

Polttouputuksen ja emäksisen pastanupoutuksen paranemisen histopatologia ja niiden vaikutus vasikan hyvinvointiin

Eveliina Leppävuori

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

2017

| | | | |
|---|-------------------------------|---|--|
| Tiedekunta - Fakultet - Faculty | | Osasto - Avdelning – Department | |
| Eläinlääketieteellinen tiedekunta | | Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto | |
| Tekijä - Författare - Author | | | |
| Eveliina Leppävuori | | | |
| Työn nimi - Arbetets titel - Title | | | |
| Polttonupoutuksen ja emäksisen pastanupoutuksen paranemisen histopatologia ja niiden vaikutus vasikan hyvinvointiin | | | |
| Oppiaine - Läroämne - Subject | | | |
| Patologian ja parasitologian oppiaine | | | |
| Työn laji - Arbetets art - Level | Aika - Datum - Month and year | Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages | |
| Lisensiaatin tutkielma | 5/2017 | 43 | |
| Tiivistelmä - Referat – Abstract | | | |
| <p>Tämä lisensiaatin tutkielma sisältää alkuperäistutkimuksen polttonupoutuksen ja emäksisen pastanupoutuksen paranemisen vertailua histopatologisesti. Tutkielmassa myös pohditaan eri nupoutustapojen vaikutusta vasikan hyvinvointiin. Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää poltto- ja pastanupoutuksessa syntyneiden vammojen eroja ja paranemista sekä mahdollisuutta nykyisin kielletyn emäksisen pastanupoutuksen käyttöön Suomessa. Nupoutus tarkoittaa alle kahden kuukauden ikäisen vasikan sarvenaiheiden tuhoamista, jolloin sarvien kasvu saadaan estettyä. Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, miten polttonupoutuksessa ja emäksisestä pastanupoutuksesta syntyneet vammat ja paraneminen eroavat toisistaan. Tutkimuksen avulla haluttiin myös selvittää mahdollisuutta käyttää emäksistä nupoutuspastaa Suomessa. Tutkimuksen hypoteesina oli, että polttonupoutus aiheuttaa pienemmän vamman ja paranee nopeammin kuin pastanupoutusvamma. Tutkimuksen aineistoksi kerättiin histologisia näytteitä 16 vasikalta. Vasikoilta nupoutettiin toinen sarvenaihe polttamalla ja toiseen sarvenaiheeseen laitettiin emäksistä pastaa. Nupoutuksessa ja näytteiden keräämisessä käytettiin rauhoitusainetta, puudutusainetta ja tulehduskipulääkettä. Kudosnäytteet kerättiin vasikoilta kaksi päivää ja kaksi viikkoa nupoutuksen jälkeen. Yhteensä näytteitä saatiin 50, joista tutkimukseen mukaan otettiin 22 näytettä. Näytteet valittiin sen perusteella, että niissä näkyi ehjä epidermis ja käsittelykohta. Kerätyistä kudospaloista tehtiin kudosnäytteitä yleisen ohjeen mukaan ja niille tehtiin hematoksyliini–eosiini–värjäys. Histologisista näytteistä tutkittiin vaurion laajuuteen ja paranemiseen liittyviä muutoksia leesion kohdalta ja sen vierestä. Tutkimuksen perusteella sarvenaiheen pastanupoutus näyttää aiheuttavan syvemmän ja vakavamman leesion kuin polttonupoutus. Pastanupoutuksen aiheuttama vamma näyttäisi myös paranevan hitaammin. Tulokset vastasivat hypoteesia. Tutkimuksen avulla tutkittiin ensimmäistä kertaa nupoutusvammojen paranemista histopatologisesti ja pohdittiin nupoutustapojen vaikutusta vasikan hyvinvointiin. Vasikan hyvinvoinnin kannalta vaikuttaisi siltä, että polttonupoutus on pastanupoutusta parempi vaihtoehto. Tutkimuksen heikkoutena on pieni näytemäärä ja näytteidenoton haastavuus. Tutkimusta voisi jatkaa ottamalla vasikoilta enemmän näytteitä. Näytteitä voisi ottaa myös kolme ja neljä viikkoa nupoutuksen jälkeen, jolloin paranemiseen liittyvät erot voisivat tulla paremmin esille. Viikko nupoutuksen jälkeen otetuista näytteistä voisi arvioida laajeneeko vaurio vielä kahden päivän jälkeen lisää ja onko vaurion parantuminen alkanut.</p> | | | |
| Avainsanat - Nyckelord - Keywords | | | |
| nauta, nupoutus, sarvi, hyvinvointi, vasikka, palovamma, emäs, histopatologia | | | |
| Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited | | | |
| HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto | | | |
| Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) | | | |
| Johtaja: Laura Hänninen Ohjaajat: Vera Haapala ja Jere Lindén | | | |

Sisällys

| | |
|---|----|
| 1 JOHDANTO | 1 |
| 2 NAUDAN SARVEN KEHITYS | 2 |
| 3 NUPOUTUSMENETELMIEN TOIMINTATAPA JA AIHEUTETTU VAMMA..... | 3 |
| 3.1 Poltto..... | 4 |
| 3.2 Emäksinen pasta | 5 |
| 4 NUPOUTUSVAMMOJEN PARANEMINEN | 7 |
| 4.1 Viiltohaavan paraneminen esimerkkinä yleisistä paranemismekanismeista | 7 |
| 4.2 Palovamman paraneminen | 9 |
| 4.3 Kemiallisen palovamman paraneminen..... | 10 |
| 5 NUPOUTUKSEN VAIKUTUS VASIKAN HYVINVOINTIIN..... | 11 |
| 5.1 Käyttäytymismuutokset | 11 |
| 5.2 Fysiologiset muutokset | 12 |
| 5.3 Rauhoitusaineen vaikutus vasikan hyvinvointiin nupoutuksessa | 13 |
| 5.4 Puudutusaineiden käyttö nupoutuksessa..... | 14 |
| 5.5 Tulehduskipulääkkeen vaikutus vasikan hyvinvointiin nupoutuksessa..... | 16 |
| 6 AINEISTO JA MENETELMÄT | 19 |
| 7 TULOKSET..... | 22 |
| 8 POHDINTA | 30 |
| 8.1 Päätelmät..... | 34 |
| LÄHTEET | 36 |

1 JOHDANTO

Tässä eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielmassa verrataan polttonupoutuksen ja emäksisen pastanupoutuksen paranemista histopatologisesti sekä pohditaan löydösten perusteella nupoutuksen vaikutusta vasikan hyvinvointiin. Nupouttaminen tarkoittaa alle kahden kuukauden ikäisen vasikan sarvenaiheen tuhoamista. Nupouttaminen helpottaa eläinten käsittelyä ja sarvettomat eläimet ovat turvallisempia muille eläimille ja navetan työntekijöille kuin sarvelliset eläimet (Weaver ym. 2005). Nupouttaminen vähentää eläinten aggressiivista käyttäytymistä, jolloin eläinten tappelut ja niistä johtuvat vammat vähenevät (Weaver ym. 2005, Stock ym. 2013). Päinvastaisista väitteistä huolimatta jo pikkuvasikoiden kivuntunto on kehittynyt ja nupouttamisessa on käytettävä kivunlievitystä (Graft & Senn 1999). Emäksisellä pastalla nupouttaminen aiheuttaa kipua ainakin kolmen tunnin ajan heti nupoutuksen jälkeen, ja pastan kipuvaikutus kestää pidempään kuin polttonupoutuksen kipuvaikutus (Stilwell ym. 2009).

Nupoutusikäisellä vasikalla sarvenaihe on kasvanut noin 5–10 mm ohimosta ulospäin ja se voidaan poistaa esimerkiksi emäksisellä pastalla tai polttamalla (Stock ym. 2013). Vanhemmalla yli puolen vuoden ikäisellä vasikalla sarvi on luutunut otsaluuhun ja sarvet on poistettava amputoimalla esimerkiksi sahaamalla (Stock ym. 2013). Suomessa valtioneuvoston asetuksen (VNa 592/2010) mukaan alle neljän viikon ikäisen naudan sarven aiheen saa tuhota kylmä- tai kuumapoltoilla Samaisessa asetuksessa todetaan, että kuumapoltoa käytettäessä polttoraudan on oltava koko polton ajan punahehkuinen ja polton aikana on estettävä vasikan pään liikkuminen. Kumpaakin puolta saa polttaa vain kerran ja enintään 20 sekunnin ajan (VNa 592/2010). Australiassa ja Uudessa-Seelannissa nupoutuksesta säädetään eläinten hyvinvointia koskevassa laissa (Stock ym. 2013). Euroopan unionin lainsäädäntö ei vaadi kivunlievitystä nupoutuksen yhteydessä. Kanadassa käytännön opas Dehorning of Calves – factsheet neuvoo käyttämään rauhoitusainetta, paikallispuudutetta ja tulehduskipulääkettä nupoutuksen yhteydessä (Stock ym. 2013). Yhdysvalloissa lääkityksen käyttöä suositellaan, mutta lainsäädännössä ei ole säädetty sen käytöstä (Stock ym. 2013). Useissa tutkimuksissa on pohdittu rauhoitusaineen, paikallispuudutuksen ja tulehduskipulääkkeen vaikutusta vasikan tuntemaan nupoutuksen jälkeiseen kipuun (Stock ym. 2013). Tutkimuksissa

kivun mittareina on käytetty eläimen käyttäytymismuutoksia, fysiologisia muutoksia ja neuroendogeenisiä merkkejä (Stock ym. 2013).

2 NAUDAN SARVEN KEHITYS

Normaali iho muodostuu epidermiksestä, dermiksestä, ihonalaiskudoksesta ja ihon elimistä. Epidermis muodostuu viidestä kerroksesta, joista ensimmäinen on kuutioepiteeliä ja loput neljä kerrosta levyepiteeliä. Alin epidermoksen kerros on tyvikalvo, johon stratum basalen kuutiomaiset uusia ihosoluja tuottavat kantasolut kiinnittyvät. Seuraava kerros on nimeltään stratum spinosum, jossa on okasoluiksi kutsuttuja soluja ja ne ovat ulokkeidensa kautta kiinni toisissaan. Kolmannessa kerroksessa on keratohyaliiniytyä sisältäviä epiteelisoluja ja sen takia kerrosta kutsutaan stratum granulosumiksi. Neljäs kerros on vain paksussa ihossa, sitä kutsutaan stratum lucidumiksi ja sen ajatellaan olevan ylimmän kerroksen stratum corneumin alaosa. Stratum corneum muodostuu keratinisoituneista epiteelisoluista (Ross & Pawlina 2006). Dermis kiinnittyy epidermikseen ihon suuntaisen tyvikalvon välityksellä ja syvemmällä dermiksessä on pääasiassa tyypin 1 kollageenia ja elastisia säikeitä (Ross & Pawlina 2006, Mauldine & Peters-Kennedy 2016). Subcutiksessa eli ihonalaiskerroksessa on rasvakudosta ja sileää lihaskudosta. Epidermiksessä olevia elimiä ovat karvat, karvatupet, hikirauhaset ja talirauhaset. Erikoistuneesta ihosta muodostuvat esimerkiksi kynnet ja sarvet (Ross & Pawlina 2006).

Naudan sarvet koostuvat ontosta luisesta ytimestä ja sen peittämästä erikoistuneesta ihosta (Hall 2005, Reese ym. 2009). Sarvea peittävä keratinisoitunut epiteeli on karvaton, eikä siinä ole ihon apuelimiä (Reese ym. 2009). Nämä keratinisoituneet solut muodostavat sarven dermoksen päälle tupen (McGeady ym. 2006, Reese ym. 2009). Sarven ihossa ei ole ihonalaiskudosta, vaan dermis on suoraan kiinni sarven luukalvossa muodostamiensa papillojen välityksellä. Sarven luinen ydin on kiinnittynyt otsaluuhun ja otsaontelo avautuu sarven sisään muodostaen sarven sisään ontelon (Reese ym. 2009). Uusi sarviaines muodostuu sarven tupen juuressa olevasta pehmeämmästä

epidermiksen osasta, jota kutsutaan epikerakseksi (McGeady ym. 2006, Reese ym. 2009). Sarvi kasvaakin vain juurestaan ja uusi sarviaines työntää vanhaa ainesta sarven kärkeä kohti. Tämän takia kasvu tapahtuu pääasiassa papillojen suuntaisesti, joten sarvi kasvaa enemmän pituutta kuin paksuutta (Reese ym. 2009).

Vasikan sarven kehitys alkaa toisen tiineyskuukauden lopulla epidermiksen solujen lisääntyessä sikiön pään etuosassa. Sarven kehitys jatkuu uudelleen vasikan syntymän jälkeen (McGeady ym. 2006). Vastasyntyneellä vasikalla sarvenaiheen kohdan voi tunnistaa ohimoiden pidemmistä ja kaartuvista karvoista. Karvojen alla voi tuntea pienen karvattoman nyppylän (McGeady ym. 2006, Reese ym. 2009). Sarvenaiheen epiteelissä on aluksi hiki- ja talirauhasia. Kuukausi vasikan syntymän jälkeen sarven aiheen epidermiksen karvat ja rauhaset atrofoituvat eli surkastuvat ja epidermis alkaa muodostaa sarven keratiinia ja luuta (McGeady ym. 2006). Vuohilla tehdyn tutkimuksen mukaan sarven luisen ytimen kasvu ei ala otsaluusta, vaan se alkaa erillisenä rustoisena kudosjuosteena ihon alaisessa sidekudoksessa (Hall 2005). Sarvenaiheen alueen epidermis aktivoi osteoblastit eli luuta muodostavat solut ympäröimään tätä rustoista kudosjuostetta ja luun kasvu käynnistyy (Hall 2005, Reese ym. 2009). Erikoistuneet epiteelisolut, keratinosyytit, muodostavat keratiinia, joka kerääntyy epidermikseen ja luupalan kasvaessa keratiini kasaantuu ja pitenee työntäen samalla aiemmin muodostunutta keratiinia ylöspäin (Hall 2005). Sarvenaiheen dermis muodostaa papilloja sarvenaiheen luukudoksen ja otsaluun periosteumin eli luukalvon kanssa, jonka jälkeen sarven luu yhdistyy otsaluuhun (Frandsen ym. 2003). Vasikan ollessa 3 – 6 kuukauden ikäinen sarviontelo avautuu ja yhdistyy otsaonteloon (Frandsen ym. 2003, Reese ym. 2009). Ontelo kasvaa sarven kärkeä kohti kunnes koko sarvi on ontto aivan kärkeä lukuun ottamatta (McGeady ym. 2006, Reese ym. 2009).

