonen, 2014). Ryhmän 1 plasman ureapitoisuus oli kaikkein alhaisin siitos- ja talvikaudella. Tämän ryhmän eläimillä oli myös tällöin voimakkain ruokinnan rajoitus, mikä selittää tuloksen. Penikointijaksolla kaikkein ryhmien plasman ureapitoisuudet nousivat, mikä selittyy lisääntyneellä ruokinnalla. Terveiden koirien seerumin ureapitoisuudeksi on mitattu 3 - 6 mmol/l (Charles & Leeming 1998), sairaan yksilön seerumin ureapitoisuudet vaihtelivat välillä 22,3 - 33,8 mmol/l (Hori ym. 2006) ja merinisäkkäiden, jotka lisääntymisaikana paastoavat useita viikkoja, seerumin ureapitoisuudet ovat vaihdelleet välillä 3 - 20 mmol/l (Rosen & Kumagai 2008, Yochem ym. 2008). Labradorinnoutajien elinajan kestäneessä kokeessa, jossa rajoitetulla ruokinnalla koirat söivät pentuiästä yli kolmevuotiaiksi 75 % kontrollina toimineen sisarusparinsa ruokamäärästä ja tämän jälkeen kaikkien kokeen koirien ruuan valkuaismäärä pudotettiin 27 %:sta 21%:iin lihavuuden välttämiseksi ja ruokittiin vakiomäärä 62,1 kcal muuntokelpoista energiaa/elopainokg ja edelleen rajoitetut saivat 75% kontrollina toimineiden sisarustensa ruokamäärästä, kontrollikoirien keskimääräinen seerumin ureapitoisuus 7,5 - 13,5 kk:n iässä (6,56 - 6,71 mmol/l) oli samanlainen kuin ruokintarajoitteisten sisarusten keskimääräinen seerumin ureapitoisuus (6,67 - 6,92 mmol/l). Koiria seurattiin aina 12 vuoden ikään asti ja iän myötä ruokintarajoitteisten koirien keskimääräinen seerumin ureapitoisuus oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi ( $p < 0,01$ ) (4,3 - 5,7 mmol/l) (4 - 12 -vuotiaat) kuin kontrollisisarusten keskimääräinen seerumin ureapitoisuus (4,1 - 5,1 mmol/l) (4 -12 -vuotiaat) (Lawler ym. 2007).

Kreatiniini liittyy lihasten energia-aineenvaihduntaan. Elimistön energia-aineenvaihdunnan reaktioissa kreatiinista muodostuu kreatiniinia. Elimistö ei pysty käyttämään kreatiniiniä, joten siitä on päästävä eroon. Se siirtyy lihaksista vereen ja sieltä munuaisiin. Elimistön kuivumistila yleensä kohottaa kreatiniiniarvoja. Muodostuva kreatiniinin määrä riippuu lihasten massasta.

Tutkimuksessa saadut plasman kreatiniinirvot eivät kerro mistään hälyttävästä. Merkittävää eroa ei ryhmien välillä esiintynyt. Loppusyksyn arvot olivat samaa suuruusluokkaa kuin aiemmissakin kokeissa (Korhonen, 2014; Sepponen ym., 2014). Eläimen paastotessa seerumin urea/kreatiniini suhde kohoaa (Ramsay ym. 1991). Tämä oli havaittavissa ryhmän 1 naaraiden ruokinnan rajoittamisen aikana siitos- ja talvikaudella. Terveiden koirien seerumin kreatiniinipitoisuudeksi on mitattu 53 - 88  $\mu\text{mol/l}$  (Charles & Leeming 1998), kliinisesti sairaan koiran seerumin pitoisuudet vaihtelivat välillä 188 - 287  $\mu\text{mol/l}$  (Hori ym. 2006) ja merinisäkkäiden, jotka lisääntymisaikana paastoavat useita viikkoja, seerumin kreatiniinipitoisuudet ovat vaihdelleet välillä 44 - 256  $\mu\text{mol/l}$  (Rosen & Kumagai 2008, Yochem ym. 2008). Labradorinnoutajien elinaikakokeessa ruokintarajoitteisten koirien keskimääräinen seerumin kreatiniinipitoisuus 7,5 - 13,5 kk:n iässä (89,3 - 106,1  $\mu\text{mol/l}$ ) oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi ( $p < 0,01$ ) kuin kontrollisarusten keskimääräinen seerumin kreatiniinipitoisuus (84,0 - 99,0  $\mu\text{mol/l}$ ). Neljä - 12 -vuotiaiden ruokintarajoitteisten koirien keskimääräinen seerumin kreatiniinipitoisuus oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi ( $p < 0,01$ ) (82,2 - 102,5  $\mu\text{mol/l}$ ) kuin kontrollisarusten keskimääräinen seerumin kreatiniinipitoisuus (65,4 - 96,4  $\mu\text{mol/l}$ ) (Lawler ym. 2007). Tämän katsottiin johtuvan luustoli hasten käytöstä energia-aineenvaihduntaan ruokintarajoitteisten ryhmässä.

