

# Razina oksidacijskog stresa u uvjetima intenzivnog fizičkog napora u lovačkih pasmina pasa

---

**Parčetić-Kostelac, Ida**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:766242>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-26**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



REPUBLIKA HRVATSKA  
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

**Ida Parčetić-Kostelac, mr., dr. med.**

**RAZINA OKSIDACIJSKOG STRESA U UVJETIMA INTENZIVNOG  
FIZIČKOG NAPORA U LOVAČKIH PASMINA PASA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, 2019.

REPUBLIKA HRVATSKA  
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

**Ida Parčetić-Kostelac, mr., dr. med.**

**RAZINA OKSIDACIJSKOG STRESA U UVJETIMA INTENZIVNOG  
FIZIČKOG NAPORA U LOVAČKIH PASMINA PASA**

- Doktorska disertacija -

Osijek, 2019.

REPUBLIKA HRVATSKA  
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

**Ida Parčetić-Kostelac, mr., dr. med.**

**RAZINA OKSIDACIJSKOG STRESA U UVJETIMA INTENZIVNOG  
FIZIČKOG NAPORA U LOVAČKIH PASMINA PASA**

- Doktorska disertacija -

Mentor: prof. dr. sc. Marcela Šperanda

**Povjerenstvo za ocjenu:**

- 1. dr. sc. Tihomir Florijančić, redoviti profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik**
- 2. dr. sc. Marcela Šperanda, redovita profesorica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, mentorica i član**
- 3. dr. sc. Ivica Bošković, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**
- 4. dr. sc. Nina Poljičak Milas, redovita profesorica Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, članica**
- 5. dr. sc. Drago Bešlo, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**

Osijek, 2019.

REPUBLIKA HRVATSKA  
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

**Ida Parčetić-Kostelac, mr., dr. med.**

**RAZINA OKSIDACIJSKOG STRESA U UVJETIMA INTENZIVNOG  
FIZIČKOG NAPORA U LOVAČKIH PASMINA PASA**

- Doktorska disertacija -

Mentor: prof. dr. sc. Marcela Šperanda

Javna obrana doktorske disertacije održana je 20. rujna 2019. godine pred  
Povjerenstvom za obranu:

1. **dr. sc. Tihomir Florijančić, redoviti profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik**
2. **dr. sc. Marcela Šperanda, redovita profesorica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, mentorica i član**
3. **dr. sc. Ivica Bošković, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**
4. **dr. sc. Nina Poljičak Milas, redovita profesorica Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, članica**
5. **dr. sc. Drago Bešlo, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**

Osijek, 2019.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Doktorska disertacija

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Poslijediplomski sveučilišni (doktorski) studij: Poljoprivredne znanosti

Smjer: Lovstvo i kinologija

UDK:

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Poljoprivreda

Grana: Lovstvo

Razina oksidacijskog stresa u uvjetima intenzivnog fizičkog napora u lovačkih pasmina pasa

mr. Ida Parčetić-Kostelac, dr. med., stručna magistra infektologije

Disertacija je izrađena na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: prof. dr. sc. Marcela Šperanda

Oksidacijski stres je poremećaj ravnoteže prooksidacijskog i antioksidacijskog sustava. Antioksidansi su one tvari koje u maloj količini u kratkome vremenu neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala i drugih oksidansa. Cilj istraživanja bio je utvrditi učinke intenzivne fizičke aktivnosti i pojačanih stresnih prilika nakon intenzivnog fizičkog napora na antioksidacijski kapacitet u lovačkih pasmina pasa. Istraživanje je provedeno na skupini lovačkih pasmina goniča. Psi su bili podijeljeni u dvije skupine prema učestalosti sudjelovanja u lovu (kao mjera utreniranosti pasa), a uzorci krvi uzeti su 24 sata prije i 5 minuta nakon intenzivnog fizičkog napora tj. sudjelovanja u višesatnom skupnom lovu na divlje svinje. Određeni su sljedeći pokazatelji oksidacijskog stanja tj. odnosno antioksidacijskog kapaciteta prije i nakon intenzivnog fizičkog napora: 1. kompletna krvna slika (KKS) i diferencijalna krvna slika (DKS); 2. preventivni neenzimski antioksidansi i neki metaboliti; 3. enzimski antioksidansi i 4. proteini akutne faze. Utvrđen je značajno ( $P < 0,01$ ) veći broj leukocita, veći udio segmentiranih i nesegmentiranih neutrofila, a snižen udio limfocita i eozinofila u pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Smanjena je bila aktivnost katalaze i kretin kinaze nakon fizičke aktivnosti, te koncentracije glukoze, ukupnih proteina, globulina i HDL kolesterola. Utvrđene su povećana aktivnosti aspartat aminotransferaze i koncentracije ureje, bilirubina, LDL kolesterola. U mladim pasa utvrđeni su znakovi umora i potrošnje energije, što se očitovalo značajnim smanjenjem koncentracije glukoze, ukupnih proteina, globulina, željeza i feritina, te značajnim povećanjem UIBC. Nismo utvrdili razlike s obzirom na utreniranost pasa. Daljnja istraživanja trebala bi biti usmjerena na utvrđivanje potrebne količine antioksidacijskih dodataka organizmu koje je potrebno uključiti u prehranu kod utreniranih i netreniranih sisavaca.

Broj stranica: 169

Broj slika: 6

Broj tablica: 9

Broj grafikona: 17

Broj literaturnih navoda: 132

Jezik izvornika: hrvatski

**Ključne riječi:** oksidacijski stres, antioksidansi, biomarkeri, fizička aktivnost, mišićni umor, lovački pas

**Datum obrane:** 20. rujna 2019.

**Povjerenstvo za obranu:**

1. dr. sc. Tihomir Florijančić – redoviti profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik
2. dr. sc. Marcela Šperanda – redovita profesorica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, mentorica i član
3. dr. sc. Ivica Bošković – izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član
4. dr. sc. Nina Poljičak Milas – redovita profesorica Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, članica
5. dr. sc. Drago Bešlo – izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član

**Disertacija je pohranjena u:**

Nacionalna i sveučilišna knjižnica u Zagrebu, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Sveučilište u Zagrebu, Sveučilište u Rijeci, Sveučilište u Splitu

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

PhD thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Postgraduate university study: Agricultural sciences

Course: Hunting and Cynology

UDK:

Scientific Area: Biotechnical Sciences

Scientific Field: Agriculture

Branch: Hunting

The level of oxidative stress in conditions of intense physical effort in hunting dog breeds

Ida Parčetić-Kostelac, MD, Professional Master of infectious diseases

Thesis performed at Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Supervisor: PhD Marcela Šperanda, professor

Oxidation stress is a disorder of the balance of the prooxidation and antioxidant system. Antioxidants are substances that in a small amount in a short time neutralize the action of free radicals and other oxidants. The aim of the research was to determine the effects of intense physical activity and increased stress conditions after intensive physical effort on antioxidative capacity in hunting dogs. The research was conducted in two groups of hunting dogs breeds (goat and goat). Dogs were divided into two groups according to the frequency of participation in hunting (as a measure of dog-eating), and blood samples were taken 24 hours before and 5 minutes after intense physical effort or participation in multiple-time wildlife hunting. The following indicators of oxidative status ie antioxidative capacity were determined before and after intense physical effort: 1. Complete Blood Image (KKS) and Differential Blood Image (DKS); 2. preventative non-enzymatic antioxidants and certain metabolites; 3. Enzyme Antioxidants and 4. Acute Phase Proteins. Significantly higher ( $P < 0.01$ ) number of leukocytes, higher proportion of segmented and unsegmented neutrophils, and decreased lymphocyte and eosinophil content in dogs after intense physical activity were found. Reduced activity of catalase and creatine kinase after physical activity, and lower concentration of glucose, total protein, globulin and HDL cholesterol were determined. Increased activities of aspartate aminotransferase and urea concentrations, bilirubin, LDL cholesterol have been found. Further research should be directed to determining the required amount of antioxidant supplements to be included in the diet in untreated and untreated mammals.

Number of pages: 169

Number of figures: 6

Number of tables: 9

Number of graphs: 17

Number of references: 132

Original in: croatian

Key words: oxidative stress, antioxidants, biomarkers, physical activity, muscular fatigue, hunting dog

Date of the thesis defense: 20 September 2019

Reviewers:

1. PhD Tihomir Florijančić, professor – full professor Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, president
2. PhD Marcela Šperanda, professor – full professor of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, mentor and member
3. PhD Ivica Bošković, professor – associate professor Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, member
4. PhD Nina Poljičak Milas, professor – full professor Faculty of Veterinary Medicine Zagreb, member
5. PhD Drago Bešlo, professor – associate professor Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, member

Thesis deposited in:

National and University Library, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, University of Zagreb; University of Rijeka; University of Split

## KAZALO

<b>1.</b>	<b>UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1.</b>	<b>Pregled literature .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.1.</b>	<b>Biomarkeri oksidacijskog stresa .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.2.</b>	<b>Biomarkeri antioksidacijske obrane.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.3.</b>	<b>Mehanizam nastanka oksidacijskog stresa i djelovanja antioksidansa..</b>	<b>12</b>
<b>1.1.4.</b>	<b>Biomarkeri umora perifernih mišića.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.5.</b>	<b>Metode za procjenu oksidacijskog stresa .....</b>	<b>17</b>
<b>1.1.6.</b>	<b>Metode za procjenu antioksidacijskog statusa .....</b>	<b>19</b>
<b>1.1.7.</b>	<b>Metode za procjenu umora perifernih mišića.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1.8.</b>	<b>Oksidacijski stres i fizička aktivnost.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1.9.</b>	<b>Antioksidansi kao nutritivni dodatci .....</b>	<b>67</b>
<b>1.1.10.</b>	<b>Podjela pasmina pasa .....</b>	<b>76</b>
<b>1.1.11.</b>	<b>Lovački psi .....</b>	<b>79</b>
<b>1.1.12.</b>	<b>Alpski brak jazavčar (njem. Alpenlandische dachsbracke) .....</b>	<b>81</b>
<b>1.1.13.</b>	<b>Istarski kratkodlaki gonič.....</b>	<b>83</b>
<b>1.1.14.</b>	<b>Posavski gonič .....</b>	<b>86</b>
<b>1.2.</b>	<b>Cilj istraživanja .....</b>	<b>90</b>
<b>2.</b>	<b>MATERIJAL I METODE RADA.....</b>	<b>91</b>
<b>2.1.</b>	<b>Opći podaci o skupinama lovačkih pasmina pasa u istraživanju.....</b>	<b>91</b>
<b>2.2.</b>	<b>Opći podaci o području istraživanju.....</b>	<b>91</b>
<b>2.3.</b>	<b>Laboratorijska istraživanja .....</b>	<b>93</b>
<b>2.4.</b>	<b>Statistička obrada podataka .....</b>	<b>94</b>
<b>3.</b>	<b>REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>95</b>
<b>3.1.</b>	<b>Hematološki pokazatelji .....</b>	<b>95</b>
<b>4.</b>	<b>RASPRAVA .....</b>	<b>115</b>
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČCI.....</b>	<b>149</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>151</b>
<b>7.</b>	<b>SAŽETAK .....</b>	<b>163</b>
<b>8.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>164</b>
<b>9.</b>	<b>PRILOG.....</b>	<b>165</b>
	<b>ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>168</b>