3 NUPOUTUSMENETELMIEN TOIMINTATAPA JA AIHEUTETTU VAMMA

Kaikki nupoutustavat aiheuttavat kudostuhoa jollakin tavalla (Graft & Senn 1999). Sarven kasvamisen voi estää tuhoamalla sarvenaiheen alueen ihon vasikan ollessa alle

kahden kuukauden ikäinen, sillä sarvenaiheen iho säätelee sarven kasvua. Sarvenaiheen iho voidaan tuhota leikkaamalla se pois, polttamalla tai käyttämällä syövyttävää ainetta. Vanhemmalla vasikalla ja aikuisella naudalla koko sarvi on poistettava sarven kasvun estämiseksi (Frandsen ym. 2003).

3.1 Poltto

Poltonupoutuksessa käytetään tavallisimmin sähköllä tai kaasulla lämpenevää nupoutuskolvia. Kuuma rauta painetaan sarvenaiheen päälle ja pidetään sarvenaiheen päällä pyöritellen niin pitkään, että sarvenaiheen ihon reunat irtoavat ja sarvea kasvattava epidermis saadaan kokonaan irtoamaan sarvenaiheen päältä. Polton jälkeen polttoalueen reunoilla on kolvin reunasta tullut syvempi rengas ja sen keskellä rustoinen otsaluusta ulospäin työntyvä muodostuma (Weaver ym. 2005).

Palovammat jaetaan neljään eri luokkaan riippuen vamman syvyydestä. Ensimmäisen asteen palovammassa vaurio rajoittuu vain epidermisen alueelle. Epidermis punottaa, edeemaa eli turvotusta saattaa esiintyä dermisen reaktion takia, mutta solut pysyvät ehjinä. Toisen asteen palovamma aiheuttaa muutoksia epidermiseen ja osaan dermistä. Epidermiseen syntyy koagulaationekroosia eli hyytymiskuoliota ja nesterakkuloita. Dermis reagoi voimakkaammin kuin ensimmäisen asteen palovammassa. Dermis punoittaa ja dermiseen syntyy edeemaa. Kolmannen asteen palovamma aiheuttaa koagulaationekroosia koko epidermisen ja dermisen läpi. Neljännen asteen palovamma aiheuttaa dermisen alaisiin kudoksiin koagulaationekroosia ja vauriota (Mauldine & Peters-Kennedy 2016). Poltonupoutuksesta aiheutuva kolmannen asteen palovamma voi aiheuttaa kudostuhoa epidermisen ja dermisen lisäksi ihonalaiskudokseen, lihaskudokseen ja luukudokseen (de Vasconcelos Catão ym. 2015, Mauldine & Peters-Kennedy 2016). Palovamman kudosvaurio pahenee alueella kemiallisten ja mekaanisten tekijöiden vaikutuksesta (Shupp ym. 2010). Palovammassa suora lämpövaurio aiheuttaa leesioita eli vamman keskelle koagulaatioaluetta. Tällainen alue syntyy proteiinien palautumattomasta denaturaatiosta eli proteiinien kolmiulotteisen rakenteen muuttumisesta (Keck ym. 2009, Palao ym. 2010, Shupp ym. 2010). Koagulaatioalueelle syntyy koagulaationekroosia verenkierron puutteen takia (Shupp ym. 2010). Koagulaatioaluetta ympäröivä staasiaalue syntyy alentuneesta kudosperfuusiosta eli verenkierrosta, vasokonstriktiosta eli verisuonten supistumisesta

ja soluvaurioista (Keck ym. 2009, Palao ym. 2010, Shupp ym. 2010). Staasialue voi nekrotisoitua tulehduksen, edeeman ja hypoperfuusion vaikutuksesta (Keck ym. 2009). Staasialueen reunoille syntyy hypereminen eli verkäs alue tulehdusvälittäjäaineiden ja vasodilataation eli verisuonten laajenemisen vaikutuksesta (Keck ym. 2009, Shupp ym. 2010). Hypereminen alue paranee täysin (Keck ym. 2009).

Palovamman aiheuttama kudostuho voi laajentua jopa kaksi viikkoa vaurion syntymisen jälkeen (Shupp ym. 2010). Verisuoniin syntyy tromboosia eli ne tukkeutuvat hyperkoagulaation vaikutuksesta ja neutrofiilisten granulosyyttien kerääntyessä dermoksen verisuoniin (Mauldine & Peters-Kennedy 2016, Shupp ym. 2010). Verisuonten läpäisevyys lisääntyy kohonneen interstitiellipaineen eli verisuonten sisäisen paineen noustessa ja endoteelisolujen vaurion vuoksi (Shupp ym. 2010). Verisuonten vaurion johdosta kudokseen syntyvä edeema aiheuttaa hypoksiaa eli hapen puutetta ja hypoperfuusiota, jotka pahentavat ihon ylempien kerrosten vauriota (Mauldine & Peters-Kennedy 2016, Keck ym. 2009, Shupp ym. 2010). Ensimmäisen tunnin aikana palovamman syntymisestä vaurioituneeseen kudokseen kerääntyy nopeasti nestettä. Ensimmäisen vuorokauden ajan vamman syntymisestä vaurioituneeseen ja terveeseen kudokseen kertyy edelleen lisää nestettä (Keck ym. 2009). Pidentyneen tulehdusreaktion vuoksi kudokseen kertyy sytotoksisia sytokiineja ja vapaita radikaaleja, jotka pahentavat kudovauriota aiheuttamalla solujen nekroosia (Shupp ym. 2010). Dermoksen sidekudos turpoaa ja sen alueelle syntyy akuutti tulehdusreaktio. Ihonalaiskudokseen syntyy vaskuliitti eli verisuonitulehdus. Lopulta nekroottinen eli kuoliainen kudoksesta irtoaa terveestä ihosta, haava peittyy granulaatio- eli arpikudoksella ja ihoon jää pysyvä arpi (Mauldine & Peters-Kennedy 2016, Shupp ym. 2010).

3.2 Emäksinen pasta

Nuorilla vasikoilla nupoutukseen voidaan käyttää emäksistä pastaa, joka on tavallisimmin natriumhydroksidia (NaOH) tai kaliumhydroksidia (KOH). Toimenpiteessä karvat leikataan vasikan sarvenaiheen päältä ja ympäriltä, ympäröivä iho suojataan esimerkiksi vaseliinilla, pasta annostellaan sarvenaiheen päälle ja jätetään vaikuttamaan (Weaver ym. 2005). Ilman rauhoitusta ja puudutusta eläimet liikkuvat vähemmän pastan annostelun aikana kuin sarvenaiheen polttamisen aikana, joten pastan

laittamista pidetään turvallisena toimenpiteenä sekä eläimelle että nupoutuksen tekijälle (Stilwell ym. 2009). Kemiallisessa vammassa emäs rikkoo ihon ylimmän solukerroksen eli stratum corneumin suojan sekä sen solujen liitoksia (Mauldine & Peters-Kennedy 2016). Emäs aiheuttaa epidermikseen, dermikseen ja ihonalaiskudokseen syvemmän kemiallisen palovamman kuin happo. Sioilla, joilla on paksu iho, sen on todettu johtavan koko epidermiksen nekroosiin ja dermiksen pinnalliseen nekroosiin (Stilwell ym. 2009). Emäksisen kemikaalin pH:n ollessa korkeampi kuin 11,5 se aiheuttaa kollikvaationekroosia eli liukenemiskuoliota ja sitä alemmilla pH-arvoilla koagulaationekroosia (Palao ym. 2010, Advenier ym. 2014).

Nupoutuspastan pH on lähes 13 ja on niin emäksistä, että se aiheuttaa ihossa kollikvaationekroosia, rasvan vaahtoutumista ja proteiinien denaturoitumista, joiden vaikutuksesta kemikaali pääsee syvemmälle kudokseen. Pastan kudosta tuhoava vaikutus kestää niin pitkään, kun aktiivista ainetta on kosketuksissa elävään kudokseen (Stilwell ym. 2009, Palao ym. 2010, Advenier ym. 2014). Proteiinien denaturaatio alkaa emäksisessä vammassa koagulaationa. Proteiinien kolmiulotteinen rakenne muuttuu ja jatkuu syvemmällä kudoksessa hydrolyysinä eli proteiini hajoaa ja siitä irtoaa yksi vesimolekyylä. Emäkset hajottavat proteiineja ja muodostavat niiden kanssa hyvin liukenevia yhdisteitä, jotka aiheuttavat syvemmälle kudokseen kudostuhoa ja kollikvaationekroosia. Hydrolyysi ja rasvojen vaahtoutuminen vapauttaa runsaasti energiaa ja emäksisessä vammassa voi tämän takia olla myös palovammamuutoksia. Ihoa suojaavan rasvakerroksen tuhoutuessa häviää myös ihon suoja vesiliukoisia aineita vastaan ja emäs pääsee ihon syvempiin kerroksiin. Emäkset vetävät voimakkaasti soluista vettä kudokseen aiheuttaen voimakasta kudostuhoa ja solukuolemia (Palao ym. 2010).

Maibach & Hall (2014) ovat tutkineet emäksen aiheuttamaa kudostuhoa histologisesti laboratoriossa eli ex vivo–kasvatetun kudoksen avulla. Aluksi stratum corneum paksuuntuu, kun iho joutuu kosketuksiin natriumhydroksidin kanssa. Neljän minuutin kuluttua leesion synnystä stratum corneumin keskelle ilmestyy vako vammasta erittyvän nesteen heikennettyä stratum corneumia tarpeeksi (Mauldine & Peters-Kennedy 2016, Maibach & Hall 2014). Tunnin sisällä leesion synnystä stratum corneum tuhoutuu korneosyyttien solukalvojen hajottua stratum corneumin yläosassa. Epiteelirakenne on kuitenkin vielä ehjä. Kahden tunnin kuluttua vamman synnystä koko stratum corneum

on hajonnut, eikä epidermiksessä tai papillaarisessa dermiksessä ole eläviä soluja (Maibach & Hall 2014).

4 NUPOUTUSVAMMOJEN PARANEMINEN

4.1 Viiltohaavan paraneminen esimerkkinä yleisistä paranemismekanismeista
Viiltohaavan paranemiseen liittyy fysiologisia, kemiallisia ja soluvälitteisiä tapahtumia, jotka korvaavat vaurioituneen kudoksen kollageenilla. Steriileissä olosuhteissa tehty viiltohaava paranee nopeasti muodostaen vähän arpikudosta. Paranemisessa on neljä hyvin tunnettua vaihetta tulehdus-, puhdistus-, korjaus- ja kypsymisvaihe, jotka voivat olla yhtä aikaa haavassa käynnissä. MacPhail (2013) käsittelee vaiheet tiivistetysti.

Tulehdusvaihe alkaa välittömästi haavan syntymisestä ja se jatkuu noin viiden päivän ajan. Tänä aikana tulehdusvälittäjäaineiden aiheuttama tulehdus suojelee kudosta alkavalta vauriolta. Verenvuoto puhdistaa ja täyttää haavan, verenvuoto kestää noin 5 – 10 minuuttia vähentyen koko ajan verisuonten supistuessa. Verenvuodon tyrehtyttyä verisuonet laajenevat katekoliaamiinien, serotoniinin, bradykiniinin ja histamiinin vaikutuksesta ja haavaan vuotaa fibrinogeeniä ja hyytymistekijöitä. Vaurioituneista soluista vapautuva tromboplastiini käynnistää hyytymismekanismiin.

Hyytymismekanismi ja verihiutaleet hyydyttävät veren ja muodostavat haavaan tulpan, joka estää verenvuotoa, paikallistaa tulehduksen tukkimalla imusuonet ja liimaavat haavan reunat yhteen. Tulppa suojaa haavaa ulkoa tulevalta infektiolta. Verihiutaleista vapautuu kasvutekijöitä ja aineita, jotka houkuttelevat tulehdussoluja haavaan. Verihiutaleet, mastsolut ja makrofagit tuottavat kasvutekijöitä ja sytokiinejä, jotka käynnistävät paranemisen (MacPhail 2013).

Puhdistumisvaihe alkaa, kun haavaan tulleet lymfosyytit, neutrofiiliset granulosyytit ja makrofagit aloittavat haavan puhdistamisen kuolleesta kudoksesta. Neutrofiiliset granulosyytit lisääntyvät haavassa 2–3 päivässä. Ne estävät infektiota sekä fagosytoivat organismeja ja kudosta. Neutrofiiliset granulosyytit tuottavat entsyymejä ja myrkyllisiä happiyhdisteitä, jotka hajottavat bakteereja ja nekroottista kudosta sekä stimuloivat eli

aktivoivat makrofageja. Verestä tulleet monosyytit muuttuvat kudoksessa makrofageiksi, jotka syntetisoivat kasvutekijöitä ja osallistuvat uuden kudoksen syntymiseen ja muotoutumiseen, poistavat nekroottista kudosta sekä fagosytoivat bakteereja ja vierasta materiaalia. Makrofagit käynnistävät ja säätelevät granulaatiokudoksen muodostumista ja stimuloivat angiogeneesiä eli uusien verisuonten kasvamista. Leukosyytit nopeuttavat ja parantavat haavan paranemista (MacPhail 2013).