Glukoosi on kudosten energian lähde. Sopiva glukoosipitoisuus (veren sokeripitoisuus) on erityisen tärkeä aivoille. Verensokerin saa pysymään hyvänä säännöllisellä ruokintarytmillä ja rehumäärällä. Jos eläin paastoo tai syö liian harvoin, glukoosia otetaan glykokeenivarastoista. Paaston jatkuessa glukoosia valmistetaan maksassa rasva- ja lihaskudoksesta saatavista muista yhdisteistä, kuten maitohaposta, glyserolista ja aminohapoista. Kudokset alkavat käyttää energianlähteenä rasvahappoja, jotta aivoille ja punasoluille riittää glukoosia. Elimistön aineenvaihdunta muuttuu vähitellen, jos käytettävissä ei ole riittävästi glukoosia. Plasman glukoosipitoisuuksissa ryhmien välillä ei ollut eroa. Tämä viittaa siihen, että ruokintakäsittelyt eivät olennaisesti vaikuttaneet veren sokeriarvoihin. Ainut huomioitava seikka oli se, että vapaaruokinnan (ryhmä 1) eläinten glukoositasot nousivat vuodenvaihteessa paaston alettua. Ilmeisesti eläimet mobilisoivat elimistön glykokeenivarastoja normaalia enemmän. Kesäkuussa havaittiin kaikissa ryhmissä yksi poikkeuksellisen alhainen glukoosiarvo. Tätä on vaikea selittää. Kyseessä voi olla mittausvirhe. Glukoosiarvot loppusyksyllä olivat lähellä aiemmin mitattuja arvoja (Korhonen, 2014). Koirakokeissa koirien seerumin paastosokerin pitoisuudeksi on mitattu alle 6 mmol/l (Verkest ym. 2012). Merinisäkkäiden, jotka lisääntymisaikana paastoavat useita viikkoja, seerumin glukoosipitoisuudet ovat vaihdelleet välillä 2,8 - 12,1 mmol/l (Rosen & Kumagai 2008, Yochem ym. 2008). Labradorinnoutajien elinajan kestäneessä kokeessa ruokintarajoitteisten koirien keskimääräinen seerumin glukoosipitoisuus 7,5 - 13,5 kk:n iässä (5,71 mmol/l) oli samanlainen kuin kontrollisarusten keskimääräinen seerumin glukoosipitoisuus (5,8 - 5,9 mmol/l). Neljä - 12 -vuotiaiden ruokintarajoitteisten koirien keskimääräinen seerumin glukoosipitoisuus oli tilastollisesti merkitsevästi matalampi ( $p < 0,01$ ) (4,6 - 5,6 mmol/l) kuin kontrollisarusten keskimääräinen seerumin glukoosipitoisuus (4,8 - 6,0 mmol/l) (Lawler ym. 2007). Glukoosipitoisuuden perusarvot olivat keskimäärin noin 9 % matalammat ja iän myötä laskivat enemmän ruokintarajoitteisten kuin kontrollisarusten ryhmässä.