## 1. UVOD

Oksidacijski stres označava poremećaj ravnoteže prooksidacijskog i antioksidacijskog sustava (Sies, 1997.; Fisher - Wellman i Bloomer, 2009.) u korist prooksidacijskog sustava. Soffler (2007.) smatra da se oksidacijski stres odnosi na stanično oštećenje i patološke promjene koje se javljaju kada postoji neravnoteža koja dovodi do prevladavanja oksidansa u odnosu prema antioksidansima unutar živog organizma. On ukazuje da je oksidacijski stres uzrokom mnogih bolesti sisavaca, što je dovelo do daljnjih istraživanja kliničkih prednosti i učinkovitosti antioksidacijske terapije. Bošnjaković (2017.) navodi da je oksidacijski stres posljedica prevelikog stvaranja reaktivnih spojeva kisika (oksidansi, radikali) uslijed poremećaja u ravnoteži oksidacijsko – redukcijskih procesa u biološkim organizmima. Odnosno, oksidansi u biološkim organizmima sposobni su otpuštati elektrone, dok su antioksidansi sposobni primiti elektrone. Sakač i sur. (2011.) ukazuju da se oksidacijski stres definira kao pomak ravnoteže u staničnim oksidacijsko-redukcijskim reakcijama u smjeru oksidacije. Može se javiti kod neučinkovitosti antioksidacijskih sustava, tj. pri naglom povećanju količine oksidansa ili nedovoljne sinteze antioksidansa. Maršić (2005.) smatra da je oksidacijski stres, ako se ne kompenzira, jedan od najvažnijih razloga oštećenja funkcija svih stanica, pa i stanica imunskog sustava. König i sur. (2001.) smatraju da oksidacijski stres može dovesti do oštećenja ili uništenja staničnih makromolekula kao što su lipidi, proteini i nukleinske kiseline.

Bošnjaković (2017.) ukazuje da su antioksidansi prirodne ili sintetske tvari koje uspješno blokiraju slobodne radikale u njihovom štetnom djelovanju na organizam. Antioksidansi su sve one tvari koje u maloj količini u kratkome vremenu neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala i drugih oksidansa (Bradamante, 2002.). Stanković i Radovanović (2012.) smatraju da fizička aktivnost dovodi do povećanja stvaranja reaktivnih oblika kisika što može dovesti do oštećenja stanica, ali točna povezanost fizičke aktivnosti, stresnih proteina i reaktivnih oblika kisika još uvijek je nepoznata. Sakač i sur. (2011.) ukazuju da tijekom fizičkog rada u organizmu nastaju slobodni radikali. Induciranim radom dolazi do promjene oksidacijske/antioksidacijske ravnoteže zbog povećanja razine elektrona u mitohondrijima unutar mišićnih stanica.

Također se navodi kako su brojne studije pokazale da oksidacijsko/antioksidacijske promjene pri treniranju konja mogu varirati ovisno o vrsti treninga i markerima koji se prate u krvi, te je zaključeno da fizički napor značajno inducira oksidacijsku-antioksidacijsku ravnotežu. Izloženost oksidansima utjecao je na razvoj niza obrambenih mehanizama, uključujući preventivne mehanizme, mehanizme popravka, fizičku i antioksidacijsku obranu. Netrenirane osobe, za razliku od utreniranih, podložnije su većim promjenama u organizmu, uzrokovanim oksidacijskim stresom pri fizičkoj aktivnosti (Stanković i Radovanović, 2012.). Hinchcliff i sur. (2003.) zaključili su da natjecanje vučnih pasa u dugim utrkama saonicama, uključujući produljenu i ponovljenu submaksimalnu vježbu, rezultiraju smanjenjem enzimske antioksidacijske aktivnosti u krvi trkaćih pasa i povećanjem stupnja oštećenja mišićnog tkiva skeletnih mišića.

Stanković i Radovanović (2012.) izvijestili su da se u prehrani sportaša često koriste dodaci antioksidansa u hrani kako bi djelovali protiv povećanog oksidacijskog stresa koji se javlja pri fizičkim naporima. Često se koriste dodaci antioksidansa u hrani kao što su karnitin, vitamin E, kombinacija vitamina C i E i selen, te dodaci antioksidansa u tekućini za piće kao što je koncentrirani voćno-povrtni sok s vitaminima E i C i sok sa vitaminima E i C, cinkovim glukonatom i selenom.

Sakač i sur. (2011.) su zaključili da je u suvremenom vrhunskom konjičkom sportu neizbježna antioksidacijska dopuna, a dokazan je pozitivan učinak antoksidacijske dopune vitaminima i elementima u tragovima.

## 1.1. Pregled literature

### 1.1.1. Biomarkeri oksidacijskog stresa

Stanice stalno proizvode slobodne radikale i reaktivne vrste kisika (ROS) kao dio metaboličkih procesa. Slobodni radikali su molekule ili dijelovi molekule koji imaju jedan ili više nesparenih elektrona u vanjskom elektronskom omotaču. Osnovne osobine ovih molekula su vrlo kratak poluživot, niska specifičnost za reaktante i izuzetno velika reaktivnost. Velika kemijska reaktivnost, odnosno štetno djelovanje slobodnih radikala, potječe iz potrebe da postignu elektronsku stabilnost i zato reagiraju s prvom susjednom stabilnom molekulom, uzimajući njezin elektron stvarajući novi slobodni radikal. Tako susjedne molekule postaju nestabilne i dalje ulaze u reakcije s drugim molekulama iz okruženja što rezultira oštećenjem staničnih komponenti. Slobodni radikali se, stoga, mogu brzo i nepredvidivo spajati s bilo kojom prostorno bliskom molekulom proteina, lipida, ugljikohidrata ili nukleinske kiseline i pokrenuti nastajanje novih spojeva, također sa svojstvima radikala i mogućnošću pokretanja novog niza neenzimskih lančanih reakcija. Slobodni radikali se stvaraju prvenstveno tijekom procesa oksidativne fosforilacije u mitohondrijima. Najveći broj slobodnih radikala koji se javljaju *in vitro*, nastaju ili od reaktivnih oblika kisika (engl. *reactive oxygen species*, ROS) ili od reaktivnih oblika dušika (engl. *reactive nitrogen species*, RNS) (Stanković i Radovanović, 2012.). Reaktivni oblici kisika (ROS) zajednički su naziv za radikale kisika i njegove reaktivne neradikalne derivate: superoksidni anion ( $O_2^-$ ), perhidroksilni radikal ( $HOO^-$ ), hidroksilni radikal ( $OH^-$ ), vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ), hipokloritna kiselina ( $HClO$ ) i dr. U reaktivne oblike dušika (RNS) ubrajaju se dušikov (II) oksid ( $NO^-$ ) i dušikov (IV) oksid ( $NO_2^-$ ) te nitrozilni kation ( $NO^+$ ) i peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) (Bradamante, 2002.). Stevanović i sur. (2011.) navode da reaktivni oblici kisika uključuju kemijske spojeve koji imaju nesparene elektrone u vanjskoj orbiti (tzv. reaktivni ne-radikalni spojevi), kao što su singletni kisik ( $1O_2$ ), peroksinitril ( $ONOO$ ), vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ), hipoklorna kiselina  $HOCl$  i ozon ( $O_3$ ). Valko i sur. (2007.) navode da ROS i RNS npr.  $NO^-$  imaju dvostruku ulogu, kao štetni i kao korisni oblici. U stanjima oksidacijskog stresa dolazi do porasta ROS-a u organizmu ili tkivima, te dolazi do oštećenja nukleinskih kiselina (DNA), proteina i lipida stanične membrane. Oštećenje nukleinskih kiselina (DNA) uzrokuje mutacije, oksidacijom proteini gube svoju funkciju, a lipidi podliježu lipidnoj peroksidaciji čiji su konačni produkti reaktivni aldehidi.

U istraživanju učinaka oksidacijskog stresa koriste se različiti *in vitro* i *in vivo* modeli. Stevanović i sur. (2011.) ukazuju da visoke koncentracije slobodnih radikala uzrokuju oksidacijski stres, što je preduvjet za brojne patološke učinke u organizmu sisavaca. Međutim, niske i umjerene koncentracije ovih spojeva, koji se pojavljuju tijekom normalne metaboličke aktivnosti stanica, igraju višestruke značajne uloge u mnogim staničnim procesima. Niske i umjerene koncentracije slobodnih radikala sudjeluju, dakle, u nekim staničnim procesima kao što su regulacija signalnih putova unutar stanice i između stanica, uloga hemoatraktanata i aktivatora leukocita, uloga u fagocitozi, sudjelovanje u održavanju i promjeni položaja i oblika stanice, pomoć stanici prilikom prilagodbe i oporavka od oštećenja (npr. oštećenje stanice uzrokovano fizičkim radom), uloga u normalnom rastu stanica, programiranoj smrti stanica (apoptoza) i staničnom starenju, te uloga u sintezi važnih bioloških spojeva i proizvodnji energije, kao i uloga u regulaciji tonusa krvnih žila i vaskularizaciji tkiva.