Korjausvaihe alkaa 3–5 päivää haavan syntymisen jälkeen. Makrofagien tuottamat kasvutekijät stimuloivat DNA:n ja fibroplastien erikoistumisen. Sytokiinit aktivoivat soluväliaineen kanssa fibroplastien siirtymistä haavaan ympäröivän sidekudoksen mesenkyymisoluihin fibriinitulpan fibriinisäikeitä pitkin. Uudet verisuonet ja imusuonet seuraavat fibroplasteja tulehdusvaiheen loppumisen jälkeen. Sytokiinit aktivoivat uusien suonien kasvua jo olemassa olevista suonista. Fibroplastit tuottavat kollageenia, elastiinia ja proteoglykaania, joista kehittyy haavan täyttävä sidekudos. Kollageenin ohjaamana uudet verisuonet ja sidekudos muodostavat punaisen ja lihaisan granulaatiokudoksen 3–5 päivän kuluttua haavan syntymisestä. Granulaatiokudos täyttää ja suojelee haavaa sekä toimii alustana epiteelisolujen migraatiolle eli solujen siirtymiselle haavan päälle. Eitelisaatio alkaa granulaatiokudoksen muodostumisen jälkeen noin 4–5 päivän kuluttua. Aluksi epiteelisolut muodostavat yhden kerroksen koko haavan peitoksi ja uusia kerroksia muodostuu tyvikalvon kasvettua. Haavan venytyksen kesto kasvaa kollageenin lisääntyessä ja fibriinin vähentyessä. Haava kestää venytystä eniten 2–3 viikkoa vaurion synnyn jälkeen, jolloin korjausvaihe on loppuillaan. Osa karvafollikkeleista ja hikirauhasista voi kasvaa takaisin riippuen haavan syvyydestä. Granulaatiokudokseen vaeltavat myofibroplastit supistavat haavaa ja kollageeni reorganisoituu. Haava on merkittävästi pienempi jo 5–9 päivän kuluttua. Haavan supistuminen venyttää ympäröivää ihoa (MacPhail 2013).

Haavan paranemisen viimeinen vaihe on kypsymisvaihe. Kypsymisvaihe alkaa, kun kollageenia on kerääntynyt haavaan tarpeeksi. Haavan kestävyys lisääntyy kollageenin muuttuessa tyypin 3 kollageenista tyypin 1 kollageeniksi. Lopullinen arpi on kalpeampi ja matalampi kuin muu iho ja sillä on vain noin 80 % terveen ihon vahvuudesta. Haavan lopullinen kypsyminen voi jatkua jopa vuosia (MacPhail 2013).

4.2 Palovamman paraneminen

Palovamman paraneminen alkaa fyysisen ärsykkeen poistuessa iholta (Advenier ym. 2014). Palovamman paranemiseen vaikuttavat useat kasvutekijät, magrofagit ja fibroblastit (Shupp ym. 2010).

Kolme päivää kolmannen asteen palovamman syntymisestä leesion kohdalla histologisissa näytteissä koagulaationekroosi yltää ihonalaiskudokseen (Garcia ym. 2010). Leesion kohdalla ja reunoilla on voimakasta akuuttia tulehdusta. Keskellä leesiota ihonalaiskudoksen löysässä sidekudoksessa on lymfosyyttistä tulehdusta (Garcia ym. 2010, de Vasconcelos Catão ym. 2015). Leesion kohdalla verisuonet ovat voimakkaasti dilatoituneet ja paikoin verisuonten ympärillä on lymfosyyttikertymiä (de Vasconcelos Catão ym. 2015). Uutta kollageenia ja uusia verisuonia on muodostunut vähän terveeseen sidekudoksen alueelle, mutta re-epitelisaatiota eli uusia epiteelisoluja ei ole havaittavissa (Garcia ym. 2010).

Viikon kuluttua kolmannen asteen palovamman syntymisestä leesion alueella histologisissa näytteissä on voimakasta tai kohtalaista akuuttia tulehdusta sekä lievää tai kohtalaista kroonista tulehdusta (Garcia ym. 2010). Neutrofiilisiä granulosityttejä on nähtävissä leesion reunoilla ja keskellä. Leesion keskialueella tulehdus on keskittynyt ihonalaiskudoksen löysään sidekudokseen. Verisuonet ovat voimakkaasti dilatoituneet ja osittain lymfosyytit ympäröivät niitä (de Vasconcelos Catão ym. 2015). Uuden kollageenin ja uusien verisuonten muodostuminen on hajanaista ja vähäistä. Re-epitelisaatio ei ole alkanut (Garcia ym. 2010).

Kaksi viikkoa kolmannen asteen palovamman syntymisestä histologisissa näytteissä akuutti tulehdus on lievää ja krooninen tulehdus on kohtalaista (Garcia ym. 2010). Leesion alueella on lymfosyyttejä, makrofageja ja neutrofiilisiä granulosityttejä (de Vasconcelos Catão ym. 2015). Neutrofiiliset granulositytit sijaitsevat erityisesti leesion pinnalla, (de Vasconcelos Catão ym. 2015). Makrofagien infiltroituessa eli siirtyessä ihonalaiskudokseen kudos alkaa fibrotisoitua eli haavaan muodostuu sidekudosta (Mauldine & Peters-Kennedy 2016). Uutta kollageenia syntyy juosteiksi solujen väliin (Garcia ym. 2010, de Vasconcelos Catão ym. 2015). Leesion keskellä ja reunoilla sidekudos ympäröi kongestoituneita verisuonia (Garcia ym. 2010). Leesion alueelle sekä reunoille on muodostunut granulaatiokudosta. Vaurion päällä on selvä rupi (de Vasconcelos Catão ym. 2015). Re-epitelisaatio on alkanut ja uudet epiteelisolut

peittävät alle puolet leesioalueesta (Garcia ym. 2010, de Vasconcelos Catão ym. 2015).

Kolme viikkoa kolmannen asteen palovamman syntymisestä leesioalueella histologisissa näytteissä on neutrofiilisiä granulocyteja, lymfosyyttejä ja makrofageja. Koko leesioalueelle on muodostunut granulaatiokudosta. Uusia verisuonia ja nuoria fibroplasteja ympäröivät pidentyneet ja paksuuntuneet kollageenisäikeet. Re-epitelisaatio on alussa ja leesiota peittää rupi (de Vasconcelos Catão ym. 2015).

4.3 Kemiallisen palovamman paraneminen

Kemiallisen vaurion paranemisen nopeus riippuu vaurion aiheuttaneesta aineesta ja sen määrästä (Naumov ym. 2009). Kemiallisen vamman paraneminen käynnistyy, kun syövyttävä aine on inaktivoitu tai neutralisoitu vaurioalueelta (Advenier ym. 2014).

Viisi päivää emäksisen vamman syntymisen jälkeen leesioalueella histologisissa näytteissä on nekroottista kudosta. Epidermis, karvafollikelit ja dermis ovat täysin tuhoutuneet leesioalueelta (Naumov ym. 2009).

Yksitoista päivää leesioalueen syntymisen jälkeen nekroottinen epidermis värjäytyy histologisissa näytteissä voimakkaasti, eivätkä sen solut ole tunnistettavissa. Epidermisen pinnalla on homogeenisesti värjäytyvä fibrinoottinen massa. Dermiksen ja epidermisen rajalla on fibroblasteja. Karvafollikelit ovat epämuodostuneita (Naumov ym. 2009).

Viisitoista päivää leesioalueen syntymisen jälkeen otetuissa histologisissa näytteissä nekroottinen epidermis värjäytyy edelleen voimakkaasti ja karvafollikelit ovat tuhoutuneet. Leesion reunoilla on havaittavissa vähäistä re-epitelisaatiota (Naumov ym. 2009).

5 NUPOUTUKSEN VAIKUTUS VASIKAN HYVINVOINTIIN

Broom (1991) määrittelee eläinten hyvinvoinnin mitattavana ominaisuutena ja yksilön suhtautumisena elinympäristöönsä. Eläimillä on tiettyjä tarpeita ympäristönsä suhteen. Jonkin tarpeen puuttuessa eläin voi sopeutua, mutta se aiheuttaa eläimelle epämukavuutta ja heikentää eläimen hyvinvointia. Eläimen heikentynyt hyvinvointi hidastaa kasvua ja alentaa sen odotettua elinikää (Broom 1991). Nupoutuksesta aiheutuva ihovaurio aiheuttaa naudalle kipua ja stressiä (Radostits ym. 2007). Kipu määritellään epämiellyttävänä aistina tai tunteena, joka liitetään mahdolliseen kudოსvaurioon (Neave ym. 2013). Ihoon syntyvä vaurio aiheuttaa tuntohermojen depolarisaation ja aktiopotentialin, ja tämä tuntohermosolujen aktivoituminen tunnetaan kipuna (Radostits ym. 2007). Nupoutuksen jälkeistä kipua voidaan tutkia seuraamalla eläimen käyttäytymismuutoksia ja mittaamalla fysiologisia muutoksia (Radostits ym. 2007, Stock ym. 2013). Käyttäytymismuutokset, kuten korvien heiluttelu ja pään hankaaminen, voivat jatkua jopa 72 tuntia nupoutuksen jälkeen (Stock ym. 2013). Kipua voidaan helpottaa muutamia tunteja nupoutuksen jälkeen paikallispuudutteella ja jopa päivien ajan tulehduskipulääkkeellä (Radostits ym. 2007).

5.1 Käyttäytymismuutokset

Käyttäytymismuutoksia tutkitaan usein kivun yhteydessä (Stock ym. 2013). Käyttäytymismuutosten yhdistäminen fysiologisten parametrien mittaamiseen on hyvä tapa arvioida eläimen kipua (Stilwell ym. 2009). Käyttäytymismuutokset saattavat olla kuitenkin herkempi tapa mitata kipua verrattuna fysiologisiin muutoksiin (Stock ym. 2013). Esimerkiksi fysiologisista parametreista plasman kortisolipitoisuus vaihtelee paljon vuorokauden aikana ja se riippuu myös eläimen iästä sekä fyysisestä kunnosta (Sjaastad ym. 2010, Stock ym. 2013). Vasikan lisääntyneellä pään pyöryksellä ja hankaamisella, korvien heilutuksella, asennonmuutosten määrällä ja ääntelyllä voidaan arvioida nupoutuksen aikaista ja sen jälkeistä kipua (Vickers ym. 2005, Radostits ym. 2007, Stock ym. 2013). Vasikan toimettomana makaaminen, hampaiden narskuttaminen ja vähentynyt syöminen ja itsensä nuoleminen ovat merkittäviä kipuun viittaavia käyttäytymismuutoksia nupoutuksen jälkeen (Radostits ym. 2007, Stock ym. 2013). Vasikan mielialaa on tutkittu nupoutuksen jälkeen. Neave ym. 2013 osoittivat

kognitiivisella menetelmällä, että vasikoilla on negatiivinen mieliala polttonupoutuksen jälkeen ainakin 22 tuntia. Ilman rauhoitus-, puudutus- ja tulehduskipulääkitystä nupoutetut vasikat makaavan enemmän ja niillä esiintyy huomattavasti enemmän korvien heilutusta kuin lääkitykset saaneilla vasikoilla noin kaksi tuntia nupoutuksen jälkeen. Ilman lääkityksiä nupoutetut vasikat heiluttavat enemmän häntäänsä verrattuna lääkittyihin vasikoihin kuusi tuntia nupoutuksen jälkeen (McMeekan ym. 1999). Vasikan käyttäytyminen palautuu normaaliksi noin vuorokauden kuluessa nupoutuksesta. Kaksi päivää nupoutuksen jälkeen lääkityillä ja lääkitsemättömillä vasikoilla ei ole käyttäytymisessä merkittävää eroa (McMeekan ym. 1999, Stock ym. 2013).

Polttonupoutuksen aikana lääkitsemätön vasikka äänтелеe, potkii, heiluu paljon ja voi myös kaatua (Schwartzkopf-Genswein ym. 2005). Nupoutushetkellä polttonupoutetuilla vasikoilla on enemmän kipuun liittyviä käyttäytymismuutoksia kuin pastanupoutetuilla vasikoilla (Stock ym. 2013, Vickers ym. 2005). Nupoutuksen jälkeen polttonupoutetuilla vasikoilla on vähemmän käyttäytymismuutoksia verrattuna pastalla nupoutettuihin vasikoihin (Morisse ym. 1995). Pastanupoutuksessa käyttäytymismuutokset tulevat vasta noin tunnin kuluttua pastan laittamisesta sarvenaiheen päälle (Stock ym. 2013, Vickers ym. 2005). Pastanupoutetuilla vasikoilla hyvä kivunmittari on inertti eli reagoimaton makaaminen ja se viittaa kovaan kipuun ensimmäisinä tunteina nupoutuksen jälkeen (Stilwell ym. 2009).

5.2 Fysiologiset muutokset

Hyviä fysiologisia mittareita eläimen akuutille kivulle ja stressille ovat plasman kortisolipitoisuuden ja sydämen sykkeen nousu (McMeekan 1998, Radostits ym. 2007, Stock ym. 2013). Pastalla nupoutettaessa fysiologiset muutokset ilmenevät vasta tunnin kuluttua pastan laittamisesta ja palautuvat normaaleiksi vuorokauden kuluessa (Stock ym. 2013). Nupoutuskivun vaikutuksista päiväkasvuun ja syötyyn ruuan määrään on ristiriitaista tutkimustietoa, sillä vasta hyvin voimakas ja pitkäkestoinen kipu vähentävät eläimen syömistä (Stock ym. 2013).

Kortisoli on tärkeä lisämunuaiskuoresta erittyvä stressihormoni ja sen pitoisuus veressä nousee nopeasti, kun vasikka kokee stressiä. Kudosvaurion tulehdusreaktio aiheuttaa plasman kortisolipitoisuuden nousua. Kortisoli vähentää ja voi jopa estää kudoksen

tulehdusreaktion kokonaan inhiboimalla eläimen immuunipuolustusta. Kortisoli nostaa veren glukoosipitoisuutta stimuloimalla glukoneogeneesiä, tehostamalla proteiinien ja rasvan pilkkoutumista sekä estämällä DNA- synteesiä. Kortisoli estää glukoosin siirtymistä kudoksiin ja voi pitkällä aikavälillä hidastaa kasvua (Sjaastad ym. 2010). Naudan normaali veren kortisolipitoisuus on 0,2–1,8 mol/l (Schwartzkopf-Genswein ym. 2005). Plasman kortisolipitoisuus alkaa nousta ensimmäisinä minuutteina nupoutuksen jälkeen (Radostits ym. 2007). Ilman rauhoitus-, puudutus- ja tulehduskipulääkitystä nupoutetun vasikan kortisolipitoisuus nousee ensimmäisen 30 minuutin aikana jopa kolmen- tai nelinkertaiseksi normaaliin pitoisuuteen verrattuna (Schwartzkopf-Genswein ym. 2005, Stock ym. 2013). Tunti nupoutuksen jälkeen kortisolipitoisuus alkaa laskea pysyen kuitenkin normaaliarvoja korkeampana (Schwartzkopf-Genswein ym. 2005). Kortisolipitoisuus palautuu normaaliksi 7–8 tunnin kuluttua nupoutuksesta (Stock ym. 2013).