Insuliinin tehtävä on säädellä elimistön energia-aineenvaihduntaa. Sen keskeisenä funktiona on säädellä erityisesti sokeriaineenvaihduntaa, mutta se säätelee samalla myös valkuaisaineiden ja rasvojen aineenvaihduntaa. Verensokeri on tärkein insuliinineritystä säätelevä tekijä, ja insuliinineritys vähenee nopeasti, kun verensokeri alkaa laskea. Ruokinnan vaikutus plasman insuliinitasoihin oli hyvin selvästi nähtävissä ryhmässä 1, jonka insuliinipitoisuus syyskaudella oli muita ryhmiä korkeampi. Insuliinin ja verensokerin yhteys oli kokeessa nähtävissä. Voimakas ruokinta ja lihavuus kohottavat sekä veren sokeri- että insuliinitasoa. Voimakkaalla paastolla saadaan insuliinitasot tehokkaasti normaaleiksi. Vuorokauden paastonneiden laihojen koirien seerumin paastoinsuliinin pitoisuudeksi on mitattu keskimäärin 9  $\mu$ IU/ml ja lihaviiden koirien seerumin paastopitoisuudeksi keskimäärin 44  $\mu$ IU/ml (Verkest ym. 2012). Koirien ruokinnan rajoituksen pitkäaikaiskokeissa keskimääräinen plasman insuliinipitoisuus oli 33 % alhaisempi ruokintarajoitteisten ryhmässä (Larson ym. 2003). Tämä yhdessä alhaisen glukoositason kanssa osoittaa ruokintarajoitteisten koirien tehostunutta kykyä glukoosi-insuliini-aineenvaihduntaan, mikä on todettu myös mm. rotilla (Barzilai & Rossetti 1995) ja apinoilla (Kemnitz ym. 1994).

Koiraeläimille tyypillisesti kaikkien kettunaaraiden keltarauhastoiminta jatkuu kiiman jälkeen yhtäjaksoisesti koko tiineysajan riippumatta siitä tulevatko naaraat kantaviksi vai eivät. Eikantavien naaraiden tilaa sanotaan valettiineydeksi, joka voi olla joko ulospäin näkyvää eli naaraan utare kehittyy ja erittää ja naaras alkaa tehdä pesää tai ulkoisesti huomaamatonta. Valettiineys on pakollinen tila kaikille ei-tiineille kettunaaraille ja varmistaa sen, että naaras kykenee hoitamaan ja imettämään pentuja (ei-tiineet naaraat voivat imettää jonkun toisen naaraan pentuja). Tämän saa aikaan prolaktiinihormoni, joka on aivolisäkkeen etulohkosta vapautuva peptidihormoni, joka valmistaa matorauhaset maidontuotantoa varten tiineyden aikana, stimuloi maidontuotantoa matorauhasista synnytyksen jälkeen, ylläpitää maidontuotantoa imetyksen aikana ja aikaansaa emon (myös uroksen) pentujen hoitovietin (Jöchle 1997). Prolaktiinineritys eri koeryhmissä oli samanlainen ja matala koko syysjakson. Kaikkein voimakkain laihdutus oli ryhmässä 1, jonka plasman prolaktiinitasot putosivat penikointivaiheesta vieroitukseen mentäessä viikko ennen penikointia ja kaksi viikkoa penikoinnin jälkeen välisenä aikana. Näytteenottotiheydestä johtuen ei pystytä sanomaan, onko tason putoaminen tapahtunut jo ennen penikointia vai penikoinnin jälkeen. Todennäköisesti tason putoaminen on tapahtunut vasta pentumisen jälkeen, jolloin voidaan olettaa, että emoilla oli kaikissa koeryhmissä hyvät mahdollisuudet pentujen imetykseen ja hoitoon. Ryhmän 1 elävien pentujen lukumäärät olivat kaikkein huonoimmat 1 vuorokauden sekä 2,4 ja 8 viikon iässä. Tätä eroa voidaan selittää ryhmän 1 alhaisemmilla prolaktiinitasoilla, jotka mahdollisesti johtivat huonompaan maidoneritykseen ja heikompaan pentujen hoivaviettiin. Ryhmän 3 prolaktiinipitoisuus oli talvijaksolla hieman korkeampi kuin ryhmän 1. Ero oli kuitenkin aivan minimaalinen, se ei näy myöskään kuvassa 12 (3.7. prolaktiini) silmämääräisesti. Ero saattaa selittyä ryhmän 3 voimakkaalla kunnan nostolla ja ryhmän 1 voimakkaalla paastolla tässä vaiheessa. Asia vaatii lisäselvitystä. Tämän tutkimuksen sinikettunaaraiden kiimattoman vaiheen aikainen keskimääräinen plasman prolaktiinipitoisuus oli samankaltainen (5 - 7 ng/ml vs. 2 - 4 ng/ml), mutta tiineyden ja imetyksen aikaiset keskimääräiset pitoisuudet (35 - 55 ng/ml vs. 20 - 30 ng/ml) olivat jonkin verran korkeampia kuin aiemmassa kettututkimuksessa, jossa prolaktiinipitoisuus määritettiin RIA:lla plasmanäytteistä (Mondain-Monval ym. 1985).