Dalle-Donne i sur. (2006.) utvrdili su da je oksidacijski/nitrozativni stres, stanje povećanih koncentracija vrste kisika/dušika, važnim uzrokom mnogih akutnih i kroničnih bolesti i čak normalnog procesa starenja. Međutim, siguran dokaz za ovu povezanost često je nedostajao zbog nedostatnih podataka u vezi s biomarkerima i/ili metodama dostupnim za procjenu stanja oksidacijskog stresa u ljudi. Maršić (2005.) smatra da u oksidacijskom stresu dolazi do prekomjerne ekspresije citokina, pojavljuju se protutijela na vlastite bjelančevine i oštećuje se tkivo inducirano citokinima.

Brojni autori opisali su biomarkere oksidacijskog stresa u ljudi i životinja koji uključuju  $F_2$  alfa-izoprostan ( $F_{2\alpha}$ -izoprostan), ukupni izoprostan (isoP), malondialdehid (MDA), proteinske karbonile (PC), kompletnu krvnu sliku (KKS) i 8 – hidroksi – 29-deoksigvanozin (8-OHdG). Laboratorijskim metodama možemo izmjeriti ukupnu razinu oksidacijskog stresa mjerenjem produkata lipidne peroksidacije metodom tiobarbituratnog testa ili reaktivnih tvari tiobarbituratne kiseline, tzv. TBARS testom (engl. TBARS-*Tiobarbituric Acid Reactive Substances*) koji mjeri produkte lipidne peroksidacije spektrofotometrijski. Ovaj test specifično mjeri oksidaciju lipida. Molekule lipida su najosjetljivije na oksidaciju i mjerenje njihove oksidacije daje dobru procjenu globalnog oksidacijskog stresa u stanici.

Bloomer i sur. (2005.) proučavali su utjecaj akutnog aerobnog i anaerobnog vježbanja u kojima su korištene slične skupine mišića na biomarkere oksidacijskog stresa u krvi mlađih utreniranih ispitanika. Autori su uočili povećanje koncentracije PC i GOx u plazmi 24 sata nakon vježbi, smanjenje koncentracije GRx u plazmi neposredno nakon vježbi, kao i nepromijenjenu koncentraciju MDA i 8-OhdG u plazmi 24 sata nakon izvođenja aerobnih i anaerobnih vježbi kod mlađih utreniranih ispitanika. U ovoj studiji zaključeno je da aerobno ili anaerobno vježbanje različito utječe na biomarkere oksidacijskog stresa u krvi mlađih utreniranih ispitanika te rezultiraju različitom snagom oksidacije na molekularnoj razini.

### 1.1.2. Biomarkeri antioksidacijske obrane

Antioksidansi su one tvari koje u maloj količini u kratkome vremenu neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala i drugih oksidansa. Oni nastaju u stanici ili se u organizam najčešće unose hranom ili u obliku dodataka antioksidansa u hrani ili tekućini za piće, a djeluju na nekoliko načina: onemogućuju stvaranje novih slobodnih radikala u organizmu, neutraliziraju u organizmu stvorene radikale (engl. *scavengers* – “čistači”), ili popravljaju oštećenja u stanici nastala djelovanjem radikala (Bradamante, 2002.). Bošnjaković (2017.) ukazuje da su antioksidansi prirodne ili sintetske tvari koje uspješno blokiraju slobodne radikale u njihovom štetnom djelovanju na organizam. Antioksidansi se moraju stalno regenerirati u tijelu, kako bi se uspostavila ravnoteža između njih i slobodnih radikala u tijelu. On također naglašava da je antioksidacijski obrambeni sustav u sisavaca sastavljen od antioksidacijskih enzima i neenzimskih antioksidansa.

Ključni enzimski antioksidansi koji sudjeluju pri neutralizaciji ROS-a su SOD, CAT, GPx i GRx. U neenzimske antioksidanse ubrajamo metaboličke antioksidanse i antioksidanse iz hrane. Metabolički antioksidansi, kao što su glutation, koenzim Q i lipoična kiselina, su produkti metaboličkih reakcija u organizmu. S druge strane, antioksidansi iz hrane, su spojevi koje se ne sintetiziraju u organizmu pa ih se, stoga, mora unositi putem raznovrsne prehrane. Tu se ubrajaju vitamin A, C i E, minerali selen i cink, te resveratrol. Svi antioksidansi iz hrane su se pokazali vrlo uspješnim u detoksifikaciji organizma od ROS-a.

Stanković i Radovanović (2012.) ukazuju da su antioksidacijski enzimi endogeni i njihovo nastajanje može biti izmijenjeno određenim čimbenicima. Poznati potencijalni čimbenici povećane produkcije enzimskih antioksidansa su fizička aktivnost i vježbanje.

Pham-Huy i sur. (2008.) smatraju da slobodni radikali i oksidansi u organizmu sisavaca imaju dvostruku ulogu jer mogu biti toksični spojevi za organizam, ali i korisni spojevi za organizam. Sintetiziraju ih stanice u procesu metabolizma *in situ* ili nastaju iz vanjskih izvora kao što su atmosfersko zagađenje zraka, dim cigarete, zračenja, lijekovi i sl. Organizam sisavaca ima nekoliko mehanizama za suzbijanje oksidacijskog stresa pomoću sinteze antioksidansa, koji se sintetizira u samom organizmu ili se unose putem hrane i/ili dodataka. Sakač i sur. (2011.) smatraju da dok se problem oksidansa može balansirati pomoću obrambenog sustava antioksidansa, ROS molekule će imati fiziološku ulogu u organizmu. Međutim, ako se ta ravnoteža poremeti, poraste koncentracija oksidansa i dolazi do ireverzibilne stanične štete i/ili stalne aktivacije patoloških procesa.

Među brojnim podjelama antioksidansa, najjednostavnija je ona na antioksidacijske enzime i malene molekule antioksidansa (tvari dobro topive u lipidima ili vodi). U antioksidacijske enzime ubrajamo one koji nastaju u stanicama (superoksid dismutaza, katalaza, glutation peroksidaza) te razgrađuju manje aktivne oblike radikala kisika u nenabijene neaktivne molekule i veliku grupu enzima koji obnavljaju slobodnim radikalima oštećene molekule nukleinskih kiselina (DNA) i proteina. Biomarkeri prirodne antioksidacijske obrane u ljudi i životinja nastaju kao protuteža nastajanju slobodnih radikala u organizmu, tj. postoji prirodni antioksidacijski mehanizam obrane ili sustav antioksidacijske zaštite (Stanković i Radovanović, 2012.). Biomarkeri enzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u ljudi i životinja su superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT), glutation peroksidaza (GPx), glutation-reduktaza (GRx), glutation-oksidaza (GOx), glutation S-transferaza, kreatin-kinaza (CK) i kreatin-kinaza- MB izoenzim (CK-MB izoenzim).

Drugu skupinu antioksidansa čine brojne jednostavne ili složene molekule koje pretvaraju nezasićene, vrlo aktivne molekule slobodnih radikala u nove, kemijski zasićene, inaktivne oblike koji nisu opasni za normalnu aktivnost organizma i koji djeluju kao “čistači” slobodnih radikala.

Ova skupina antioksidansa veže potencijalno opasne metalne ione i onemogućava njihovo sudjelovanje u produkciji slobodnih radikala. Biomarkeri neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u ljudi i životinja sačinjavaju vitamin A (retinol), vitamin C (askorbinska kiselina), vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol),  $\gamma$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten (provitamin A), bilirubin, mokraćna kiselina, glutation, reducirani glutation (GSH), oksidirani glutation (GSSG), tioli, koenzim Q<sub>10</sub>, stresni proteini, albumini, transferin, feritin, ceruloplazmin (CER), cistein, N-acetilcistein (NAC), cistamin, glukoza, kao i minerali bakar, cink, selen i mangan (Bradamante, 2002.; Stanković i Radovanović, 2012.).

Laboratorijskim metodama možemo izmjeriti ukupni antioksidacijski kapacitet (TAC) (engl. TAC- *Total Antioxidant Capacity*) spektrofotometrijski u plazmi ili serumu, a on pokazuje veličinu odgovora svih antioksidansa u organizmu na oksidacijski stres. Također se može odrediti kapacitet apsorpcije radikala kisika (ORAC) (engl. ORAC- *Oxygen Radical Adsorbance Capacity*), a to je standardizirana metoda kojom se može, uz pomoć metode fluorescencije, odrediti antioksidacijski kapacitet stanice.

Stanković i Radovanović (2012.) utvrdili su da dužina sportskog staža utječe na mogućnost prilagodbe organizma na oksidacijski stres. Autori opisuju jednu studiju u kojoj su odbojkašice bile podijeljene u tri skupine ovisno o duljini sportskog staža: <8 godina, 8 - 10,5 godina i >10, 5 godina, kako bi se ispitaio utjecaj dugogodišnjeg vježbanja na oksidacijski stres. Utvrđeno je povećanje aktivnosti SOD u plazmi i smanjenje koncentracije superoksidnog aniona u serumu odbojkašica nakon dugogodišnjeg vježbanja (>10,5 godina). Zaključeno je da odbojkašice s dužim sportskim stažom imaju više vrijednosti biomarkera antioksidacijske obrane u krvi tj. bolju prilagodbu na oksidacijski stres kod dugogodišnjeg vježbanja.

Još uvijek je malo dostupnih podataka o adaptaciji sustava antioksidacijske obrane uslijed dugogodišnje fizičke aktivnosti kod adolescenata (16 -19 godina) i mladih sportaša. U nekoliko studija utvrđeno je povećanje aktivnosti SOD u plazmi, a smanjenje aktivnosti CAT u plazmi mladih rukometaša koji imaju nisku ili prosječnu aerobnu moć nakon maksimalnog progresivnog fizičkog opterećenja nakon dugogodišnjeg vježbanja.

U ovim studijama zaključeno je da su niska ili prosječna aerobna moć i dugogodišnja fizička aktivnost izuzetno važni za poboljšanje „redoks“ statusa mladih i adolescenata, što im omogućava bolju prilagodbu na oksidacijski stres.