Naudan normaali syke on 60–90 lyöntiä minuutissa. Vasikoilla syke voi olla normaalisti korkeampikin, jopa 120 lyöntiä minuutissa (Schwartzkopf-Genswein ym. 2005,). Naudan syke nousee, kun se kokee stressiä ja nousun uskotaan johtuvan sympaattisen hermoston aktivaatiosta (Schwartzkopf-Genswein ym. 2005, Stock ym. 2013). Ilman tulehduskipu-, rauhoitus- ja puudutuslääkityksiä nupoutetun vasikan sydämen syke kohoaa nopeasti. Syke pysyy korkealla noin kolmen tunnin ajan, jonka jälkeen se alkaa laskea (Schwartzkopf-Genswein ym. 2005).

Naudalla silmän sisänurkassa on runsaasti kapillaareja, joista voidaan havaita lämpötilan muutokset ja mitata ihon lämpötilaa. Sympaattisen hermoston aktivaation aiheuttama ihon kapillaarien vasokonstriktio eli hiussuonten supistuminen on elimistön välitön reaktio stressaavaan tilanteeseen tai kipuun. Vasokonstriktion vaikutuksesta ihon lämpötila laskee ja tätä lämpötilan muutosta voidaan mitata naudnan silmäkulmasta (Stewart ym. 2008).

5.3 Rauhoitusaineen vaikutus vasikan hyvinvointiin nupoutuksessa

Rauhoitusaineen käyttö nupoutuksen aikana estää pakoreaktion, helpottaa vasikoiden käsittelyä ja lievittää jonkin verran kipua (Vickers ym. 2005, Weaver ym. 2005). Naudoilla rauhoitusaineena käytetään yleisimmin α_2 – adrenoseptoriagonisteja, esimerkiksi ksylatsiinia (Weaver ym. 2005, Stock ym. 2013). α_2 –

adrenoseptoriagonistit aktivoivat α_2 – reseptoreita keskushermostossa ja perifeerisissä hermopäätteissä aiheuttaen sedaatiota eli rauhoittumista (Scheinin 2013).

Rauhoitusaineena voidaan käyttää myös opioideja (Stock ym. 2013). Ksylatsiini vaikuttaa rauhoittavasti, mutta sillä ei ole pitkäaikaisia kipua poistavia ominaisuuksia (Stilwell ym. 2010).

Rauhoitusaine ei vähennä vasikan käyttäytymismuutoksia merkittävästi verrattuna lääkitsemättömiin vasikoihin nupoutuksen aikana. Puudutus- ja rauhoitusaineen kanssa vasikka pysyy paremmin paikallaan nupoutuksen aikana, eikä vasikka vedä päätään pois (Grondahl-Nielsen ym. 1999, Stilwell ym. 2010). Rauhoitusaineen saaneilla vasikoilla esiintyy enemmän ääntelyä, pään ja korvien heilutusta kuin puudutus- ja rauhoitusaineen saaneilla vasikoilla (Stilwell ym. 2010).

Vasikoiden sydämen sykkeen nousu vähenee noin kahden tunnin ajaksi, kun vasikoille annetaan pelkkä rauhoitusaine tai rauhoitusaine ja puudutusaine yhdessä (Grondahl-Nielsen ym. 1999). Useimmilla rauhoitusaineilla on plasman kortisolipitoisuuden nousua estävä vaikutus noin 30 minuutin ajan nupoutuksen jälkeen, mutta rauhoitusaineista ksylatsiinilla ei ole havaittu olevan tätä vaikutusta (Grondahl-Nielsen ym. 1999, Stilwell ym. 2010).

5.4 Puudutusaineiden käyttö nupoutuksessa

Naudoilla puudutusaineena voidaan käyttää lidokaiinia, bupivakaiinia, mepivakaiinia tai prokaiinia (Weaver ym. 2005, Radostits ym. 2007, Stock ym. 2013). Tutkimuksissa yleisesti käytetään lidokaiinia. Lidokaiinin vaikutusaika on noin kaksi tuntia.

Bupivakaiinin vaikutusaika on noin neljä tuntia. Puudutusaineet vaikuttavat inhiboimalla hermosolujen nopeita natrium-kanavia ja näin estävät kipuimpulssin etenemisen (Stock ym. 2013). Yleisimmin naudalla käytetään cornua-hermon puudutusta, jolloin puudutus laitetaan otsaluun lateraalisen reunan viereen silmän ja sarvenaiheen puoleen väliin ihon alle, jossa sarvea hermottava nervus cornualis kulkee (Weaver ym. 2005, Stock ym. 2013). Sarven valtimo ja laskimo kulkevat hermon läheisyydessä ja niitä on hyvä varoa puudutusta laitettaessa (Weaver ym. 2005).

Puudutusaineen käyttö ennen nupoutusta vähentää vasikoiden välitöntä kipureaktiota sekä polttonupoutuksessa että pastanupoutuksessa (Morisse ym. 1995). Puudutus ei

vähennä kipua nupoutuksen jälkeen yhtä hyvin pastalla nupoutettaessa kuin polttonupoutuksessa, sillä pastan voimakkein kipuvaikutus tulee vasta myöhemmässä vaiheessa. Pastalla nupotettaessa puudutusaineen heikompi vaikutus voi selittyä myös sillä, että pasta on vahva emäs, joten se voi estää puudutusaineen kipua hillitsevän vaikutuksen muuttamalla kudoksen pH – tasapainoa (Vickers ym. 2005).

Neulanpistolla ei ole havaittu olevan merkitystä eläinten käyttäytymismuutoksien syntyyn (Graft & Senn 1999). Puudutusaineella lääkitseminen ennen nupoutusta vähentää käyttäytymismuutoksia nupoutuksen aikana, sillä ilman puudutusaineen vaikutusta nupoutetut vasikat liikkuvat enemmän kuin puudutetut vasikat (Graft & Senn 1999, Stewart ym. 2008). Puudutusaine vähentää kipukäyttäytymistä heti nupoutuksen jälkeen 2–4 tunnin ajan, riippuen käytetystä aineesta (McMeekan ym. 1999, Stilwell ym. 2009). Puudutusaine ei poista kaikkia nupoutuksen jälkeisiä käyttäytymismuutoksia, mutta se vähentää käyttäytymismuutoksia lääkitsemättömiin vasikoihin verrattuna (Morisse ym. 1995, Stilwell ym. 2009). Puudutusaineen vaikutuksen aikana eli noin 2–4 tunnin ajan vasikoilla esiintyy vähemmän pään ja korvien heilutusta, vasikat liikkuvat enemmän ja makaavat vähemmän puuduttamattomiin vasikoihin verrattuna (Graft & Senn 1999, McMeekan ym. 1999, Stewart ym. 2008, Stilwell ym. 2009). Puudutusaineen tehon hävittyä vasikoilla alkaa esiintyä kipukäyttäytymistä (Stilwell ym. 2009). Esimerkiksi korvien ja pään heilutus sekä inertti makaaminen lisääntyvät, mutta kipukäyttäytymistä on vähemmän kuin puuduttamattomilla vasikoilla (Graft & Senn 1999, McMeekan ym. 1999, Stilwell ym. 2009). Puudutusaine ja tulehduskipulääke yhdessä vähentävät vasikoiden kipukäyttäytymistä paremmin kuin ainoastaan puudutusaineen käyttö (Stilwell ym. 2009). Neljä tuntia nupoutuksen jälkeen puudutusaineen saaneet vasikat makaavat enemmän kuin puudutusaineen ja tulehduskipulääkkeen saaneet vasikat (McMeekan ym. 1999).

Neulanpistolla ei ole merkittävästi vaikutusta plasman kortisolipitoisuuteen (Graft & Senn 1999). Puudutusaine vähentää vasikoiden plasman kortisolipitoisuuden nousua noin 1,5 tuntia, mutta ei estä sitä kokonaan (Graft & Senn 1999, Stilwell ym. 2009). Puudutusaineen vaikutuksesta plasman kortisolipitoisuuteen ei ole juuri eroa eri nupoutustapojen välillä, mutta pastalla nupoutettujen vasikoiden kortisolipitoisuudet laskevat nopeammin kuin polttamalla nupoutettujen vasikoiden (Morisse ym. 1995). Puudutteen vaikutuksen loputtua noin kolme tuntia nupoutuksen jälkeen

kortisolipitoisuus nousee korkeaksi, mutta palaa pian normaaliksi (Graft & Senn 1999, Stilwell ym. 2009).

Vasikoilla, jotka ovat saaneet puudutusaineen ja tulehduskipulääkkeen, plasman kortisolipitoisuudet pysyvät tasaisena myös puudutusaineen tehon loppumisen jälkeen. Plasman kortisolipitoisuudet ovat korkeammat vasikoilla, jotka ovat nupoutettu puudutusaineen kanssa tai ilman puudutusainetta kuin puudutusaineen ja tulehduskipulääkkeen saaneilla vasikoilla (Stilwell ym. 2009).

Ilman puudutusainetta nupoutetun vasikan silmäkulman lämpötila laskee välittömästi nupoutuksen jälkeen. Puudutuksen saaneilla vasikoilla ei ole havaittavaa lämpötilan laskua silmäkulmassa heti nupoutuksen jälkeen. Viiden minuutin kuluttua nupouttamisesta silmäkulman lämpötila nousee puuduttamattomilla ja puudutusaineen saaneilla vasikoilla (Stewart ym. 2008). Puudutusaineen saaneet vasikat syövät paremmin kuin puuduttamattomat vasikat. Puudutusaineen tehon loppumisen jälkeen puuduttamattomilla ja puudutusaineen saaneilla vasikoilla ei ole merkittäviä eroja syömisen suhteen (Graft & Senn 1999).

5.5 Tulehduskipulääkkeen vaikutus vasikan hyvinvointiin nupoutuksessa

Tulehduskipulääkkeiden kipua ja tulehdusta lievittävä vaikutus perustuu niiden syklo-oksigenaasi-entsyymiä inhiboivaan vaikutukseen, jolloin kipua ja tulehdusta aiheuttavien prostanoidien tuotanto estyy (Moilanen & Kankaanranta 2013). Nupoutuskipua tutkivissa tutkimuksissa on käytetty tulehduskipulääkkeenä esimerkiksi ketoprofeenia, karprofeenia, fluniksiini-meglumiinia ja meloksikaamia (Faulkner ym. 2000, Heinrich ym. 2009, Stock ym. 2013). Tulehduskipulääke vähentää kipuvastetta yksin annettuna ja puudutusaineen tehon loputtua (Stewart ym. 2009).

Tulehduskipulääke ei yksin vaikuta voimakkaasti vasikoiden kipukäyttäytymisen vähenemiseen, mutta se vähentää korvien ja hännän heilutusta lääkitsemättömiin vasikoihin verrattuna (McMeekan ym. 1999, Milligan ym. 2004, Duffield ym. 2010). Nupoutuksen jälkeen tulehduskipulääkkeellä ei ole vaikutusta vasikan pään heiluttamiseen ja hankaamiseen (Duffield ym. 2010). Seisomis- tai syömiskäyttäytymisissä ei ole eroa tulehduskipulääkkeen saaneilla ja lääkitsemättömien

vasikoiden välillä. Tulehduskipulääkkeen saaneet vasikat eivät hyppele eivätkä märehdi neljä tuntia nupoutuksen jälkeen (McMeekan ym. 1999, Duffiled ym. 2010).

Nupoutuksen yhteydessä annettu puudutusaine ja tulehduskipulääke yhdessä vähentävät kipuun liittyviä käyttäytymismuutoksia verrattuna pelkän tulehduskipulääkkeen saaneisiin vasikoihin (McMeekan ym. 1999). Puudutusaineen vaikutuksen hävittyä tulehduskipulääkkeen ja puudutusaineen saaneilla vasikoilla esiintyy vähemmän käyttäytymismuutoksia kuin lääkitsemättömillä, tulehduskipulääkkeen tai puudutusaineen saaneilla vasikoilla (Duffiled ym. 2010). Tulehduskipulääkkeen ja puudutusaineen saaneilla vasikoilla kipukäyttäytymistä esiintyy 15 minuuttia nupoutuksen jälkeen. Kahden tunnin kuluttua näiden vasikoiden käyttäytyminen on samanlaista kuin nupouttamattomien vasikoiden käyttäytyminen (McMeekan ym. 1999, Stilwell ym. 2009).

Tulehduskipulääke ei estä akuutista nupoutuskivusta johtuvaa plasman kortisolipitoisuuden nousua. Tulehduskipulääke kuitenkin vähentää myöhemmässä vaiheessa tulehduksesta aiheutuvaa plasman kortisolipitoisuuden nousua. Tulehduskipulääkkeen saaneen vasikan plasman kortisolipitoisuus on lähes normaalilla tasolla noin kahden tunnin kuluttua nupoutuksesta. Lääkitsemättömillä vasikoilla plasman kortisolipitoisuus on koholla vielä kuusi tuntia nupoutuksen jälkeen (McMeekan ym. 1998, Duffiled ym. 2010). Tulehduskipulääke vähentää sykkeen nousua nupoutuksen jälkeen (Stewart ym. 2009, Stock ym. 2013).

Tulehduskipulääke ja puudutusaine vähentävät fysiologisia muutoksia nupoutuksen jälkeen paremmin kuin pelkkä puudutusaine (Stewart ym. 2009). Kolme tuntia pastanupoutuksen jälkeen tulehduskipulääkkeen ja puudutusaineen saaneilla vasikoilla oli selvästi matalampi plasman kortisolipitoisuus kuin lääkitsemättömillä tai puudutusaineen saaneilla vasikoilla. Puudutusaineen ja tulehduskipulääkkeen saaneilla vasikoilla plasman kortisolipitoisuus oli lähes sama kuin nupouttamattomilla vasikoilla. Tulehduskipulääke ja puudutusaine yhdessä vähentävät tehokkaasti sekä käyttäytymismuutoksia että fysiologisia muutoksia (Stilwell ym. 2009).