Leptiini on peptidihormoni, joka syntyy rasvasoluissa. Se välittää aivojen hypothalamukselle tietoa elimistön rasvavarastojen määrästä. Leptiini säätelee mm. talviunta nukkuvien eläinten

aineenvaihduntaa, energiankulutusta ja rasvakerroksen määrää. Kuten aiemmissa sinikettututkimuksissa on todettu (Nieminen ym. 2001, Mustonen ym. 2005), leptiinipitoisuus on usein suoraan verrannollinen elimistön rasvavarastojen määrään; mitä enemmän rasvaa, sitä korkeampi pitoisuus. Laihdutus ja liikunta vähentävät veren ja kudosten liiallista leptiiniä. Kokeen eri ryhmien plasman leptiinipitoisuudet olivat korkeimmillaan lähellä vuodenvaihdetta eli silloin, kun eläimet olivat painavimmillaan. Niillä oli silloin eniten ihonalaista rasvakudosta. Kesää kohden leptiinipitoisuudet laskivat kuten eläinten painotkin. Rasvakudoksen määrä laski samalla. Leptiinitulokset ovat hyvin selvät eli eläimen paino / rasvanmäärä säätelevät pitoisuutta vuodenajoin. Ihmisen, jyrsojoiden, kanin, lehmän ja sian munasarjoista on löydetty leptiinireseptoreja (Trisolini ym. 2013). Leptiinin vaikutukset munasarjoihin ovat ristiriitaisia, hormonin on todettu vaikuttavan munasarjaan sekä estävästi että stimuloivasti (Ricci ym. 2006). Koiran vuorokausittainen keskimääräinen seerumin leptiinipitoisuus vaihteli aamun 2,3 ng/ml:sta illan 10,5 ng/ml:aan. Paaston aikana pitoisuus väheni alle 2,0 ng/ml:aan ja lisääntyi vasta seuraavan aterian jälkeen (Ishioka ym. 2005).

Kasvuhormoni (GH) on toiselta nimeltään somatotropiini. Se on aivolisäkkeen etulohkon erittämä hormoni, jonka ensisijainen vaikutus on kasvun lisääminen, erityisesti se vaikuttaa luuston kehitykseen ja luiden pituuskasvuun. Kasvuhormonin vaikutuksia elimistössä ovat mm. proteiinisynteesin kiihtyminen kudoksissa, rasvojen pilkkoutuminen sekä glukoosin soluunoton vähentäminen. Kasvuhormoni heikentää insuliinin vaikutusta. Koeryhmien plasman kasvuhormonitasot olivat korkeimmillaan alkusyksyllä, mikä selittyy sillä, että eläinten kasvu oli silloin kiivaimmillaan. Loppusyksystä tasot vakiintuivat (aikuiskoko saavutettu) ja pysyivät samana kokeen loppuun saakka. Ryhmien välillä ei ollut eroa kasvuhormonipitoisuuksissa. Havaitut erot eläinten painoissa eivät siis heijastuneet kasvuhormonipitoisuuksiin sellaisinaan. Aikuisten ruotsalaisten hirvikoiranarttujen kasvuhormonipitoisuus oli keskimäärin 5,8 ng/ml (vaihteluväli 4,2 – 6,6 ng/ml) 3 -7 viikkoa kiiman aikaisen emätinvuodon päättymisestä (Strage ym. 2014). Ihmisen munasarjan follikkeleiden granulosa- ja teekasoluista sekä follikkelin peruskudoksesta on löydetty kasvuhormonireseptoreja (Poretsky ym. 1985). Myös naudan munasarjan follikkeleiden soluissa on todettu kasvuhormonireseptoreja, joiden lukumäärän lisääntymisen on ehdotettu olevan follikkelin lopullisen kypsyntiprosessin käännekohta eli hetki, jolloin dominoiva follikkeli siirtyy puhkeamisvaiheeseen ja lisäksi follikkelin granulosolujen insuliinireseptoreiden kautta insuliini saattaa tukea preovulatorisen follikkelin kypsyntistä (Shimizu ym. 2008).