Sureda i sur. (2005.) su opisali da vodikov peroksid može izazvati oksidacijsko oštećenje udaljeno od mjesta nastanka, te da on predstavlja značajan molekularni signal koji potiče ekspresiju nekoliko gena koji su povezani s oksidacijskim stresom u organizmu. Autori su proučavali kapacitet plazme i krvnih stanica u detoksikaciji vodikovog peroksida nakon intenzivne vježbe i njezine povezanosti s oksidacijskim oštećenjem. Utvrđeno je smanjenje aktivnosti CAT i GPx, sniženje koncentracije CAT, te povećanje aktivnosti mijeloperoksidaze (MPO) u neutrofilima, povećanje aktivnosti GPx u limfocitima, povećanje aktivnosti MDA u eritrocitima, hemoliza i smanjenje udjela limfocita u plazmi, kao i povećanje koncentracije i aktivnosti CAT i koncentracije MDA u plazmi 9 biciklista 3 sata nakon natjecanja u brdskoj vožnji bicikla. Zaključeno je da intenzivna vježba inducira oksidacijsko oštećenje u krvnim stanicama kao što su eritrociti i limfociti, ali ne i u neutrofilima.

Stanković i Radovanović (2012.) navode da je u jednom istraživanju utvrđena promjena pokazatelja anaerobnog i aerobnog kapaciteta, kao i biomarkera oksidacijskog stresa u sportaša. U tom istraživanju utvrđeno je povećanje koncentracije MDA u eritrocitima, te povećanje aktivnosti i koncentracije CAT u plazmi kod džudaša za vrijeme 12 tjedana vježbanja. Ovo istraživanje pokazalo je da je povećanje pokazatelja anaerobnog kapaciteta bilo praćeno poremećajem ravnoteže između ROS-a i antioksidacijskog sustava u organizmu. U drugoj studiji, autori su se bavili određivanjem nekih markera oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane kod mladih džudaša u pripremnom razdoblju. U ovoj studiji utvrđena je nepromijenjena koncentracija MDA, PC, CAT i TAC u plazmi utreniranih džudaša prije i 4 tjedna nakon intenzivnog vježbanja. Dobiveni rezultati ukazuju da ova vrsta intenzivnog vježbanja (vježbe snage, tehnike i judo borbe) u pripremnom razdoblju kod dobro utreniranih mladih džudaša nema statistički značajan učinak na parametre oksidacijskog stresa. Zaključeno je da je antioksidacijska obrana u organizmu utreniranih sportaša nakon intenzivnog vježbanja dovoljna da se izbori sa nastalim oksidacijskim stresom.



U nekoliko dosadašnjih studija praćena je promjena određenih biomarkera oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane u krvi u ispitanika tijekom vježbanja tea-boa i vježbi pilatesa.

U tim studijama utvrđeno je povećanje koncentracije TAC u plazmi ispitanica nakon vježbanja tae-boa, kao i povećanje aktivnosti CAT u plazmi ispitanica nakon vježbi pilatesa. Zbog različitih metabolićkih zahtjeva tijekom ovih dviju vrsta vježbanja, povećana potrošnja kisika nije jedini mehanizam koji uzrokuje oksidacijski stres tijekom fizićke aktivnosti. Šurina (2018.) opisuje SOD kao enzim koji katalizira dismutaciju (disproporcionaciju) superoksidnog aniona ( $O_2^-$ ) u molekulski kisik ( $O_2$ ) i vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ). Pripadaju skupini metaloenzima. U eukariota postoji nekoliko izoformi koje se razlikuju po vrsti metalnog kofaktora i lokalizaciji u stanici. Kako SOD predstavlja „prvu crtu obrane“, nalazi se na mjestima najveće produkcije  $O_2^-$  a to su mitohondriji, citosol, te u manjim kolićinama peroksisomi izvan stanice. Konstanta reakcije citosolne i mitohondrijske SOD je  $K \sim 10^9 M^{-1} s^{-1}$ , što upućuje na visoku aktivnost i važnost u obrani od  $O_2^-$ , iako joj aktivnost ovisi o zalihama metalnih iona u stanici odnosno tkivu. Citosolna Cu/Zn SOD je homodimer i veće dva metalna iona: Zn stabilizira histidinski ogranak na aktivnom mjestu, a Cu je odgovoran za prijenos elektrona s jedne molekule  $H_2O_2$  na drugu. Općenito, u prvom se koraku  $O_2^-$  oksidira, uz redukciju metalnog iona, a u drugom se  $O_2^-$  reducira, uz oksidaciju metalnog iona. Iako smanjuje kolićinu  $O_2^-$  u organizmu, SOD proizvodi  $H_2O_2$  pa je za kompletnu detoksifikaciju potrebno djelovanje enzima koji razgrađuju  $H_2O_2$  kao što su CAT ili GPX. Njezina aktivnost se može mjeriti kolorimetrijski koristeći tetrazolijeve soli kao supstrat.

Rush i sur. (2000) istraživali su da li je aktivnost citosolske SOD-1 ovisne o bakru/cinku povišena u koronarnim arteriolama svinja koje su vježbale. U tom istraživanju su mužjaci Yukatanskih svinja vježbali na motoriziranoj traci za trćanje, u usporedbi sa kontrolnom skupinom koja nije vježbala, u razdoblju od 16 do 20 tjedana. Utvrđeno je da se koncentracija i aktivnost citosolne SOD-1 kao i mitohondrijske SOD-1 u koronarnim arteriolama svinja povećala nakon vježbanja. Također je utvrđena nepromijenjena koncentracija i aktivnost mitohondrijske SOD-2 i CAT u koronarnim arteriolama svinja. Zaključeno je da su se koronarne arteriole svinja koje su vježbale dilatirale zbog povećane koncentracije i aktivnosti SOD-1 ovisno o dušikovom oksidu (NO), a dokazano je da biološki poluživot NO ovisi djelomićno o upravljanju anionima superoksida.

To znači da povišene vrijednosti i aktivnost SOD-1 doprinosi dilataciji koronarnih arteriola nakon vježbanja svinja ovisno o NO, uz poboljšanje upravljanja anionima superoksida u blizini vaskularnih stanica, čime se produžuje biološki poluzivot NO. Štefan i sur. (2007.) navode da SOD pripada skupini metaloenzima, te, stoga, u organizmu sisavaca, postoje tri vrste superoksid dismutaze: citosolna dismutaza Cu/Zn-SOD, mitohondrijska dismutaza Mn-SOD, te izvanstanična dismutaza EC-SOD. Autori navode da je glutacion peroksidaza (GPx) enzim koji katalizira redukciju  $H_2O_2$  u vodu ( $H_2O$ ) i kisik ( $O_2$ ) uz oksidaciju glutationa. Aktivira se već i kod nazočnosti manje koncentracije vodikova peroksida u organizmu. Za razliku od CAT, GPX može reducirati i organske perokside nastale oštećenjem membrana, u alkohole i kisik. Ovaj enzim je tetrameran i sadrži selenocistein, odnosno cistein na aktivnom mjestu.

Postoji nekoliko tkivnospecifičnih izoformi u organizmu sisavaca. Dok je GPx poglavito citosolni enzim, u mitohondrijima se nalazi približno 10% toga enzima, a u sisavaca postoji najmanje 5 GPx izoenzima. Utvrđeno je da nije bilo značajnog povećanja pokazatelja oksidacijskog stresa kod voluharica koje su trčale, unatoč tome što su imale značajno povišenu razinu potrošnje energije u usporedbi sa kontrolnom skupinom koja nije trčala.

Sen i sur. (1992.) istraživali su učinke vježbanja ženki pasa biglova na pokretnoj traci 5 dana u tjednu i uočili da je tijekom vježbanja došlo do povećanja koncentracije glutationa u mišićima i jetri pasa, te povećanja aktivnosti glutacion peroksidaze (GPx) i glutacion-reduktaze (GRx) u svim mišićima nogu koji su ispitivani, a također se povećala i aktivnost jetrene glutacion S-transferaze. Ovi autori proučavali su također i mužjake Han Wistar štakora koji su trenirali vježbe izdržljivosti na pokretnoj traci 2 sata dnevno pri brzini 2,1 km/h, 5 dana u tjednu u trajanju od 8 tjedana. Utvrđeno je da tijekom napornog vježbanja dolazi do povećanja aktivnosti GPx, kao i koncentracije jetrenog glutationa i  $\gamma$  - glutamiltransferaze (GGT), a koncentracija GRx se smanjila u mišićima nogu štakora zbog razgradnje proteina u mišićima tijekom napornog vježbanja. Zaključuje se da su vježbe izdržljivosti povisile antioksidacijski i detoksikacijski status mišića i jetre kod štakora.

---

Steinberg i sur. (2006.) ispitivali su odgovor organizma na oksidacijski stres u ispitanika induciran vježbanjem kod protokola vježbi koje se uobičajeno koriste radi ispitivanja funkcije ukupne mišićne snage (maksimalno pojačana vježba vožnje bicikla) i izdržljivosti do zamora odabranih mišića (statičan stisak ruke i adukcija palca). Autori su utvrdili povećanje koncentracije TBARS u plazmi, smanjenje koncentracije vitamina C i TAC u plazmi i smanjenje koncentracije glutaciona u eritrocitima ispitanika 5 minuta nakon izvođenja dinamičke vježbe (maksimalno pojačana vježba vožnje bicikla) koja omogućava rad mišića u aerobnim uvjetima. Utvrđeno je, također, povećanje koncentracije TBARS u plazmi, smanjenje koncentracije vitamina C u plazmi i smanjenje koncentracije glutaciona u eritrocitima, ali nepromijenjena je koncentracija TAC u plazmi ispitanika 20 minuta nakon izvođenja statičke vježbe (statičan stisak ruke i adukcija palca) koja omogućava rad mišića u anaerobnim uvjetima kod ispitanika. Ova studija ukazuje da promjene u koncentracijama TBARS i vitamina C u plazmi i glutaciona u eritrocitima nastaju kao odgovor na oksidacijski stres induciran i s dinamičkim i sa statičkim vježbama. Mjerenje TAC u plazmi ne predstavlja pouzdanu metodu za ispitivanje vježbanjem induciranog oksidacijskog stresa tijekom izvođenja statičkih vježbi koji omogućavaju rad mišićima u anaerobnim uvjetima.