Taulukko 1 Yhteenveto nupoutuksen aikana käytettävistä lääkkeistä ja niiden vaikutus vasikkaan

| | Tulehduskipulääke | Puudutusaine | Rauhoitusaine |
|--------------------------|---|---|--|
| Vaikutusmekanismi | COX – entsyymien esto, kudonvauriosta johtuvan tulehdusreaktion esto ja kivun hillitseminen | Na – kanavien salpaus, estää kipuimpulssin etenemistä | α_2 – adrenoreseptorien aktivointi, helpottaa vasikan käsittelyä nupoutuksen aikana |
| Vaikuttava aine | ketoprofeeni, karoprofeeni, fluniksiini – meglumiini, meloksikaami | prokaiini, lidokaiini, bupivakaiini, mepivakaiini | ksylatsiini |
| Vaikutuksen kesto | 1–3 vuorokautta | 2–4 tuntia | 30 minuuttia–2 tuntia |
| Fysiologiset vaikutukset | Nopeuttaa hieman plasman kortisolipitoisuuksien laskua ja ehkäisee sydämen sykkeen nousua | Vähentää plasman kortisolipitoisuuden nousua 1,5 tunnin ajan | Vähentää plasman kortisolipitoisuuden ja sydämen sykkeen nousua |
| Vaikutus käyttäytymiseen | Lieventää kipukäyttäytymistä nupoutuksen jälkeen | Vähentää kipukäyttäytymistä nupoutuksen aikana ja noin 2 – 4 tunnin jälkeen | Ei juuri vaikutusta |

6 AINEISTO JA MENETELMÄT

Tässä tutkimuksessa verrattiin polttonupoutuksen ja emäksisen pastanupoutuksen aiheuttaman vamman paranemista histopatologisesti kudoksettyjen avulla.

Tutkimuksessa käytettiin Viikin tutkimustilan navetan vasikoita. Tutkimuksella oli koe-eläinlupa numero ESAVI/4306/04.10.07/2013. Tutkimuksen rahoitti Maa- ja Metsätalousministeriön vaihtoehtoiset nupoutustavat 2012-2015/Hänninen sekä Valio. Näytteet kerättiin lokakuun 2014 ja helmikuun 2015 välisenä aikana. Tutkimukseen nupoutettiin yhteensä 16 vasikkaa. Kuudestatoista vasikasta 14 oli lehmävasikoita ja niistä 13 oli Ayrshire-rotuisia vasikoita ja yksi oli Hereford-risteytysvasikka. Kaksi kuudestatoista tutkimukseen käytetyistä vasikasta oli sonnivasikoita. Toinen oli Ayrshire-rotuinen ja toinen Holstein-rotuinen sonnivasikka. Vasikoiden keskipaino nupoutushetkellä oli 48,1 kg. Kevyin vasikka oli Ayrshire-rotuinen lehmävasikka, joka painoi 36,3 kg. Painavin vasikka oli Holstein-rotuinen sonnivasikka, joka oli 61,0 kg painoinen. Vasikoiden keski-ikä nupoutushetkellä oli 6,2 päivää. Nuorin oli päivän ikäinen Hereford-risteytys lehmävasikka ja vanhin 13 päivää vanha Ayrshire-rotuinen lehmävasikka. Jokaisen vasikan kohdalla arvottiin, kumpaan sarvenaiheeseen laitettiin pastaa ja kumpi sarvenaihe poltettiin. Kaikki vasikat, joiden oikea sarvenaihe nupoutettiin polttamalla ja vasen sarvenaihe nupoutettiin pastalla olivat Ayrshire-rotuisia lehmävasikoita. Vasikat, joiden vasen sarvenaihe nupoutettiin polttamalla ja oikea sarvenaihe nupoutettiin pastalla, olivat Holstein-rotuinen sonnivasikka, Ayrshire-rotuinen sonnivasikka, Hereford-risteytys lehmävasikka ja viisi Ayrshire-rotuista lehmävasikkaa.

Ennen nupoutusta ja kudospalojen ottamista vasikat rauhoitettiin ksylatsiinilla (Nefrasin 20 mg/ml, Vetcare) 0,2 mg/kg lihaksensisäisesti. Sarvenaihe puudutettiin lidokaiinilla (Lidocain 20 mg/ml, Orion) 4 ml/sarvenaihe. Sarven hermo puudutettiin pistämällä neulalla ihon alle otsaharjanteen viereen koko neulanmitan pituudelta sarvenaiheesta turvan suuntaan. Vasikoille annettiin tulehduskipulääkkeenä ketoprofeiinia (Ketovet vet 100 mg/ml, Faunapharma) lihaksen sisäisesti 3 mg/kg. Lihaksen sisäisissä injektioissa käytettiin 23 G:n neulaa ja puudutuksessa 21 G:n neulaa. Karvat leikattiin vasikan sarvenaiheen ympäriltä karvaleikkurilla. Vasikan toinen sarvenaihe poltettiin kaasukolvilla (Nupoutuskolvi Gasbuddex 20) siten, että sarvenaiheen ympärillä oli

valkoinen tai kuparin värinen rengas, yleensä 3–5 sekunnin ajan. Toiseen sarvenaiheeseen laitettiin emäksistä pastaa, pH 13 (Dr Naylor Dehorningn Paste, kalsiumhydroksidi 37,8 %, natriumhydroksidi 24,9 %, 114 g, H.W. Naylor company, inc, Morris, N.Y. 13808-0190 U.S.A.). Ennen nupoutuspastan laittamista sarvenaiheen ympärille laitettiin vaseliinia pastan ylimääräisen leviämisen estämiseksi ja suojaamaan sarvenaihetta ympäröivää ihoa. Pastaa annosteltiin suojahansikkaita käyttäen sarvenaiheen päälle noin 15 cm pitkällä ja 2 cm leveällä puulastalla sen kärjen leveyden ja noin yhden senttimetrin pituisen alueen verran. Kaksi eri henkilöä nupoutti vasikoiden sarvenaiheet polttamalla tai laittamalla sarvenaiheeseen pastaa.

Aluksi otettiin kahdelta lehmävasikalta histologiset näytteet vuorokauden kuluttua nupoutuksesta. Yhdeltä lehmävasikalta otettiin ensimmäiset histologiset näytteet kolme vuorokautta nupoutuksen jälkeen. Näiden vasikoiden näytteet jätettiin pois tutkimusaineistosta. Yhdeltä sonnivasikalta puuttuvat kahden viikon näytteet, sillä se myytiin välitykseen ennen kahden viikon näytteiden ottoa. Tämän sonnivasikan kahden päivän näytteet ovat mukana tutkimuksessa. Yhdellä lehmävasikalla poltettu vasen sarvenaihe oli tulehtunut ja sille aloitettiin kolmen päivän mittainen Ethacilin vet (300 000 IU/ml, MSD Animal Health) antibioottikuuri. Kahdella lehmävasikalla olivat suurentuneet navat ja niille aloitettiin Ethacilin vet antibioottikuurit, jotka kestivät kolme päivää.

Histologiset näytteet otettiin tutkimukseen mukaan otetuilta vasikoilta kaksi vuorokautta ja kaksi viikkoa nupoutuksen jälkeen. Näyteajat valittiin näin, sillä kaksi päivää nupoutuksen jälkeen kudokseen oli ehtinyt syntyä sekundäärisiä muutoksia ja syntyneen vaurion laajuus saatiin selville. Kaksi viikkoa nupoutuksen jälkeen paranemisvaihe oli käynnistynyt. Kahden päivän näytteitä tuli yhteensä 13 vasikalta ja kahden viikon näytteitä saatiin 12 vasikalta. Yhteensä vasikoilta saatiin 50 histologista näytettä.

Histologisia näytteitä varten vasikoilta leikattiin skalpellinterällä kummankin tuhoutuneen sarvenaiheen polton tai pastan reuna-alueelta ellipsin muotoinen kudospala niin, että se sisälsi tuhoutunutta kudosta ja tervettä kudosta. Kudospalan koko oli noin 1,5 cm kertaa 0,5 cm ja syvyys suunnassa pyrittiin saamaan kaikki kudos otsaluuhun asti mukaan. Näytepalat fiksoitiin 10 % formaliiniin ja ne säilyivät siinä näytevalmistukseen asti. Formaliini pysäyttää solujen metabolian eli estää autolyysin, estää bakteerien

kasvun, tappaa mahdolliset taudinaiheuttajat ja kovettaa kudoksen (Ross & Pawlina 2006). Isoimmat kudospalat leikattiin pitkittäissuunnassa puoliksi kaksi päivää näytteen ottamisen jälkeen. Leikatessa varottiin tuhoamasta kudoksen syvintä kohtaa. Halkaistu kudospala suljettiin kuduskasettiin ja kasetti siirrettiin formaliinissa kuduskäsittelyyn. Pienimpiä kudospaloja ei halkaistu, vaan ne laitettiin sellaisenaan kuduskasettiin. Kuduskäsittelyssä kudospalat viipaloitiin ja värjättiin. Hematoksyliini-eosiini-värjäys on yleisin käytetty histologisten preparaattien värjäysmenetelmä ja sitä käytettiin myös tässä tutkimuksessa.

Histologisten leikkeiden valmistus on hyvin vakiintunut menetelmä, jossa kudospalat valetaan parafiiniin, niistä leikataan ohuita leikkeitä ja nämä leikkeet värjätään. Kuduskäsittelyssä kaseteissa olevat kudospalat huuhdellaan aluksi vedellä ja kudoksen vesi korvataan alkoholilla kasvavien alkoholikonsentraatioiden avulla. Seuraavaksi näytepalojen alkoholi korvataan ksyleenillä ja ksyleeni sulalla juoksevalla parafiinillä. Parafiinin annetaan kovettua ja kovettuneista näytepaloista ja parafiinistä leikataan 5 µm paksuisia viipaleita mikrotomin avulla. Ennen värjäämistä parafiini poistetaan ksyleenin avulla ja ksyleeni korvataan vedellä vähenevien alkoholikonsentraatioiden avulla, tämän käsittelyn jälkeen kudosviipaleet voidaan värjätä. Ensin tehdään hematoksyliini-värjäys vedessä, joka värjää solun tuman ja nukleiinihapot siniseksi. Tämän jälkeen näytteet kuivataan nousevissa alkoholikonsentraatioissa ja alkoholissa näytepaloille tehdään eosini-värjäys. Eosini värjää sytoplasman eli soluliman, kollageenisäikeet ja sidekudoksen vaaleanpunaiseksi. Punasolut värjäytyvät eosinin vaikutuksesta oranssinpunaisiksi. Värjäyksen jälkeen näytteet laitetaan ksyleenin läpi ja peitetään peitinlasilla, jolloin saadaan kestävä preparaatti (Ross & Pawlina 2006).

Viidestäkymmenestä histologisesta näytteestä valittiin tässä tutkimuksessa analysoitavaksi 22, joissa näkyi ehjä epidermis ja käsittelykohta. Näistä 22 näytteestä kahdeksan oli kahden päivän polttonupoutusnäytteitä. Kahden viikon polttonupoutusnäytteitä saatiin neljä. Kahden päivän ja kahden viikon pastanupoutusnäytteitä saatiin kumpiakin viisi.

Histologisista näytteistä arvioitiin tiettyjen histopatologisten muutosten esiintyminen. Kolvin tai pastan alle jääneeltä primäärivaurioalueelta arvioitiin epidermoksen ja dermoksen leesiot, verisuonten muutokset sekä vaurion laajuus syvyysuunnassa. Epidermoksen ja dermoksen leesioita olivat nekroosi ja nesterakkulat. Verisuonten

muutoksiin liittyivät tromboosi, perivaskuliitti ja seinämien vauriot. Leesion syvyyttä arvioitiin pintavaurion alla säilyneen normaalin sidekudoksen avulla. Ympäröivältä alueelta arvioitiin verisuonten muutokset, tulehdussolujen infiltraatio sekä hiki- ja talirauhasten muutoksina tulehdus ja nekroosi. Kaksi viikkoa nupoutuksen jälkeen arvioitiin edellisten lisäksi primääriaurioalueelta ja ympäröivältä alueelta granulaatiokudoksen kehittymistä.

7 TULOKSET

Kudosnäytteissä todetut muutokset on esitetty taulukoissa 2–5. Taulukoihin 2 ja 4 on kerätty muutokset, jotka esiintyivät kudosnäytteissä kolvin tai pastan alle jääneen primääriaurioalueen kohdalla kaksi vuorokautta ja kaksi viikkoa poltto- ja pastanupoutuksen jälkeen. Taulukoihin 3 ja 5 on kerätty leesion eli sarvenaiheen vierestä esiintyneet muutokset kaksi vuorokautta ja kaksi viikkoa poltto- ja pastanupoutuksen jälkeen. Kuvissa 1–4 esitellään histologiset näytteet kaksi päivää ja kaksi viikkoa poltto- ja pastanupoutuksen jälkeen.

Kaksi päivää nupoutuksen jälkeen vaurioalueelle (Taulukko 2) oli sekä poltto- että pastanupoutuksen jälkeen kehittynyt kaikkiin näytteisiin pinnallinen nekroosi. Poltonupoutuksessa syntynyt koagulaationekroosi ei yltänyt syvään dermikseen. Lähes kaikissa pastanupoutusnäytteissä dermiksen syviin osiin oli syntynyt kollikvaationekroosia. Tali- ja hikirauhaset olivat molemmissa nupoutustavoissa pääosin tuhoutuneet leesioalueelta. Puolessa poltonupoutusnäytteistä esiintyi palovammalle tyypillistä alkavaa tromboosia tai tromboosia, ja kaikissa näytteissä oli verisuonten seinämävaurioita. Pastanupoutusnäytteissä ei esiintynyt tromboosia eikä verisuonten seinämävaurioita. Poltonupoutusleesion pinnalla oli nesterakkuloita kaikissa näytteissä, mutta pastanupoutusnäytteiden pinnalla niitä ei esiintynyt. Perivaskulaarista dermatiittia esiintyi kaikissa näytteissä. Tätä epäspesifiä muutosta esiintyy usein erityyppisissä kudosärsytyksissä (Shupp ym. 2010).