IGF-1 on kasvuhormonin vaikutusta välittävä peptidi, jota muodostuu pääasiassa maksassa. Lyhyen paaston on todettu alentavan elimistön IGF-1 tuotantoa. Kokeessa IGF-1 tasot olivat korkeimmillaan alkusyksystä jolloin eläinten kasvu ja ruokinta oli voimakkainta. Syksyä kohti pitoisuudet laskivat ja tasaantuivat vuodenvaihteen jälkeen. IGF-1 ja kasvuhormoni (GH) -tasot ovat yleensä samansuuntaisia kuten tässäkin kokeessa havaittiin. Ruokintakäsittelyllä ei ollut vaikutusta IGF-1 -tasoihin kuten ei kasvuhormoni(GH) -tasoihinkaan. Aikuisten ruotsalaisten hirvikoiranarttujen IGF-1-hormonipitoisuus oli keskimäärin 387 ng/ml (vaihteluväli 247 - 471 ng/ml) 3 - 7 viikkoa kiiman aikaisen emätinvuodon päättymisestä (Strage ym. 2014). Toisessa tutkimuksessa terveiden kontrollikoirien keskimääräinen seerumin IGF-1 -pitoisuus vaihteli välillä 30 - 300 ng/ml (Pedersen ym. 2005).

Eläimissä oleva tavallinen rasva ("läski") koostuu triglyserideistä (TG). Veren triglyseridipitoisuus vaihtelee sen mukaan kuinka rasvaista ruokaa eläin syö. Veren triglyseridien määrää lisäävät rasvainen ruoka ja lihominen. Laihduttaminen pienentää triglyseridiarvoja. Kokeessa vapaa ruokinta selvästi nosti TG-tasoa kasvukaudella. Vastaavasti voimakas rehunsaannin rajoitus laski tasoa kasvukaudella. Kokeen tulokset tukevat yleistä käsitystä ruokinnan vaikutuksesta TG-tasoihin. Vuorokauden paastonneiden lihaviiden koirien seerumin keskimääräinen paastotriglyseridipitoisuus (3,1 mmol/l) oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi ( $P < 0,001$ ) kuin laihojen koirien seerumin paastotriglyseridipitoisuus (0,7 mmol/l) (Verkest ym. 2012). Merinisäkkäiden, jotka lisääntymisaikana paastoavat useita viikkoja, seerumin keskimääräinen triglyseridipitoisuus on vaihdellut välillä 0,5 - 2,4 mmol/l (Yochem ym. 2008).

NEFA (nonesterified fatty acids) tarkoittaa ei esteröityjä rasvahappoja eli vapaita rasvahappoja. Ne ovat triglyseridien pääainesosa, joka toimii energialähteenä useissa eri kudoksissa. NEFA heijastelee rasvojen mobilisointia suhteessa negatiiviseen energiataseeseen ja stressiin. Tulosten mukaan NEFA tasot olivat korkeimmat ryhmällä 1. Ne pysyivät myös korkeina lähes koko kokeen ajan toisin kuin TG-tasot. Tasot olivat alhaisemmat ryhmällä 3, jolla oli myös voimakkain rehun rajoitus kokeen alussa. NEFA-tulokset vaikuttavat loogisilta. Voimakas laihdutus ryhmällä 1 siis johti negatiiviseen energiataseeseen ja aiheutti ravitsemuksellista stressiä. Terveiden koirien nukutuskokeessa ennen kokeen alkua mitatut plasman NEFA-pitoisuudet vaihtelivat välillä 0,9-1,2 mmol/l (Restitutti ym., 2012). Ennen mahakirurgisen kokeen operaatioita lihavilta koirilta mitattu keskimääräinen NEFA-pitoisuus oli 0,65 mmol/l (Lottati ym. 2008). Koiran seerumin NEFA-pitoisuus väheni (alle 0,4 mmol/l) syömisen jälkeen ja lisääntyi (0,25 -> 0,75 mmol/l) paastotessa (Ishioka ym. 2005). Lehmäkokeissa negatiivisen energiataseen aikana poikimisen jälkeen NEFAn on todettu saattavan vaikuttaa follikkelien kasvuun ja hedelmällisyyteen vaikuttamalla joko suoraan munasoluun tai kasvavan follikkelin muihin solutyyppeihin. Koeputkihedelmöityskokeet ovat osoittaneet NEFAn estävän munasolujen kypsymistä ja follikkelin granuloosasolujen elävyyttä, mutta kuitenkin parantavan granuloosasolujen estrogeenieritystä. Nämä vaikutukset todettiin jo sellaisilla NEFA-pitoisuuksilla, joita usein havaitaan lehmän dominoivan follikkelin follikkelinesteessä (Vanholder ym. 2006). Sinikettunaaraiden ryhmän 1 korkeammat NEFA-pitoisuudet ovat saattaneet vaikuttaa epäedullisesti naaraiden follikkeleiden ja munasolujen kypsymiseen ja siten huonontaneet ryhmän pentutulosta.