Sen i sur. (1994.) dokazali su da endogeni glutation ima odlučujuću ulogu u onemogućavanju vježbom induciranog oksidacijskog stresa, kao i činjenicu da je on važan čimbenik izvođenja vježbe, a N-acetilcistein (NAC) smanjuje vježbom induciranu glutationsku oksidaciju u plućima i krvi štakora. Autori su uočili, u skupini štakora koji imaju smanjenu koncentraciju glutaciona u plazmi, smanjenje koncentracije GSSG u plućima i plazmi, nepromijenjenu koncentraciju GSH u jetri, mišićima, srcu i plazmi, nepromijenjenu koncentraciju GSSG u mišićima, nepromijenjenu koncentraciju TBARS u mišićima i plazmi, te nepromijenjenu koncentraciju NAC u plazmi nakon izvođenja intenzivne vježbe, a uočeno je i smanjenje izdržljivosti štakora nakon izvođenja te vježbe.

Stanković i Radovanović (2012.) opisuju studiju u kojoj je utvrđeno povećanje koncentracije transferina i feritina u serumu i CRP u plazmi koje je povezano sa smanjenjem količine biomarkera oksidacijskog stresa u krvi kod sportaša obaju spolova. Studija zaključuje da su sportašice podložnije oksidacijskom stresu, kao i da različite koncentracije feritina u krvi mogu doprinijeti različitoj razini oksidacijskog stresa kod sportaša oba spola.

Stanković i Radovanović (2012.) navode da su ispitivani efekti dugogodišnjeg vježbanja različitih tipova sportova, kao što su biciklizam, veslanje i taekwondo, na parametre oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane u organizmu sportaša. Rezultati pokazuju smanjenje koncentracije TBARS u plazmi sportaša kod veslanja, nepromijenjena je koncentracija kod taekwondoa te povećanje koncentracije kod biciklizma za vrijeme i 10 minuta nakon vježbe maksimalnog opterećenja.

### *1.1.3. Mehanizam nastanka oksidacijskog stresa i djelovanja antioksidansa*

U literaturi se navodi da su mehanizmi nastanka oksidacijskog stresa u ljudi i životinja, kao i njegovog povećanja, mnogostruki. Povećan oksidacijski stres izražen je lipidnom peroksidacijom i oksidacijom proteina. Stvaraju se završni produkti glikozilacije. Oksidacija rezultira stvaranjem vodikovog peroksida koji prelazi u hidroksidni radikal. CAT i drugi antioksidansi smanjuju stvaranje završnih produkata glikozilacije. Stvaraju se promjene u metabolizmu glutationa. U organizmu postoji sustav antioksidacijske obrane kao protuteža nastajanju slobodnih radikala (Stanković i Radovanović, 2012.).

Bradamante (2002.) opisuje da antioksidansi mogu djelovati na više mjesta tijekom lipidne peroksidacije, pa tako mogu: a) spriječiti započinjanje lipidne peroksidacije "hvatajući" radikale koji mogu oduzeti vodik na - metilen ugljiku (vitamin E); b) smanjiti lokalnu koncentraciju kisika; c) ukloniti reaktivni kisik koji može reagirati izravno s lipidima stanične membrane i stvarati perokside (likopen); d) vezati ione željeza i bakra (transferin, feritin, ceruloplazmin); e) enzimatski ukloniti perokside (GPx, CAT); f) prekinuti lanac lipidne peroksidacije uklanjanjem peroksil i alkoksil radikala (vitamin E). Pojedini antioksidansi obično djeluju putem više mehanizama koji se međusobno nadopunjuju. Autorica navodi da su minerali anorganski kemijski spojevi koji se cijeli život moraju unositi putem hrane, vode i lijekova. Minerali su značajni u građi enzima, hormona, hemoglobina, strukturnih proteina i proteina odgovornih za ekspresiju gena, vitamina, a preko njih utječu na gotovo sve segmente metabolizma. Među brojnim mineralima koji imaju značajnu ulogu u biološkom sustavu, u antioksidacijskoj obrani se najčešće spominju bakar, cink i selen kao dijelovi proteina, enzima i antioksidansa.

Kostyuk i Potapovich (2009.) su pokazali da se u skladu s mehanizmom sprječavanja prekomjerne proizvodnje slobodnih radikala u biološkim organizmima sisavaca, svi antioksidansi mogu podijeliti u dvije glavne skupine: antioksidante koji razgrađuju lanac i preventivne antioksidanse. Antioksidansi, koji se nazivaju “čistači slobodnih radikala”, štite od oksidacijskog stresa jer uništavaju početne, peroksilne i rijetke alkilne radikale. Preventivni antioksidansi djeluju kao kelatori prijelaznih metala, inhibitori enzimskih sustava koji su odgovorni za stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) ili smanjuju koncentraciju vodikovih peroksida i organskih hidroperoksida, te mogu spriječiti pojavljivanje inicijalnog radikala i uklanjanje lančane reakcije slobodnih radikala.

Bradamante (2002.) navodi da su vitamini organske tvari, koji su u ljudskom organizmu nezamjenjivi biološki katalizatori različitih biokemijskih reakcija. Danas postoje više zanimljivih znanstvenih područja istraživanja učinaka vitamina, rezultati kojih se pokušavaju iskoristiti i u kliničkoj medicini. Jedno od njih su i ispitivanja učinkovitosti vitamina A, C i E, odnosno  $\beta$  - karotena u oksidacijskom stresu. Vitamin C (askorbinska kiselina) je vitamin topljiv u vodi, koji funkcionira kao koenzim u brojnim reakcijama hidroksiliranja i amidiranja. Vitamin C može antioksidacijski djelovati i kao koantioksidans. *In vitro* je dokazano da vitamin C sudjeluje u procesu obnove vitamina E, kao i da je jaki reduzens koji zaštićuje LDL kolesterol od oksidacije.

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) kao antioksidans, zajedno sa selenom iz hrane sprječava oksidaciju višestruko nezasićenih masnih kiselina, štiti nezasićene membranske lipide od oksidacije, reagira sa slobodnim radikalima, koji uzrokuju oksidacijsko oštećenje staničnih membrana i DNA bez formiranja novih slobodnih radikala u procesu. Vitamin E smješten je u membranama i lipoproteinima, gdje može prekinuti lančanu reakciju oksidacije LDL-a i zaštitno djelovati na membrane stanica.  $\beta$  -karoten je antioksidans koji u molekulama LDL-a ulazi u obrambene antioksidacijske reakcije, no tek nakon što se iscrpe sve raspoložive količine vitamina E. Vrlo je učinkovit “čistač” slobodnih radikala, a može inhibirati i lipidnu peroksidaciju.

#### 1.1.4. Biomarkeri umora perifernih mišića

Biomarkeri umora perifernih mišića u ljudi i životinja su markeri staničnog mišićnog oštećenja i pokazatelji mišićnog stresa, a koriste se za uvid u mehanizme iscrpljenosti tijekom vježbanja kako bi se otkrio povećani umor ili se otkrili manjkavi metabolički putevi. Klasifikacija biomarkera umora perifernih mišića, prema mehanizmu umora, odnosi se na metabolizam adenozin-trifosfata, acidozu ili oksidacijski metabolizam. Proizvodnja biomarkera umora perifernih mišića uglavnom ovisi o vrsti vježbe. Najpoznatiji biomarkeri umora perifernih mišića u ljudi i životinja su laktat i interleukin-6 (IL-6). Ostali biomarkeri umora perifernih mišića u ljudi i životinja su kompletna krvna slika (KKS), leukociti (WBC), neutrofili, limfociti (LIMF), eritrociti (RBC), hipoksantin, ksantin, kreatin-kinaza (CK), kreatin-kinaza-MB izoenzim (CK-MB izoenzim), mioglobin, mokraćna kiselina, aspartat-aminotransferaza (AST), mijeloperoksidaza (MPO), katalaza (CAT), glutation peroksidaza (GPx), glutation, oksidirani glutation (GSSG), vitamin C (askorbinska kiselina), reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline (TBARS), ukupni antioksidacijski kapacitet (TAC), N-acetilcistein (NAC), imunoglobulin A (IgA), kortizol, interleukin-7 (IL-7).

Finsterer (2012.) navodi da su biomarkeri umora perifernih mišića u ljudi zapravo biljezi staničnog mišićnog oštećenja tj. pokazatelji mišićnog stresa i koriste se za uvid u mehanizme iscrpljenosti tijekom vježbanja kako bi se otkrio povećani umor ili se otkrili manjkavi metabolički putevi.

Klasifikacija biomarkera umora perifernih mišića odnosi se na metabolizam ATP-a (adenozin-trifosfata), acidozu ili oksidacijski metabolizam. Imunološki i genetički odgovor može prouzrokovati osjetljivost mišića na umor, ali ne može izravno uzrokovati mišićni umor. Proizvodnja biomarkera umora perifernih mišića ovisi o vrsti vježbe. Najpoznatiji biomarkeri umora perifernih mišića u serumu su laktat i interleukin-6 (IL-6). Klinički značaj većine ostalih biomarkera umora perifernih mišića često je ovisan o dobi, spolu, fizičkoj aktivnosti, opskrbi energijom tijekom vježbanja, tipu vježbe potrebne za proizvodnju biomarkera umora perifernih mišića te jesu li ispitanici zdrave ili bolesne osobe. Robson-Ansley i sur. (2007.) ispitivali su u svojoj studiji promjene razine IL-6 u ljudskoj plazmi, izvore i simptome stresa i urođenog imunološkog sustava kao odgovor na akutno razdoblje pojačanog vježbanja visoke izdržljivosti u atletičara.

Autori su utvrdili povećanje aktivnosti CK i IL-6 u plazmi, smanjenje funkcije neutrofila, nepromijenjen ukupni broj leukocita, segmentiranih i nesegmentiranih neutrofila i kortizola u plazmi te IgA u slini, kao i povećanje simptoma stresa u plazmi 8 atletičara nakon pojačane vježbe visoke izdržljivosti (trčanje) u razdoblju od 4 tjedna. U ovoj studiji zaključeno je da akutno razdoblje pojačanog vježbanja može uzrokovati nedostatan odgovor urođenog imunskog sustava i kronično povišenje IL-6 što je bilo povezano s povećanjem umora i nastankom opće slabosti, te bi moglo biti uzrokom tzv. neobjašnjene sindroma slabijih sportskih rezultata.