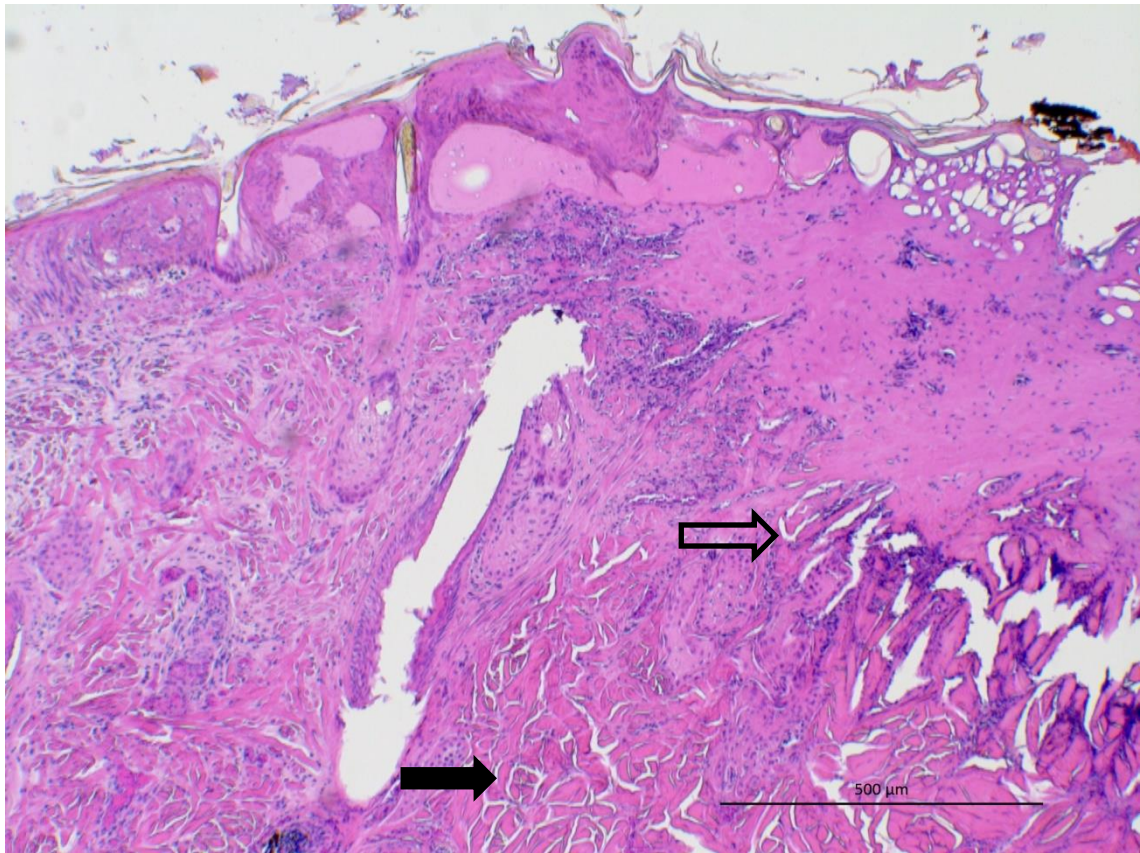
Taulukko2: Kaksi vuorokautta vasikoiden polttonupoutuksesta ja emäksisestä pastanupoutuksesta vaurioituneen sarvenaiheen kohdalta histologisesti tutkitut muutokset

| Leesio | Poltto, 2 vrk | Pasta, 2 vrk |
|-------------------------------|---------------|--------------|
| Syvä dermaalinen nekroosi | 0/8 | 4/5 |
| Pinnallinen nekroosi | 8/8 | 5/5 |
| Tromboosi | 4/8 | 0/5 |
| Verisuonten seinämävaurio | 5/8 | 0/5 |
| Perivaskulaarinen dermatiitti | 8/8 | 5/5 |
| Pinnalla nesterakkuloita | 8/8 | 0/5 |

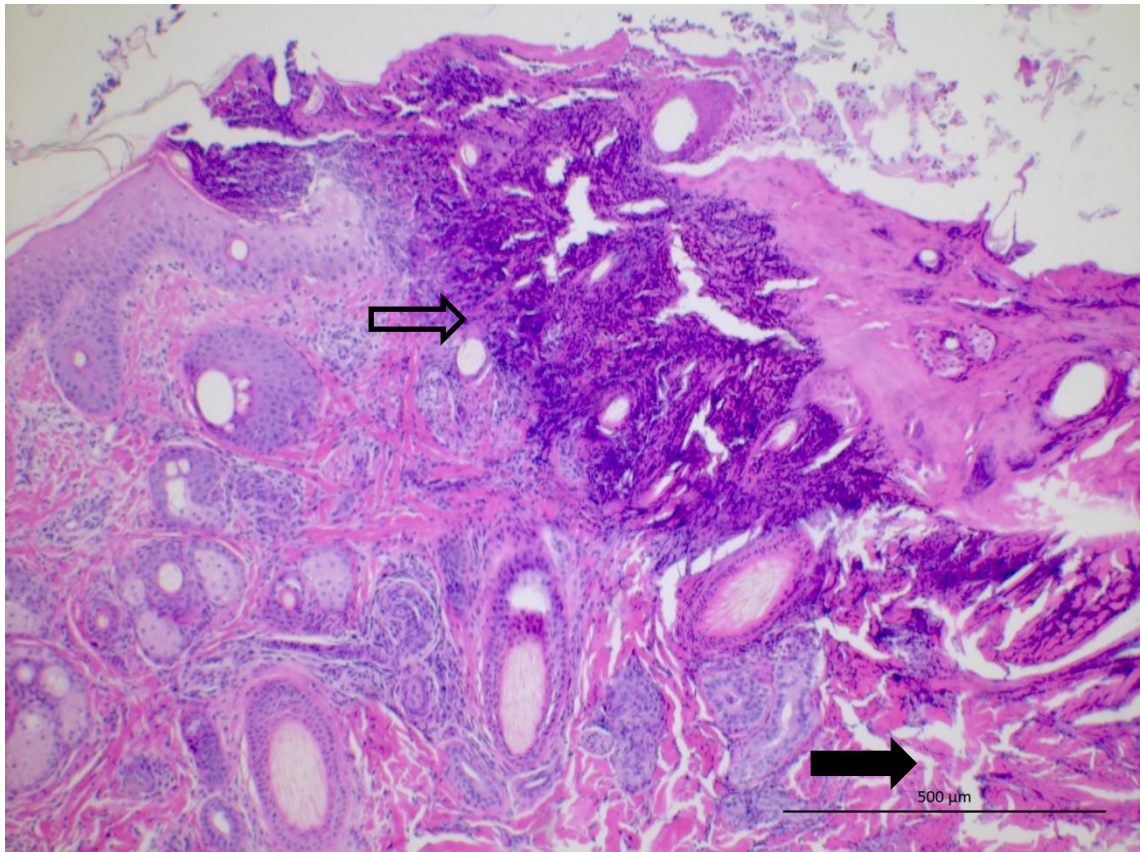
Kaksi päivää nupoutuksen jälkeen leesion vieressä (Taulukko 3) verisuonten seinämävauriota ja tromboosia esiintyi leesioalueen tapaan vain polttonupoutusnäytteissä. Toisin kuin leesioalueella perivaskulaarista dermatiittia todettiin kolmessa polttonupoutusnäytteessä ja kaikissa pastanupoutusnäytteissä. Tali- ja hikirauhasten vaurioitumisessa oli perivaskulaarisen dermatiitin tapaan eroja leesion ulkopuolella. Talirauhasten tulehdusta ja nekroosia, joita esiintyi kuudessa polttonupoutusnäytteessä, mutta ei yhdessäkään pastanupoutusnäytteessä. Hikirauhasen tulehdusta ja nekroosia esiintyi yhdessä polttonupoutusnäytteessä ja kolmessa pastanupoutusnäytteessä.

Taulukko 3: Kaksi vuorokautta vasikoiden polttonupoutuksen ja emäksisen pastanupoutuksen jälkeen vaurioituneen sarvenaiheen vierestä tutkitut muutokset

| Leesion vieressä | Poltto, 2vrk | Pasta, 2 vrk |
|-------------------------------|--------------|--------------|
| Verisuonten seinämävaurio | 6/8 | 0/5 |
| Tromboosi | 5/8 | 0/5 |
| Perivaskulaarinen dermatiitti | 3/8 | 5/5 |
| Talirauhasten vaurio | 6/8 | 0/5 |
| Hikirauhasten vaurio | 1/8 | 3/5 |



Kuva 1 Leesion ja terveen kudoksen raja kaksi päivää polttonupoutuksen jälkeen. Oikealla leesioalueella epidermis ja pinnallinen dermis ovat kuolioituneet (avoin nuoli), mutta syvä dermis on rakenteeltaan säilynyt (suljettu nuoli). Kuolion pinnalla on nesterakkuloita. Vasemmalla on normaalia kudosta.



Kuva 2 Leesion ja terveen kudoksen raja kaksi päivää emäksisen pastanupoutuksen jälkeen. Leesion alueella nekroosi ulottuu dermiksensä läpi näytteen pohjaan asti (suljettu nuoli) ja siinä on runsaasti neutrofiilisiä granulosyyttejä (avoin nuoli). Terve kudos on kuvassa vasemmalla.

Kaksi viikkoa nupoutuksen jälkeen leesioalueelle (taulukko 4) kaikkiin polttonupoutusnäytteisiin oli muodostunut granulaatiokudosta. Yhdessä pastanupoutusnäytteessä oli alkavaa granulaatiokudosta. Polttonupoutusnäytteistä oli epidermis irronnut näytteen pinnalta ja kahdessa näytteessä oli nekroosia pinnallisessa dermiksessä. Neljässä pastanupoutusnäytteessä oli pinnallista kollikvaationekroosia, joka ylettyi syvemmälle dermikseen kuin polttonupoutusnäytteiden koagulaationekroosi. Yhdessä polttonupoutusnäytteessä oli pinnalla nesterakkuloita. Muissa polttonupoutusnäytteissä nesterakkulat olivat hävinneet ja korvautuneet ruvella. Pastanupoutusnäytteissä ei ollut nesterakkuloita vaurion pinnalla. Kaikissa polttonupoutusnäytteissä ja yhdessä pastanupoutusnäytteessä esiintyi syvällä dermiksessä perivaskulaarista dermatiittia.

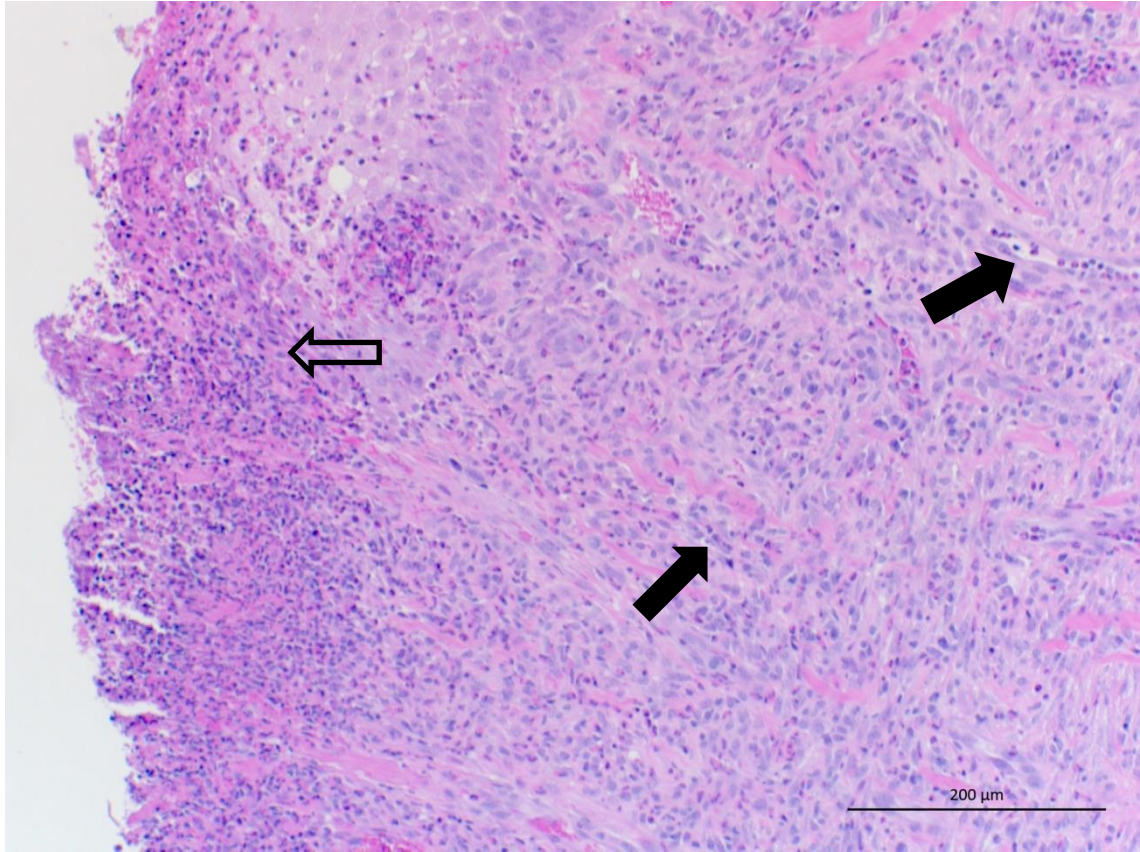
Taulukko 4: Kaksi viikkoa vasikoiden polttonupoutuksen ja emäksisen pastanupoutuksen jälkeen vaurioituneen sarvenaiheen kohdalta tutkitut muutokset

| Leesio | Poltto, 2 vk | Pasta, 2 vk |
|-------------------------------|--------------|-------------|
| Granulaatiokudosta | 4/4 | 1/5 |
| Pinnallinen nekroosi | 2/4 | 4/5 |
| Pinnalla nesterakkuloita | 1/4 | 0/5 |
| Perivaskulaarinen dermatiitti | 4/4 | 1/5 |