Tämä tutkimus osoittaa, että tutkittujen hormonien avulla voidaan seurata ruokinnan vaikutusta eläimen hormonaaliseen ja energieettiseen tasapainoon ja osin myös ravitsemukselliseen stressiin. Liiallinen laihdutus eli negatiivinen energiatase näyttää johtavan heikentyneeseen lisääntymistulokseen (ryhmä 1). Se näkyy myös hormonipitoisuuksissa. Sinikettujen oikeaoppinen ruokinta syys- ja siitoskaudella kaipaa edelleen lisätutkimuksia. On kuitenkin selvää, että on vältettävä liian voimakasta, lyhytaikaista laihduttamista ja lihottamista. Tasainen ruokinta todennäköisimmin pitää sekä energia-aineenvaihdunnan että hormonit parhaiten tasapainossa.

Loppupäätelmänä voidaan todeta, että tuotantokauden aikaisen ruokinnan vaikutus hormonaaliseen tasapainoon oli odotetunmukainen. Tulokset vaikuttavat pääosin loogisilta ja normaaleilta. Ruokinnan tasolla ja paastolla on selvää vaikutusta kettujen hormonaaliseen tasapainoon ja sitä kautta pentutuotukseen.



---

## 5 Kirjallisuus

---

- Barzilai, N., Rossetti, L. 1995. The relationship between changes in body composition and insulin responsiveness in models of the aging rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 269(3):E591-E597.
- Benn, D.M., McKeown, D.B. & Lumsden, J.H. 1986. Hematology and biochemistry reference values for the ranch fox. *Can. J. Vet. Res.* 50: 54-58.
- Blache, D., Zhang, S., Martin, G.B. 2003. Fertility in male sheep: modulators of the acute effects of nutrition on the reproductive axis of male sheep. *Reproduction Supplement*, 61, pp. 387-402.
- Chagas, L.M., Bass, J.J., Blache, D., Burke, C.R., Kay, J.K., Lindsay, D.R., Lucy, M.C., Martin, G.B., Meier, S., Rhodes, F.M., Roche, J.R., Thatcher, W.W. & Webb, R. 2007. Invited review: new perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 90:4022-4032.
- Charles, J.M. & Leeming, N.M. 1998. Chronic dietary toxicity study on 2,4-dichlorophenoxybutyric acid in the dog. *Toxicol Sci* 46:134-142.
- Cho, K-D., Paek, J., Kang, J-H., Chang, D., Na, K-J. & Yang, M-P. 2014. Serum adipokine concentrations in dogs with naturally occurring pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 28:429-436.
- Hori, Y., Uechi, M., Kanakubo, K., Sano, T. & Oyamada, T. 2006. Canine ovarian serous papillary adenocarcinoma with neoplastic hypercalcemia. *J Vet Med Sci* 68(9):979-982.
- Ishioka, K., Hatai, H., Komabayashi, K., Soliman, MM., Shibata, H., Honjoh, T., Kimura, K. & Saito, M. 2005. Diurnal variations of serum leptin in dogs: effects of fasting and re-feeding. *Vet J* 169:85-90.
- Jöchle, W. 1997. Prolactin in canine and feline reproduction. *Reprod Dom Anim* 32:183-193.
- Kemnitz, J.W., Roecker, E.B., Weindruch, R., ym. 1994. Dietary restriction increases insulin sensitivity and lowers blood-glucose in rhesus-monkeys. *Am J Physiol* 266(4):E540-E547.
- Korhonen, H.T. 2014. Serum biochemistry profile in blue foxes. *Julkaisematon*.
- Koskinen, N., Tauson, A-H., Sepponen, J. & Rekilä, T. 2008. Feeding history affects cub survival of young breeding blue foxes (*Alopex lagopus*), a field study. *International Fur Animal Scientific Association 2008 Congress : August 19-23 : Halifax, Nova Scotia, Canada*
- Koskinen N., Tauson, A-H., Sepponen, J. & Rekilä, T. 2009. Siniketun energiatarpeen määrittäminen. *Julkaisussa: Rehunvalmistajien luontopäivät 10.-11.2.2009 Keuruu*
- Kozhevnikova, L.K. 1989. 10. Enzymes. In: *Haematology and clinical chemistry of fur animals- A current treatise* (ed. A. Brandt). pp. 66-79. Gummerus Kirjapaino Oy, Jyväskylä.
- Larson, B.T., Lawler, D.F., Spitznagel, E.L. & Kealy, R.D. 2003. Improved glucose tolerance with lifetime diet restriction favorably affects disease and survival in dogs. *J Nutr* 133:2887-2892.
- Lawler, D.F., Ballam, J.M., Meadows, R., Larson, B.T., Li, Q., Stowe, H.D. & Kealy, R.D. 2007. Influence of lifetime food restriction on physiological variables in Labrador retriever dogs. *Exp Geront* 42:204-214.