Speranza i sur. (2007.) opisuju da ozljede mišića predstavljaju jednu od najčešćih trauma kod sportskih aktivnosti. Osim ozljeda mišića koje se događaju tijekom samog natjecanja, u kojem slučaju sama trauma može biti slučajna, one mogu biti povezane s vrstom treninga i dogoditi se tijekom samog treninga ili kasnije. Točnije, ozljeda se može povezati s tipom mišićne aktivnosti, a može biti posljedica jedne kontrakcije ili niza kontrakcija. Općenito, ekscentrična kontrakcija, tijekom koje mišići proizvode snagu na način da se razvlače a ne kontaktiraju, čemu je slučaj kod koncentričnog rada, često je veliki uzrok ozljeda mišića na strukturalnoj razini.

Postoje, naime, podaci u literaturi koji pokazuju postojanje ozljeda mišića zbog koncentričnih kontrakcija. Uzroci ozljeda za ova dva tipa mišićnih aktivnosti su različiti: oštećenja mišića koju izazivaju koncentrirane vježbe, mogu nastati vjerojatno kao posljedica metaboličkog stresa, dok ekscentrična vježba može isprva izazvati rupturu u mišićnim vlaknima zbog fizičkog stresa, nakon čega mogu uslijediti metabolički događaji, slični onima kod koncentriranih vježbi.

U ovom istraživanju je korišten je izokinetički test, kako bi se točno mogle procijeniti mišićne aktivnosti. Zahvaljujući izokinetičkom dinamometru bilo je moguće proučiti razne funkcionalne mišićne parametre tijekom cijele koncentrične kontrakcije. U istraživanju je učestvovalo 20 neutreniranih muških ispitanika (studenti i osoblje sa sveučilišnog kampusa) Sveučilišnog centra za sportsku medicinu Chieti-Pescara. Program vježbanja sastojao se od ciklusa savijanja i ekstenzije koljena pri maksimalnom naporu u koncentrično-koncentričnom modalitetu na izokinetičkom dinamometru. Svaki ispitanik odradio je tri testa pri različitim kutnim brzinama: 30°/sekundi, 60°/sekundi i 90°/sekundi. Između testova svaki ispitanik imao je period oporavka u trajanju od 72 sata.

Nakon zagrijavanja u trajanju 2-3 minute, ispitanici su izvodili vježbu do stadija iscrpljenosti. Uzeta su tri različita uzorka krvi u različitim vremenskim periodima. Prvi uzorak uzet je u stanju mirovanja /prije vježbanja/, drugi uzorak uzet je pri maksimalnom opterećenju /na kraju vježbanja/, dok je treći uzorak uzet 45 minuta nakon vježbanja u fazi oporavka /u fazi oporavka mišića. Plazmatske vrijednosti kreatin-kinaze- MB izoenzima (CK – MB izoenzim) određivane su zbog svoje visoke specifičnosti za srčano tkivo, a samim tim i kao indikatora miokardijalnog oštećenja. Autori su ispitali jesu li plazmatski hipoksantin i ksantin korisni biomarkeri umora perifernih mišića kod ljudi prilikom vježbanja i druge fizičke aktivnosti. Uočeno je povećanje koncentracije hipoksantina u plazmi odmah nakon vježbanja i još više 45 minuta poslije vježbanja. Mioglobin u plazmi imao je nešto manje povećanje (u odnosu na hipoksantin) odmah nakon vježbanja i još više 45 minuta poslije vježbanja. Povećanje CK u plazmi nije bilo ovisno o tipu vježbe. Utvrđeno je povećanje koncentracije mokraćne kiseline, broj leukocita i CK, smanjenje udjela limfocita i nepromijenjenu koncentraciju CK-MB izoenzima u plazmi ispitanika odmah nakon vježbanja i 45 minuta poslije vježbanja. Autori su dokazali povećanje koncentracije CK u plazmi ispitanika na kraju vježbe, u fazama fleksije i ekstenzije koljena, kada dolazi do blagog postupnog smanjenja vrijednosti CK nakon 45 minuta poslije vježbanja, dakle, u fazi oporavka mišića. Dokazano je da je povećanje koncentracije CK u plazmi ispitanika i sam CK zapravo indikator strukturalnog oštećenja mišića. Kod vježbi kod kojih se zglob pomicao 90 stupnjeva/sekundi vrijednosti CK bile su veće.

Stoga se pretpostavlja da je u tom stanju značajno niža razina metaboličkog stresa, ali mišićne stanice su jače oštećene. Čak i u tom slučaju, ozljeda nije na patološkoj razini. Vrijednosti CK u plazmi ispitanika bile su veće kod vježbi koje se izvode u širem kutu kontrakcije u usporedbi s vježbama koje se izvode u nižem kutu kontrakcije. Ova studija zaključuje da hipoksantin i mioglobin mogu biti korisni biomarkeri umora perifernih mišića kod ljudi prilikom praćenja učinkovitosti opterećenosti radom i praćenja posljedica metaboličkog stresa na mišićno tkivo kod vježbanja ili rehabilitacijskih programa. Aktas i sur. (1993.) navode da se CK kod pasa nalazi u skeletnim mišićima, miokardu, mozgu i crijevima. CK-MM izoenzim prevladava u mišićima i miokardu. U plazmi pasa CK-MB izoenzim čini oko 30-45% ukupne aktivnosti CK. Spol nema utjecaja na aktivnost CK u plazmi, a koja je veća u mladim pasa u odnosu na odrasle pse. Plazmatski CK je povišen nakon fizičke aktivnosti pasa.



### 1.1.5. Metode za procjenu oksidacijskog stresa

Iako je poznato da je oksidacijski stres povezan s patofiziologijom nekih bolesti i sa starenjem, on se rutinski ne mjeri kod određivanja kliničkih dijagnoza bolesti. To je djelomice zato što još nisu uvedene standardizirane metode mjerenja oksidacijskog stresa u životinja i ljudi. Stoga je jedna od najvećih potreba u području biologije slobodnih radikala, razvijanje sigurnih i pouzdanih metoda za mjerenje statusa oksidacijskog stresa u ljudi (Pryor i Godber, 1991.).

Bradamante (2002.) je utvrdila da se oksidacijski stres kod ljudi može ispitati mjerenjem slobodnih radikala, oštećenja na lipidima, proteinima i DNA uzrokovanih djelovanjem slobodnih radikala kao i aktivnosti enzimskih antioksidansa. Biomarkeri služe za dokazivanje oksidacijskog oštećenja lipida, DNA i proteina.

Stanković i Radovanović (2012.) utvrdili su da mjerenje slobodnih radikala kod ljudi tj. proizvodnja ROS-a može biti određena izravno pomoću spektroskopske metode. Međutim, ova metoda nije primjenjiva za ispitivanje na ljudima zbog toksičnosti tvari koje se koriste. Za ispitivanje metodom spektroskopije uzimaju se uzorci krvi koji se najprije izlažu djelovanju stabilizatora ROS-a, a zatim se centrifugiraju i serum se spektroskopski analizira. Problem u primjeni ove metode je i u kratkom vremenu poluživota ROS-a. Koristi se i mjerenje oksidacijskih oštećenja na lipidima, proteinima i DNA. Lipidna peroksidacija je osnova za mjerenje oksidacijskog stresa, tj. vrši se mjerenje razine peroksidacije lipida u staničnoj membrani. Lipidna peroksidacija uzrokuje razgradnju lipida na veliki broj primarnih oksidacijskih produkata, kao što su konjugirani dieni (lipidne hidroperoksidaze) i sekundarnih oksidacijskih produkata uključujući tu MDA,  $F_{2\alpha}$ -izoprostan ili izdahnuti pentan, heksan ili etan. Često se primjenjuje mjerenje konjugiranih diena, kao primarnih produkata lipidne peroksidacije. MDA se također često koristi u istraživanjima. Uobičajeno je da se ona mjeri kroz svoju reakciju s tiobarbituratnom kiselinom. Kao indeks lipidne peroksidacije često se koristi i TBARS. Studije pokazuju da kvantificiranje  $F_{2\alpha}$ -izoprostana može biti pouzdana metoda za procjenu endogene lipidne peroksidacije i oksidacijskih oštećenja, kao što to mogu biti i drugi biomarkeri u krvi npr. oksidirani LDL ili protutijela za oksidirani LDL. Povećana količina karbonilnih skupina, tj. proteinskih karbonila (PC) povezana je s oksidacijskim stresom. Zato je mjerenje nastalih PC metoda koja se najčešće koristi za određivanje oksidacijskih oštećenja na proteinima.

Za još preciznije određivanje oksidacije proteina koristi se karbonil/proteinski omjer. ROS uzrokuje nekoliko vrsta oštećenja na DNA, a to su pucanje lanaca, oštećenja na proteinskim vezama i bazične modifikacije.

Brojne metode koriste se za kvantificiranje ovih oštećenja, a najčešće korišteni biomarker je 8-OHdG koji nastaje oksidacijom gvanina izazvanog slobodnim radikalima. Ostali neizravni biomarkeri oksidacijskog stresa su CK i mioglobin, a to su biomarkeri staničnog mišićnog oštećenja. Međutim, CK i mioglobin nisu specifični biomarkeri oksidacijskog stresa, osobito kod sportaša koji imaju visoku razinu ovih tvari zbog nekih aktivnosti mišića (npr. udarci, kontakti i sl.) koje izazivaju stanična oštećenja. Uz to, utrenirani sportaši imaju više bazalne vrijednosti obje ove tvari.

Lubrano i sur. (2002.) ukazuju na to da direktno mjerenje oksidacijskog stresa u tjelesnim tekućinama kod ljudi zahtijeva složene laboratorijske instrumente i postupak ekstrakcije. Cilj njihove studije bio je analizirati kolorimetrijsku metodu i procijeniti njezinu korist u kliničkom radu. Razine oksidacijskog stresa analizirane su kolorimetrijskim određivanjem slobodnih radikala (vodikov peroksid) u serumu ispitanika pomoću dROMs testa (engl. dROMs- *Reactive Oxygen Metabolites*), dok je ukupni antioksidacijski kapacitet (TAC) u serumu određen također kolorimetrijski pomoću OXY-adsorbenta. Razina biomarkera oksidacijskog stresa,  $F_{2\alpha}$ -izoprostana u plazmi ispitanika, određena je pomoću ELISA metode (imunoenzimski test). U ovoj studiji uočeno je povećanje koncentracije vodikovog peroksida u serumu i  $F_{2\alpha}$ -izoprostana u plazmi, kao i smanjenje koncentracije TAC u serumu ispitanika. Zaključeno je da su razine vodikovog peroksida i  $F_{2\alpha}$ -izoprostana, bile u negativnoj korelaciji s razinama TAC. Razina  $F_{2\alpha}$ -izoprostana bila je u pozitivnoj korelaciji s vodikovim peroksidom, a u negativnoj korelaciji s razinom TAC. Ova studija ukazuje na to da je analiza slobodnih radikala u serumu sa dROMs testom brza, jeftina, te ima dobar senzitivitet i reproducibilitet.