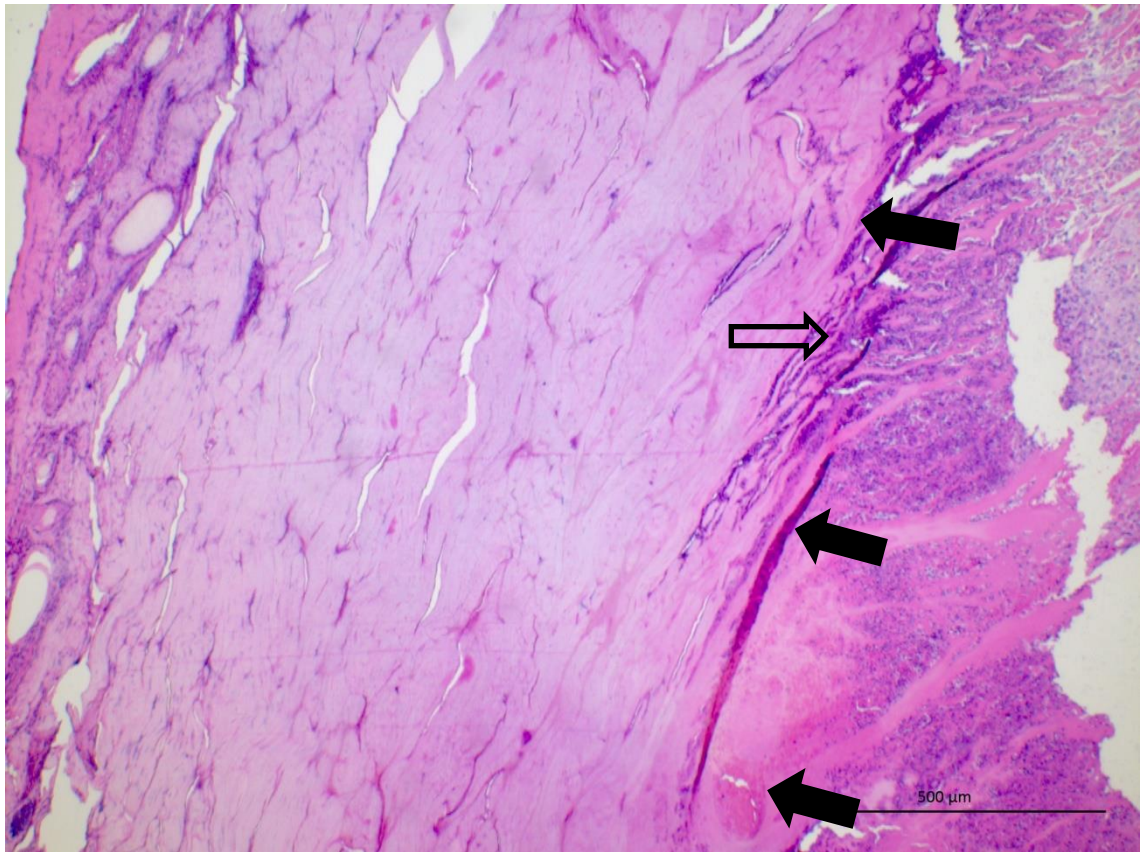
Kaksi viikkoa nupoutuksesta vaurion vieressä (Taulukko 5) esiintyi kolmessa polttonupoutusnäytteessä ja kahdessa pastanupoutusnäytteessä granulaatiokudosta. Pastanupoutusnäytteissä kahdessa oli hikirauhasissa vauriota, mutta talirauhasissa ei esiintynyt vaurioita. Polttonupoutusnäytteissä ei esiintynyt perivaskulaarista dermatiittia, mutta kaikissa pastanupoutusnäytteissä sitä esiintyi.

Taulukko 5: Kaksi viikkoa vasikoiden polttonupoutuksen ja emäksisen pastanupoutuksen jälkeen vaurioituneen sarvenaiheen vierestä tutkitut muutokset

| Leesion vieressä | Poltto, 2 vk | Pasta, 2 vk |
|-------------------------------|--------------|-------------|
| Granulaatiokudosta | 3/4 | 2/5 |
| Talirauhasten vaurio | 0/4 | 0/5 |
| Hikirauhasten vaurio | 0/4 | 2/5 |
| Perivaskulaarinen dermatiitti | 0/4 | 5/5 |



Kuva 3 Leesioalue kaksi viikkoa polttonupoutuksen jälkeen. Vasemmalla on leesion pinta, jossa on nekroottista kudosta ja tulehdussoluja (avoin nuoli). Dermiksen täyttää granulaatiokudos, jossa on tyypillisiä uusia verisuonia kohtisuorassa kudoksen pintaan nähden (suljetut nuolet).



Kuva 4 Leesion kohta kaksi viikkoa pastanupoutuksen jälkeen. Leesion pinta vasemmalla, jossa on nekroosia ja tulehdussoluja. Pinnallinen dermis (suljetut nuolet) on täysin nekrotisoitunut eikä granulaatiokudosta ole muodostunut. Oikealla on syvä dermis, jossa on voimakas tulehdusreaktio (avoin nuoli).

8 POHDINTA

Tässä tutkimuksessa verrattiin polttonupoutuksen ja emäksisen pastanupouttamisen aiheuttaman vamman paranemista histopatologian avulla kahden vuorokauden ja kahden viikon kuluttua vasikoiden nupoutuksesta otettujen kudospäätteiden avulla.

Merkittävin tekemämme havainto kahden vuorokauden kuluttua nupoutuksesta oli poltto- ja pastanupoutuksen välinen ero vaurion syvyydessä tuhoutuneen sarvenaiheen eli leesion alla. Polttonupoutuksessa polttoalueella dermiksen pinnallisiin osiin oli

muodostunut koagulaationekroosi, mutta dermiksen alaosat olivat lähes normaaleja ja niissä havaittiin lievää perivaskulaarista neutrofiilista dermatiittia. Perivaskulaarisen dermatiitin lisäksi leesioalueella ja sen vieressä esiintyi tromboosia ja alkavaa tromboosia. Pastan alla koko dermikseen oli syntynyt kollikvaationekroosia ja joissain näytteissä kudoksen pintaosat olivat hävinneet. Pastanupoutus aiheutti syvemmän ja voimakkaamman vaurion kuin polttonupoutus. Tämän selittää se, että pasta aiheutti kudostuhoa niin pitkään, kun se oli kosketuksissa terveeseen kudokseen, jonka vuoksi pasta voi aiheuttaa kudostuhoa jopa tunteja sen levityksen jälkeen (Advenier ym. 2014). Pastan emäksisyys tuhoaa levitysalueen kohdalta rasvakudoksen, solujen solukalvot ja proteiinit, jolloin kudokseen muodostuu kollikvaationekroosia (Palao ym. 2010).

Polttonupoutuksen aiheuttama primaarikudostuho syntyy silloin, kun kuuma rauta on kosketuksissa ihoon, eli tässä tapauksessa noin viiden sekunnin ajan (Advenier ym. 2014). Polttoraudan kuumuus aiheuttaa suoraa vauriota kudokseen ja verisuonten seinämiin, johtaen lopulta verisuonten tromboosiin. Tromboosi syntyy kuumuuden aiheuttaman hyperkoagulaation ja verisuonten seinämien vaurion yhteisvaikutuksesta, jolloin verisuoniin muodostuu neutrofiilisista granulocyteistä ja verihiutaleista tukoksia (Mauldine & Peters-Kennedy 2016, Shupp ym. 2010). Polttoraudan aiheuttama kuumuus muodostaa myös kudokseen happiradikaaleja. Tulehdus, tulehdusvälittäjäaineet ja happiradikaalit voimistavat jo muodostunutta kudostuhoja laajentaen kudostuhoja myös viereisiin terveisiin kudoksiin (Shupp ym. 2010). Verisuonten seinämien vaurioituttua kudokseen vuotaa suonista nestettä ja näin kudokseen muodostuu edeemia (Keck ym. 2009). Edeema aiheuttaa kudoksen pintaan vesirakkuloita ja koko vaurioituneeseen kudokseen hypoksiaa, laajentaen jo syntynyttä leesiota (Keck ym. 2009, Shupp ym. 2010).

Kaksi päivää nupoutuksen jälkeen polttonupoutuslesion reunalla oli ehjän epidermiksen alla lievää tai kohtalaista verisuontien seinämän vauriota sekä alkavaa tromboosia tai tromboosia. Pastanupoutusnäytteissä lesion viereen ei ollut muodostunut verisuontien seinämävauriota eikä tromboosia. Kaikissa pastanupoutusnäytteissä ja kolmessa polttonupoutusnäytteestä oli perivaskulaarista dermatiittia. Perivaskulaarinen dermatiitti viittasi alkavaan tulehdusvaiheeseen ja kudostuhoon, kun neutrofiiliset granulocyteit siirtyivät verisuonista vahingoittuneeseen kudokseen (Mauldine & Peters-Kennedy 2016, Shupp ym. 2010). Lesion vierestä tutkittiin ihon apuelinten tulehdusta ja nekroosia.

Polttouputusnäytteissä esiintyi talirauhasissa nekroosia ja tulehdusta. Tämä voisi johtua leesioon sekundaarisesta laajenemisesta tulehdusvälittäjäaineiden ja tromboosin vaikutuksesta (Shupp ym. 2010). Talirauhasten nekroosiin voisi johtaa myös polttoalueen viereisen alueen karvojen palaminen tai niiden kautta johtuva lämpö karvatuppeen, jolloin karvatuppeen ja sen rauhasiin syntyy vauriota. Nupoutuksen aikana kuumaa rautaa pyöritetään sarvenaiheen ympärillä, jolloin kuuma rauta käy lähellä sarvenaihetta ympäröiviä karvoja. Karvojen palaminen tai lämmön johtuminen on todennäköinen selitys vauriolle, sillä nekroosi ja tulehdus rajautuivat melko tarkasti muutaman millimetrin päässä leesioon rajasta oleviin talirauhasiin.

Pastanupoutusnäytteissä esiintyi hikirauhasissa nekroosia ja tulehdusta kolmessa näytteessä, joka johtui todennäköisesti vaurion sekundaarisesta laajenemisesta (Shupp ym. 2010). Talirauhasiin ei ollut syntynyt vauriota. Vaikuttaisi siis siltä, että polttouputus aiheutti primäärileesioon viereen voimakkaamman akuutin reaktion kuin pastanupoutus. Polttouputuksessa vaurioituneesta kudoksesta vapautuneet happiradikaalit ja tulehdusvälittäjäaineet laajentavat leesiota nopeasti (Shupp ym. 2010), joten sen aiheuttamat muutokset poltetun alueen reunassa olivat akuutisti odotetusti voimakkaammat kuin pastanupoutuksessa.

Kaksi viikkoa polttouputuksen jälkeen nekrotisoitunut epidermis oli irronnut ja sen tilalle oli tullut runsaasti neutrofiilisiä granulocytejä joko diffuusisti tai multifokaalisesti. Joissakin näytteissä ne jatkuivat multifokaalisesti ehjän epidermiksi alle. Dermikseen oli muodostunut alkavaa granulaatiokudosta, joka jatkui leesioon reunan yli ehjän epidermiksi alle. Granulaatiokudoksen alla oli lievä neutrofiilinen perivaskulaarinen dermatiitti ja regeneroituvia verisuonia. Kaksi viikkoa pastanupoutuksen jälkeen granulaatiokudosta oli muodostunut leesioon reunoille, mutta leesioon kohdalla oli nekroosia ja voimakas purulenti histiosytäärinen tulehdus, jotka jatkuivat syvälle dermikseen. Näytteiden perusteella pastanupoutusvamma siis parani hitaammin kuin polttouputusvamma. Pastanupoutusvamman hitaampi paraneminen voisi selittyä syvemmällä primäärileesiolla ja myöhästyneellä aloituksella, sillä paraneminen ei ilmeisesti käynnisty ennen kuin kaikki emäksinen pasta on kulunut pois leesiosta. Palovamma alkaa parantua heti, kun kuuma rauta on irti ihosta (Advenier ym. 2014). Voimakkaan nekroosin takia pastanupoutusvamman paraneminen ja granulaatiokudoksen muodostuminen alkaa leesioon reunoilta, kun makrofagit ovat poistaneet nekrotisoituneen kudoksen (Naumov ym. 2009, Advenier ym. 2014). Kaksi

viikkoa polttonupoutuksesta leesion kohdalla esiintyi pinnallista perivaskulaarista dermatiittia. Tämä johtui siitä, että polttonupoutusvamma oli alkanut parantua, mutta sen tulehdusvaihe oli edelleen käynnissä (de Vasconcelos Catão ym. 2015).

Pastanupoutusnäytteessä perivaskulaarinen dermatiitti esiintyi leesion kohdalla syvällä dermiksessä.

Pieni määrä granulaatiokudosta esiintyi terveän epidermoksen alla pastanupoutusnäytteissä ja polttonupoutusnäytteissä kaksi viikkoa nupoutuksen jälkeen. Polttonupoutusleesion vieressä oli tulehdussoluja, mutta perivaskuliittia ei enää esiintynyt. Polttonupoutusvaurion tulehdusvaihe oli siis loppumassa ja paraneminen käynnistymässä (Garcia ym. 2010). Polttonupoutusnäytteen korjausvaihe vastasi hyvin kirjallisuudessa esitettyä palovamman korjausvaihetta. Pastanupoutuksesta johtuvat muutokset tulivat esille vasta myöhemmin, sillä kaksi viikkoa nupoutuksen jälkeen pastanupoutusnäytteissä esiintyi muutoksia leesion vieressä. Epidermoksen alla oli lievä pinnallinen dermatiitti ja lievä perivaskulaarinen dermatiitti ihon apurauhasten ympärillä. Syvemmillä dermiksessä oli kohtalaista tai voimakasta perivaskulaarista dermatiittia sekä lievää tai kohtalaista verisuonivauriota. Leesion vieressä terveän kudoksen alueella hikirauhaset olivat kohtalaisesti laajentuneet. Pastanupoutusleesion reunoilla tulehdusvaihe oli meneillään. Palovammassa ja emäksisessä vammassa on samat paranemisen vaiheet kuin viiltohaavassakin. Niiden paraneminen kestää pidempään laajemman kudosvaurion vuoksi (Garcia ym. 2010).

Vasikan hyvinvoinnin kannalta olisi hyvä etsiä vaihtoehtoja nupoutukselle. Eräs vaihtoehto olisi se, että antaa vasikan sarvien kasvaa normaalisti. Tällöin pitäisi huolehtia eläinten hyvinvoinnista ja perustarpeista, jolloin aggressiivista käytöstä ei pääsisi esiintymään. Lehmät kuitenkin usein tappelevat arvojärjestyksestä hyvistä olosuhteista huolimatta. Vahinkoja voi aina sattua sekä eläinten kesken että hoitajien ja eläinten välillä. Eläinten luonteen jalostuksella rauhallisemmaksi voi vaikuttaa eläinten käyttäytymiseen. Toinen vaihtoehto olisi jalostaa luonnostaan nupoja nautoja risteytysten avulla. Nupous on dominoiva ominaisuus, jota esiintyy liharotunautoissa ainakin Agnuksella ja Charolaisilla sekä lypsykarjarojuista pohjoismaisilla alkuperäisroduilla (Schafberg & Swalve 2015).