- Lottati, M., Kolka, C., Dittman, J., Yae, S., Harrison, LN., Mooradian, V., Kirkman, E. & Bergman, R. 2008. Free fatty acids modulate insulin sensitivity following reduction of visceral fat by greater omentectomy in obese dogs. *Obesity* 16:S62 (tiivistelmä).
- Mustonen, A-M., Pyykönen, T., Asikainen, J., Hänninen, S., Mononen, J. & Nieminen, P. 2005. Circannual leptin and ghrelin levels of the blue fox (*Alopex lagopus*) in reference to seasonal rhythms of body mass, adiposity and food intake. *J Exp Zool* 303A:26-36.
- Mondain-Monval, M., Møller, OM., Smith, AJ., McNeilly, AS. & Scholler, R. 1985. Seasonal variations of plasma prolactin and LH concentrations in the female blue fox (*Alopex lagopus*). *J Reprod Fert* 74:439-448.
- Nieminen, P., Asikainen, J., Hyvärinen, H. 2001. Effects of seasonality and fasting on the plasma leptin and thyroxin levels of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the blue fox (*Alopex lagopus*). *J Exp Zool* 289:109-118.
- Näveri, A. 1983. Hematological and clinicial-chemical normal values of Finnish blue foxes. Central Laboratory of the College of Veterianry Medicine, Helsinki.
- Pedersen, HD., Falk, T., Häggström, J., Tarnow, I., Olsen, LH., Kwart, C. & Nielsen, MO. 2005. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-1 in dogs with naturally occurring mitral regurgitation. *J Vet Intern Med* 19:528-532.
- Poretsky, L., Grigorescu, F., Seibel, M., ym. 1985. Distribution and characterization of insulin and insulin-like growth factor-I receptors in normal human-ovary. *J Clin Endocrin Metab* 61(4):728-734.
- Ramsay, MA., Nelson, RA., Stirling, I. 1991. Seasonal-changes in the ratio of serum urea to creatinine in feeding and fasting polar bears. *Can J Zool* 69(2):298-302.
- Restitutti, F., Raekallio, M., Vainionpää, O., Kuusela, E. & Vainio, O.2012. Plasma glucose, insulin, free fatty acids, lactate and cortisol concentrations in dexmedetomidine-sedated dogs with or without MK-467: a peripheral  $\alpha$ -2 adrenoceptor antagonist. *Vet J* 193:481-485.
- Ricci, A.C., Di Yorio, M.P., Faletti, A.G., 2006. Inhibitory effect of leptin on the rat ovary during the ovulatory process. *Reproduction* 132: 771-780.
- Roche, J.F. 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci* 96:282-296.
- Rosen, D.A.S., & Kumagai, S. 2008. Hormone changes indicate that winter is a critical period for food shortages in Stellar sea lions. *J Comp Physiol B* 178:573-583.
- SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT® 9.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Sepponen, J., Korhonen, H.T., Eskeli, P. & Koskinen, N. 2014. Tuotanto- ja siitoskauden ruokinnan vaikutus siniketun rasva-aineenvaihduntaan ja siitoskuntoon. Loppuraportti 12.2.2014. 13 pp.
- Shimizu, T., Murayama, C., Sudo, N., Kawashima, C., Tetsuka, M. & Miyamoto, A. 2008. Involvement of insulin and growth hormone (GH) during follicular development in the bovine ovary. *Anim Reprod Sci* 106:143-152.
- Strage, E.M., Lewitt, M.S., Hanson, J.M., Olsson, U., Norrvik, F., Lilliehöök, I., Holst, B.S. & Fall, T. 2014. Relationship among insulin resistance, growth hormone, and insulin-like growth factor I concentrations in diestrous Swedish elkhounds. *J Vet Intern Med* 28:419-428.
- Tauson, A.-H. 1985. Effects of flushing on reproductive performance, ovulation rate, implantation rate and plasma progesterone levels in mink. *Acta Agric. Scand.* 35: 295-309.