Pasquini i sur. (2010.) ukazuju da vježbanje povećava proizvodnju reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) do određene granice koja može biti veća od antioksidacijske obrane, te dovodi do oksidacijskog stresa u organizmu sisavaca.

Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti oksidacijski stres i vrijeme oporavka kod obučanih pasa tijekom dvije različite lovačke vježbe uz pomoć reaktivnih metabolita kisika (d-ROM) i bioloških antioksidacijskih potencijala (BAP). U istraživanju je sudjelovalo 9 obučanih talijanskih lovačkih pasa. Psi su obavili 20-minutnu aerobnu vježbu i aerobnu vježbu u trajanju od 4 sata nakon 30 dana odmora. Rezultati ovog istraživanja ukazuju da postoji oksidacijski stres nakon vježbanja zbog velike koncentracije oksidansa tj. reaktivnih metabolita kisika (d-ROM) i niske razine bioloških antioksidacijskih potencijala (BAP). Osim toga, vrijeme oporavka je brže nakon aerobne tjelovježbe od 4 sata u odnosu na 20-minutnu aerobnu vježbu.

Mesarić Bačić i Ivković (2015.) ukazuju da se laboratorijskim analizama uzoraka krvi može utvrditi visina oksidacijskog stresa, odnosno razina slobodnih radikala (ROS) u tijelu sisavaca, kao i sposobnost organizma da se protiv njih obrani. Najpoznatiji je dROMs test koji je spektrofotometrijski test kojim se mjeri razina oksidacijskog stresa mjerenjem koncentracije hidroperoksida (ROOH) u krvi. Povišene vrijednosti navedenog pokazatelja (ROOH) znak su povišene razine oksidacijskog stresa, odnosno stanja nesposobnosti organizma da se vlastitim snagama obrani od napada slobodnih radikala (ROS).

#### *1.1.6. Metode za procjenu antioksidacijskog statusa*

Enzimski antioksidacijska aktivnost (SOD, CAT, GPx) često se ispituje u ovakvim istraživanjima. Ova metoda može vrednovati kvalitetu antioksidacijske zaštite organizma u mirovanju, ali također može pokazivati i važnost oksidacijskog stresa, posebice nakon fizičke aktivnosti. Kvantificiranje antioksidacijskih vitamina (A, C i E) u plazmi je uobičajena metoda za procjenu antioksidacijske obrane i utvrđivanja nedostatka istih vitamina. Koncentracija i aktivnost antioksidacijskih enzima i koncentracija antioksidacijskih vitamina mijenja se uslijed oksidacijskog stresa i može se koristiti kao indirektni biljeg oksidacijskog stresa. Drugi antioksidansi koji se mogu koristiti u za procjenu antioksidacijskog statusa su tiolproteini (GSH kao najvažniji tiol-protein), mokraćna kiselina (nedovoljna pouzdanost) i alantoin (kao oksidirani proizvod mokraćne kiseline). Provodi se i mjerenje TAC u plazmi/serumu koje pokazuje veličinu odgovora svih antioksidansa na oksidacijski stres (Stanković i Radovanović, 2012.). Šurina (2018.) opisuje SOD kao enzim koji katalizira dismutaciju (disproporcionaciju) superoksidnog aniona ( $O_2^-$ ) u molekularni kisik ( $O_2$ ) i vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ).

Pripadaju skupini metaloenzima što znači da koriste metalne ione kao kofaktore. U eukariota postoji nekoliko izoformi koje se razlikuju po vrsti metalnog kofaktora i lokalizaciji u stanici. Kako SOD predstavlja „prvu crtu obrane“, nalazi se na mjestima najveće produkcije  $O_2^-$ , a to su mitohondriji, citosol, te u manjim količinama peroksisomi izvan stanice. Poznato je da je konstanta reakcije citosolne i mitohondrijske SOD je  $K \sim 109 M^{-1}s^{-1}$ , što upućuje na visoku aktivnost i važnost u obrani od  $O_2^-$ , iako joj aktivnost ovisi o zalihama metalnih iona u stanici odnosno tkivu. Citosolna Cu/Zn SOD je homodimer i veže dva metalna iona: Zn stabilizira histidinski ogranak na aktivnom mjestu, a Cu je odgovoran za prijenos elektrona s jedne molekule  $H_2O_2$  na drugu. Općenito, u prvom se koraku  $O_2^-$  oksidira, uz redukciju metalnog iona, a u drugom se  $O_2^-$  reducira, uz oksidaciju metalnog iona. Iako smanjuje količinu  $O_2^-$  u organizmu, SOD proizvodi  $H_2O_2$  pa je za kompletnu detoksifikaciju potrebno djelovanje enzima koji razgrađuju  $H_2O_2$  kao što su CAT ili GPX. Njezina aktivnost se može mjeriti kolorimetrijski koristeći tetrazolijeve soli kao supstrat. Ukupni antioksidacijski status (TAS) (engl. TAS- *Total Antioxidant Status*) je pokazatelj kojim se određuje sposobnost tkiva, plazme ili seruma organizma da neutralizira reaktivne spojeve kisika i spriječi nastanak oksidacijskog stresa. Određivanje TAS nema specifičnu vrijednost i rjeđe se primjenjuje u praksi, no postoje istraživanja u kojima se upotrebljava TAS kao metoda otkrivanja oksidacijskog stresa nakon fizičke aktivnosti. Za određivanje TAS se koristi tzv. TAS test (egl. *Total Antioxidant Status assay*), pri čemu se pomoću Randox TAS kita kolorimetrijskom metodom određuje kvantitativno ukupni antioksidacijski status uzorka tkiva, plazme ili seruma ispitanika u svrhu određivanja antioksidacijskog statusa cjelokupnog obrambenog sustava u organizmu.

Pastore i sur. (2003.) utvrdili su da je određivanje koncentracije glutationa u ljudi visoko senzitivian pokazatelj funkcioniranja i sposobnosti preživljavanja stanica. Nekoliko metoda je optimizirano kako bi se identificiralo i kvantificiralo oblike glutationa u humanim biološkim uzorcima. One uključuju spektrofotometrijske, fluorometrijske i bioluminometrijske metode. Razvijena je, također, tehnika tekuće kromatografije uz masenu spektrometriju za određivanje glutationa. Ova studija je korisna za analiziranje homeostaze glutatonina, čije smanjenje predstavlja pokazatelj oksidacijskog statusa u ljudskim tkivima.

### 1.1.7. Metode za procjenu umora perifernih mišića

Najpoznatiji biomarkeri umora perifernih mišića u serumu ljudi su laktat i interleukin-6 (IL-6). Najčešća klinička primjena tj. *screening* za procjenu umora perifernih mišića u ljudi izvodi se pomoću laktat stres testa. Ovaj test otkriva poremećaj koji nastaje zbog manjkavog oksidacijskog mehanizma mitohondrija u perifernim mišićima.

Ostale metode mjerenja biomarkera umora perifernih mišića ovise o dobi, spolu, fizičkoj aktivnosti, opskrbi energijom tijekom vježbanja, tipu vježbe i jesu li ispitanici zdrave ili bolesne osobe. Biomarkeri umora perifernih mišića moraju biti promjenjivi u odnosu na proces koji se prati, bez značajnih dnevnih varijacija, dobro korelirati s intenzitetom vježbanja, biti prisutni u mjerljivim količinama u lako dostupnim biološkim tekućinama. Zato je mjerenje biomarkera umora perifernih mišića tijekom vježbanja i umora u praksi slabo prihvaćena metoda. Ipak, mjerenje biomarkera umora perifernih mišića pod određenim, standardiziranim uvjetima, čini se korisno za procjenu biološkog statusa ili procesa tijekom vježbanja i umora (Finsterer, 2012.).

Chamizo i sur. (2001.) su utvrdili da citokini imaju važnu ulogu u reguliranju imunološkog sustava, ali stanice koje se nalaze u plazmi čine rutinsko mjerenje teškim. Autori su u svojoj studiji koristili metodu RT-polimeraznu lančanu reakciju (RT-PCR) kako bi odredili ekspresiju multiplih citokina (TNF- $\alpha$ , IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-18, IL-4, IL-6 i IL-10) koristeći početnice (engl. *primer*) i protokole koji omogućavaju specifično povećanje mRNA u pasa. Ova metoda je korištena kako bi se analizirao mRNA profil citokina mononuklearnih stanica periferne krvi u zdravih pasa. U studiji je utvrđeno da je ova metoda praćenja mRNA ekspresije citokina jednostavna za uporabu, reproducibilna i može se upotrijebiti za razumijevanje imunološkog odgovora u pasa.

### 1.1.8. Oksidacijski stres i fizička aktivnost

König i sur. (2001.) smatraju da intenzivan mišićni rad dovodi do stvaranja velike količine reaktivnih oblika kisika (ROS). Kako bi se spriječio oksidacijski stres, organizam sisavaca sadrži veliki broj neenzimskih i enzimskih antioksidansa koji sprječavaju nastanak ROS-a ili uklanjaju slobodne radikale.