8.1 Päätelmät

Polttouupoutus aiheutti melko rajautuneen leesio, kun taas pastanupotus johti laajaan nekroosiin ja kudosten liukenemiseen eli kollikvaatioon. Pastanupoutusvamma näytti paranevan hitaammin kuin polttouupoutusvamma. Todennäköisemmin hitaampi paraneminen johtui pidentyneestä tulehdusvaiheesta sekä pastan aiheuttamasta laajasta vammasta ja voimakkaammasta nekroosista. Pitkään kestävä tulehdusreaktio ja paraneminen aiheuttavat vasikalle epämukavuutta ja stressiä pitkänkin aikaa. Vasikat saattavat hangata pastaa jalallaan itseensä tai päällään toisiin vasikoihin aiheuttaen näin kemiallisia vaurioita myös muualle kehoon kuin sarvenaiheen kohdalle. Tätä ongelmaa ei ole polttouupoutuksessa. Tämän tutkimuksen mukaan vaikuttaisi siltä, että vasikan hyvinvoinnin kannalta polttouupoutus olisi pastanupoutusta parempi tapa nupouttaa vasikoita. Nupoutus on aina hyvin kivulias ja stressaava toimenpide vasikalle, joten näiden vähentämiseksi olisi aina käytettävä rauhoitusainetta, tulehduskipulääkettä ja puudutusainetta nupoutuksen yhteydessä (Stilwell ym. 2009, Stilwell ym. 2010).

Tutkimuksessa havaitsemamme erot poltto- ja pastanupoutuksen välillä selittyivät hyvin kirjallisuudessa kuvatuilla mekanismeilla, joskin emäksen aiheuttamaa ihovauriota on histopatologisesti tutkittu vähän. Palovammasta löytyi enemmän histopatologisia tutkimuksia, joiden pohjalta pystyi pohtimaan palovamman paranemista. Tutkimuksen näytemäärä oli pieni, joten tuloksemme ovat alustavia. Hyvälaatuisten näytteiden ottaminen nupoutusalueelta todettiin vaikeaksi, sillä näytepalasta tuli helposti pieni ja näytteen syvimmästä kohdasta hyvin kapea. Osa näytteestä saattoi jopa jäädä haavaan kudoksen haurauden ja verenvuodon takia. Pastanupoutusnäytteiden kudokset oli haurasta ja pehmeää nekroosin vuoksi, joten kudospalat melkein hajosivat näytteenottovaiheessa. Polttouupoutusnäytteet olivat kovempia ja niiden ottaminen oli hieman helpompaa. Kuitenkin kahden viikon polttouupoutusnäytteissä vaurioitunut epidermis irtosi useassa näytteessä dermiksestä trimmausvaiheessa. Toisena vaihtoehtona kudokset näytteiden ottamiseen olisi ollut esimerkiksi ihobiopsia-stanssi. Stanssin avulla kaikista kudokset näytteistä olisi saanut samankokoisia ja leesio syvintä osaa leveämmältä alueelta mukaan. Toisaalta näytteiden ottamiseen olisi tarvittu isokokoinen stanssi, jolloin syntyneen haavan sulkeminen olisi vaikeutunut sarvenaiheen alueen vähäisen ihon takia. Isoa stanssia olisi tarvittu myös siihen, että saadaan sarvenaiheen kohdalta riittävän isot näytepalat sekä tervettä, että vaurioitunutta kudosta.

Kaikista vasikoista pyrittiin saamaan samanlaiset näytteet siten, että samat henkilöt ottivat näytteet aina samaan aikaan päivästä samalla tavalla. Näytteet pyrittiin leikkaamaan aina samalla tavalla, vaikka osa näytteistä olikin erikokoisia.

Kudosnäytteistä mikroskopoitiiin kudosvaurioita yleisesti, niiden tyypillisiä muutoksia ja laajuutta. Lisäksi kahden viikon näytteistä tutkittiin, kuinka tulehdus ja kudosvaurio olivat alkaneet parantua. Vaurion syvyyttä ei mitattu, koska kaikkien näytteiden kohdalla ei voinut olla täysin varma, että kudos saatiin koko ihon alueelta näytteeseen.

Kahden päivän näytteet olivat sopivia syntyneen leesio tarkasteluun, sillä niistä sai hyvän käsityksen syntyneen leesio laajuudesta. Kahden viikon näytteistä sai suuntaa antavia tuloksia paranemisnopeudesta pasta- ja polttonupoutuksissa. Kaiken kaikkiaan tutkimus antoi alustavan tuloksen poltto- ja pastanupoutuksen paranemisesta histopatologisesti. Tutkimusta voisi tämän jälkeen laajentaa uusilla ja laajemmilla tutkimuksilla. Esimerkiksi kolmen ja neljän viikon näytteitä voisi ottaa, jolloin paranemisvaihe olisi kummallakin nupoutustavalla pidemmällä ja erot saataisiin paremmin esille. Viikko nupoutuksen jälkeen olisi hyvä tutkia vaurio laajuutta ja mahdollista parantumista. Lisäksi suurempi näytemäärä olisi antanut luotettavimmat tulokset. Samasta vasikasta on kuitenkin vaikea ottaa useampaa näytettä kuin kahta, sillä sarvenaiheen alueella ei ole tarpeeksi ihoa. Näytteenotosta aiheutuneet vammat eivät ehdi parantua tarpeeksi, jotta useampien näytteiden ottaminen olisi mahdollista.

LÄHTEET

Valtioneuvoston asetus nautojen suojelusta. Va 592/2010.

<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2010/20100592>, haettu 27.3.2016

OMAFRA. Factsheet. Dehorning of Calves.

<http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/dairy/facts/09-003.htm>, haettu 27.3.2016

Advenier A.-S, Dorandeu A, Charlier P, Lorin de la Grandmaison G. Microscopic acute lesions after caustic exposure. *Forensic Science International* 2014, 234:57–63

Broom, D. M. Animal welfare: concepts and measurement. *Journal of Animal Science* 1991, 69: 4167–4175

de Vasconcelos Catão M.C.C, Nonaka C.F.W, Cavalcanti de Albuquerque Jr. R.L, Bento P.M, de Oliveira Costa R. Effects of red laser, infrared, photodynamic therapy, and green LED on the healing process of third-degree burns: clinical and histological study in rats. *Lasers in Medical Science* 2015, 30: 421–428

Duffield T.F, Heinrich A, Millman S.T, DeHaan A, James S, Lissemore K. Reduction in pain response by combined use of local lidocaine anesthesia and systemic ketoprofen in dairy calves dehorned by heat cauterization. *The Canadian Veterinary Journal* 2010, 51: 283–288

Faulkner P.M, Weary D.M. Reducing Pain After Dehorning in Dairy Calves. *Journal of Dairy Science* 2000, 83: 2037–2041

Frandsen R.D, Wilke W.L, Fails A.D. *Anatomy and physiology of farm animals*. 6. p. Lippincott Williams & Wilkins, Yhdysvallat 2003: 210

Garcia VG, de Lima MA, Okamoto T, Milanezi LA, Júnior EC, Fernandes LA, de Almeida JM, Theodoro LH. Effect of photodynamic therapy on the healing of cutaneous third-degree-burn: histological study in rats. *Lasers in Medical Science* 2010, 25: 221–228

- Graft B, Senn M. Behavioural and physiological responses of calves to dehorning by heat cauterization with or without local anaesthesia. *Applied Animal Behaviour Science* 1999, 62: 153–171
- Grondahl-Nielsen C, Simonsen H. B, Lund J. D, Hesselholt M. Behavioural, endocrine and cardiac responses in young calves undergoing dehorning without and with use of sedation and analgesia. *The Veterinary Journal* 1999, 158: 14–20
- Hall B. K. *Bones and Cartilage: Developmental Skeletal Biology*. 1.p. Elsevier Academic Press, USA, 2005: 101–102
- Heinrich A, Duffield T.F, Lissemore K.D, Squires E.J, Millman S.T. The impact of meloxicam on postsurgical stress associated with cautery dehorning. *Journal of Dairy Science* 2009, 92: 540–547
- Keck M, Herndon D.H, Kamolz L.P, Frey M, Jeschke M.G. *Pathophysiology of burns*. *Wien Medizinische Wochenschrift*, 2009, 159: 327–336
- MacPhail C.M. *Surgery of the Integumentary System*. Teoksessa: Fossum T.W (toim.) *Small Animal Surgery*. 4.p. Mosby Inc, St. Louis, 2013:190–193
- Maibach H.I, Hall A.H. *Chemical Skin Injury Mechanisms, Prevention, Decontamination, Treatment*. 1. p. Springer Heidelberg, Yhdysvallat, 2014: 92, 94
- Mauldine E. A & Peters-Kennedy J. *Integumentary System*. Teoksessa: Maxie M. G. (toim.) *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 1*. 6. p. Elsevier, Kanada, 2016: 509–736
- McGeady T.A, Quinn P.J, FitzPatrick E.S, Ryan M.T. *Veterinary embryology*. 1. p. Blackwell Publishing Ltd, Yhdistynyt kuningaskunta, 2006: 328–329
- McMeekan C.M, Stafford K.J, Mellor D.J, Bruse R.A, Ward R.N, Gregory N.G. Effects of regional analgesia and/or a non-steroidal anti-inflammatory analgesic on the acute cortisol response to dehorning in calves. *Research in Veterinary Science* 1998, 64: 147–150
- McMeekan C.M, Stafford K.J, Mellor D.J, Bruse R.A, Ward R.N, Gregory N.G. Effects of a local anaesthetic and a non-steroidal anti-inflammatory analgesic on the

- behavioural responses of calves to dehorning. *New Zealand Veterinary Journal* 1999, 47: 92–96
- Milligan B.N, Duffield T, Lissemore K. The utility of ketoprofen for alleviating pain following dehorning in young dairy calves. *The Canadian Veterinary Journal* 2004, 45: 140–143
- Moilanen E, Kankaanranta H. Eikosanoidit ja tulehduskipulääkkeet. Teoksessa: Koulu M, Mervaala E (toim.) *Farmakologia ja toksikologia*. 9. p. *Medicina*, Kuopio 2013: 309
- Morisse J.P, Cotte J.P, Huonnic D. Effect of dehorning on behaviour and plasma cortisol responses in young calves. *Applied Animal Behaviour Science* 1995, 43: 239–247
- Naumov A.A, Shatalin Y.V, Sukhomlin T.K, Potselueva M.M. Effect of Liposomes Containing Antioxidant, Phospholipid, and Amino Acid on Skin Regeneration after Chemical Burn. *Cell Technologies in Biology and Medicine* 2009, 2: 96–102
- Neave H.W, Daros R.R, Costa J.H.C, von Keyserlingk M.A.G, Weary D.M. Pain and Pessimism: Dairy Calves Exhibit Negative Judgement Bias following Hot-Iron Disbudding. *Plos One* 2013, 9(4): e96135
- Palao R, Monge I, Ruiz M, Barret J.P. Chemical burns: pathophysiology and treatment. *Burns : Journal of the International Society for Burn Injuries* 2010, 36: 295–304
- Radostits O.M, Gay C.C, Hinchcliff K.W, Constable P.D. *Veterinary Medicine A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10. p. Elsevier Limited, Philadelphia, 2007: 102–108
- Reese S, Budras K.-D, Mülling C, Bragulla H, Köning H.E. Common integument. Teoksessa: König H.E, Liebich H-G (toim.) *Veterinary anatomy of domestic mammals*. 4. p. Schattauer GmbH, Saksa, 2009: 657–659
- Ross M.H, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas*. 5. p. Lippincott Williams & Wilkins, Yhdysvallat, 2006
- Schafberg R, Swalve H.H. The history of breeding for polled cattle. *Livestock Science* 2015, 179: 54–70

Scheinin M. Adrenoseptoriagonistit (sympatomimeetit). Teoksessa: Koulu M, Mervaala E (toim.) Farmakologia ja toksikologia. 9. p. Medicina, Kuopio 2013: 241

Schwartzkopf-Genswein K.S, Booth-McLean M.E, McAllister T.A, Mears G.J. Physiological and behavioural changes in Holstein calves during and after dehorning or castration. *Canadian Journal of Animal Science* 2005, 85: 131–138

Shupp J.W, Nasabzadeh T.J, Rosenthal D.S, Jordan M.H, Fidler P, Jeng J.C. A Review of the Local Pathophysiologic Bases of Burn Wound Progression. *Journal of Burn Care and Research* 2010, 31: 849–873

Sjaastad Ø.V, Sand O, Hove K. *Physiology of Domestic Animals*. 2. p. Scandinavian Veterinary Press, Oslo, 2010: 248

Stewart M, Stafford K.J, Dowling S.K, Schaefer A.L, Webster J.R. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiology & Behavior* 2008, 93: 789–797

Stewart M, Stookey J.M, Stafford K.J, Tucker C.B, Rogers A.R, Dowling S.K, Verkerk G.A, Schaefer A.L, Webster J.R. Effects of local anesthetic and a nonsteroidal antiinflammatory drug on pain responses of dairy calves to hot-iron dehorning. *Journal of Dairy Science* 2009, 92: 1512–1519

Stilwell G, de Carvalho R.C, Carolino N, Lima M.S, Broom D.M. Effect of caustic paste disbudding, using local anaesthesia with and without analgesia, on behaviour and cortisol of calves. *Applied Animal Behaviour Science* 2009, 116: 35–44

Stilwell G, Carvalho R.C, Carolino N, Lima M.S, Broom D.M. Effect of hot-iron disbudding on behaviour and plasma cortisol of calves sedated with xylazine. *Research in Veterinary Science* 2010, 88: 188–193

Stock M.L, Baldrige S.L, Griffin D, Coetzee J.F. Bovine Dehorning : Assessing Pain and Providing Analgesic Management. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2013, 29: 103–133

Vickers K.J, Niel L, Kielhbauch L.M, Weary D.M. Calf Response to Caustic Paste and Hot-Iron Dehorning Using Sedation With and Without Local Anesthetic. *Journal of Dairy Science* 2005, 88: 1454–1459

Weaver A.D, StJean G, Steiner A. Bovine Surgery and Lameness. 2. p. Blackwell Publishing, Yhdistynyt kuningaskunta, 2005:13–14, 18–19, 54–56