- Tauson, A.-H. & Aldén, E. 1984. Pre-Mating body weight changes and reproductive performance in female mink. *Acta Agric. Scand.* 34: 177-187.
- Tauson A.-H. & Aldén, E. 1985. Different feeding intensity levels to mink. 2. Effects on female reproductive performance, pre-weaning kit growth and longevity of females. *Swedish J. agric. Res.* 15: 97-107.
- Tauson A.-H. & Forsberg M. 1992. Effects of flushing on LH release in mink, *Norw. J. Agric. Sci., Suppl.* 9: 235–241.
- Tauson, A.-H., Fink, R., Forsberg, M., Lagerkvist, G. & Wamberg, S. 2000. LH release in mink (*Mustela vison*): pattern of the LH surge and effect of metabolic status. *Reproduction Nutrition Development*, vol 40, s. 229-247.
- Tauson, A.-H., Forsberg, M. & Chwalibog, A. 2002. Plasma concentrations of leptin mirror changes in body weight but do not influence the pattern of the preovulatory luteinizing hormone surge in mink (*Mustela vison*). *Journal of Nutrition*, vol 132, nr. 6, s. 1790S-1792S.
- Trisolini, C., Albrizio, M., Roscino, M.T., Pantaleo, M., Rizzo, A. & Sciorsci, R.L. 2013. Leptin and queen ovary: new insights about ovulation. *Res Vet Sci* 94:707-710.
- Tupeli, R. 2011. Nuorten sinikettunaaraiden tuotantokauden aikaisen ruokinnan, painonkehityksen ja kuntoluokan vaikutus lisääntymistulokseen). *Pro gradu -tutkielma, Itä-Suomen yliopisto, Biologian laitos*
- Vanholder, T., Leroy, J.Lmr, van Soom, A., Maes, D., Coryn, M., Fiers, T., de Kruif, A. & Opsomer, G. 2006. Effect of non-esterified fatty acids on bovine theca cell steroidogenesis and proliferation in vitro. *Anim Reprod Sci* 92:51-63.
- Verkest, K.R., Rand, J.S., Fleeman, L.M.& Morton, J.M. 2012. Spontaneously obese dogs exhibit greater postprandial glucose, triglyceride, and insulin concentrations than lean dogs. *Dom Anim Endocrin* 42:103-112.
- Wade, G.N., Schneider, J.E., Li, H.Y. 1996 Control of fertility by metabolic cues. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 270:E1–19.
- Yochem, P.K., Stewart, B.S., Mazet, J.A.K. & Boyce, W.M. 2008. Hematologic and serum biochemical profile of the northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*): variation with age, sex, and season. *J Wildl Dis* 44(4):911-921.
- Zieba, D.A., Amstalden, M. & Williams, G.L. 2005. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domest Anim Endocrinol* 29:166-185.