Oksidacijski stres može dovesti do oštećenja ili uništenja molekula u stanici kao što su lipidi, proteini i nukleinske kiseline. Oksidacijski stres povezuje se sa smanjenom fizičkim aktivnošću, mišićnim umorom, oštećenjem mišića i pretreniranošću. Pretpostavlja se da fiziološka količina antioksidansa u tijelu nije dovoljna da spriječi oksidacijski stres izazvan tjelovježbom i da su potrebni dodatni antioksidansi za smanjenje oksidacijskog stresa, oštećenja mišića ili upale. Međutim, neka istraživanja dokazala su postojanje oksidacijskog stresa nakon vježbanja, a uzimanje dodatnih antioksidansa kao dopuna prehrani, u cilju smanjenja oksidacijskog stresa, je dvojbeno. Osim toga, jasna povezanost između količine mišićnog, metaboličkog, hormonskog ili upalnog stresa uzrokovanog vježbanjem i razine antioksidacijskih vitamina ne može se točno utvrditi. Stoga, nema znanstvenih dokaza koji bi preporučili uzimanje povećane količine antioksidansa fizički aktivnim osobama, nego se preporuča zdrava i uravnotežena prehrana koja je bogata antioksidansima. Sacheck i Blumberg (2001.) smatraju da reaktivni oblici kisika (ROS) igraju važnu ulogu kao medijatori oštećenja skeletnih mišića i upale nakon napornih vježbi.

ROS uglavnom nastaju zbog povećane potrošnje mitohondrijskog kisika i prijenosa elektrona. Intenzivno vježbanje povezano je s povećanjem lipidne peroksidacije, stvaranjem malondialdehida i  $F_{2\alpha}$ -izoprostana, te oslobađanjem mišićnih enzima LDH i CK. Bloomer (2008.) navodi da kratkotrajno izvođenje aerobnih i anaerobnih vježbi može dovesti do oksidacijskog stresa, što dokazuje povećanje oksidiranih molekula u različitim tkivima i tjelesnim tekućinama organizma sisavaca. Veličina oksidacije ovisi o načinu, intenzitetu i trajanju vježbanja, te je povezan sa stupnjem proizvodnje oksidansa. Dok kratkotrajna akutna vježba dovodi do oksidacijskog stresa, čini se da je vježbanje potiče regulaciju endogene proizvodnje antioksidansa.

Matković i Ružić (2014.) ukazuju da sportski trening izaziva niz promjena u mišićima, koje znatno ovise o vrsti trenažnog procesa kojemu je osoba podvrgnuta. Promjene se odvijaju na razini pohrane tvari potrebnih za energiju, opskrbe krvi, količine bjelančevina, broja miofibrila i sarkomera, koncentracije mioglobina- nositelja kisika u mišiću i sl. Najčešće se u sportaša, koji su pod utjecajem *treninga jakosti*, uočava povećanje mišićne mase. Uglavnom je to posljedica hipertrofije mišićnih stanica, tj. povećanja volumena mišićnih stanica zbog umnažanja aktinskih i miozinskih niti. Paralelno se može odvijati i porast zaliha ugljikohidrata i glikogena u stanici.

Trening jakosti uglavnom povećava veličinu vlakana tipa II, a zabilježena je i povećana aktivnost enzima koji sudjeluju u anaerobnim energetske procesima (procesima koji se odvijaju bez prisutnosti kisika), dok je mitohondrijska aktivnost smanjena. Ne uočava se povećanje broja kapilara. Na samom početku, u prvih nekoliko tjedana treninga (8 – 12 tjedana), jakost se povećava zbog živčane prilagodbe u smislu poboljšanja intramuskularne (unutarmišićne) i intermuskularne (međumišićne) koordinacije. To znači da se povećava broj motoričkih jedinica koje se mogu kontrahirati istovremeno te dolazi do bolje sinkronizacije, vremenskog usklađivanja regrutacije motoričkih jedinica. Vjerojatno dolazi i do povećanja broja mišićnih stanica – hiperplazija, ali to, zasada, još izaziva rasprave znanstvenika, a izraženo je u manjem omjeru (< 5%). *Trening izdržljivosti* kao posljedicu izaziva povećanje aktivnosti enzima koji sudjeluju u aerobnim energetske procesima, povećanje broja kapilara u mišićima, prije svega oko sporih vlakana, povećanje broja i aktivnosti mitohondrija aktivnosti, a sve s ciljem boljeg dostavljanja i upotrebe kisika u dobivanju energije iz ugljikohidrata i masti, prvenstveno masti. Na ovaj način organizam se prilagođava na veću sposobnost potrošnje kisika u jednoj minuti (*primitak kisika*), što se manifestira kroz povećanu izdržljivost športaša, duže podnošenje većih intenziteta, npr. trčanja, plivanja kao i odgodu nastanka umora kod dugotrajnih aktivnosti. Autori navode da bilo kakva aktivnost mišića značajno povećava potrošnju energije, a teški fizički rad u trenirane osobe može povećati metaboličku aktivnost i više od 10 puta. Hranjive tvari ne koriste se direktno za mišićni rad, nego se energija oslobođena iz hranjivih tvari (glukoza, masne kiseline, eventualno aminokiseline) ne upotrebljava za obnovu jedinog spoja koji mišić može koristiti direktno, a to je spoj bogatog energijom *adenozin-trifosfata (ATP)*. ATP je jedina tvar koja u stanici služi kao izravni izvor energije za sve njezine aktivnosti. Uz pretpostavku primjerene prehrane, organizam ima za dobivanje energije, tj. za obnavljanje potrošenog ATP-a na raspolaganju hranjive tvari: male zalihe već formiranog ATP-a (adenozin-trifosfata) i KP-a (kreatin fosfata) u mišićnim stanicama, vrlo malo glukoze u krvi, zalihe glikogena u mišićima i jetri, nešto malo masti u samim mišićima-intramuskularni trigliceridi, zalihe masti u potkožnom masnom tkivu; velike zalihe bjelančevina u tkivima koje organizam čuva dok god ima na raspolaganju dovoljno ugljikohidrata i masti, a te bjelančevine neće koristiti za dobivanje energije za rad osim u ekstremnim slučajevima gladovanja i iscrpljenja. Navedene zalihe potencijalne energije mišić može koristiti za obnovu ATP-a uz pomoć kisika (aerobno) i bez kisika (anaerobno).

Koju vrstu tvari i na koji od dva načina će koristiti, značajno je pod utjecajem vrste, intenziteta i trajanja aktivnosti koju obavlja. U pravilu za kratkotrajne intenzivne aktivnosti koristi se energija iz energetski bogatih fosfata (ATP-a i KP-a). Na ovaj način visoko intenzivna aktivnost iscrpi zalihe ATP-a za 3-5 sekundi, a nakon toga ATP- se obnavlja iz kreatin fosfata. Ova obnova je učinkovita i brza jer se na račun svake molekule kreatinfosfata stvara jedna molekula adenozintrifosfata, ali rezerve kreatinfosfata u mišiću su male, i kod maksimalnih opterećenja može doći do gotovo potpunog iscrpljenja tih rezervi u sljedećih 10-ak sekundi. Ovi procesi pripadaju u anaerobno dobivanje energije jer za obnovu ATP-a iz kreatinfosfata nije potreban kisik. Ako visoko intenzivna aktivnost traje duže, npr. sprint na 200 ili više metara, u trajanju do najviše 90-ak sekundi, tada će se energija i dalje dobivati anaerobno, ali će sada izvor za obnovu ATP-a biti ugljikohidrati, glukoza i glikogen u procesu koji se zove *anaerobna glikoliza*. Anaerobna glikoliza je pojam koji se odnosi na razgradnju glukoze u anaerobnim uvjetima do pirogroždane kiseline, i dalje do mliječne kiseline, a odvija se u citoplazmi stanice. Ovaj proces je dominantni izvor energije za sve aktivnosti visokog intenziteta u trajanju od 20-90 sekundi, što znači da sportaši iz sportova kao što su skijanje, borilački sportovi, utrke na 400, 800 m, hokej i sl., većinu svoje energije dobivaju upravo tako. Ovakve visoko intenzivne aktivnosti nije moguće obavljati dulje vrijeme, nakon 2 minute ovakvih aktivnosti sportaš obično treba odmor ili smanjenje intenziteta rada. To se događa zbog toga što u procesu anaerobne glikolize dolazi do stvaranja nusprodukta, *mliječne kiseline (laktata)*, koja zbog nakupljanja dovodi do poremećaja homeostaze, izaziva osjećaj boli i umora. Iako je ovaj proces brz, on je neekonomičan, ipak, to je jedini način da organizam obnavlja ATP pri visokom intenzitetu aktivnosti koje traju 2 do najviše 3 minute. Aerobno dobivanje energije iz masti i ugljikohidrata je učinkovit sustav dobivanja energije jer na ovaj način oksidacijom jednog mola glukoze nastaje ukupno 32 mola ATP-a. Oksidativnim procesima moguće je oslobađanje energije iz raznovrsnih i bogatih hranjivih tvari: ugljikohidrata, masti i bjelančevina, iako će u svakodnevnom životu i u sportskim aktivnostima, proteine organizam štedjeti, zato se ovakav način dobivanja energije odnosi, prvenstveno, na razgradnju masti i ugljikohidrata u mitohondrijima uz oksidacijske enzime. Prednost ovog sustava je i u tom što krajem razgradnje nastaju ugljični dioksid i voda, koji ne narušavaju homeostazu nego je na ovakav način moguće raditi dugo, npr. u sportovima izdržljivosti, bez pojave umora.



Zapravo, aerobni način dobivanja energije iz masti i ugljikohidrata je osnovni način kojim cijeli život organizam opstaje, u mirovanju i pri nižim intenzitetima na taj način se dobivaju neprestano nove molekule ATP-a. *Primitak kisika* je količina kisika koju organizam troši u jednoj minuti. Može se iskazivati u apsolutnim ( $L/min^{-1}$ ) ili relativnim jedinicama ( $ml/kg/min^{-1}$ ), a pokazatelj je aerobnog metabolizma, odnosno, aerobne obnove ATP-a. U mirovanju, primitak kisika procjenjuje bazalne energetske potrebe (*bazalni metabolizam*). U prosjeku, u odraslih osoba primitak kisika u mirovanju kreće se oko 0,25 l/min ( $3,5 ml/kg/min^{-1}$ ). Aerobne funkcionalne sposobnosti organizma mogu se odrediti putem količine (volumena) kisika koji potrošimo vježbajući maksimalnim intenzitetom.

*Maksimalni primitak kisika* ( $VO_{2max}$ ) je najveća količina kisika koju organizam može potrošiti u jednoj minuti. Sportaši s boljim aerobnim sposobnostima, imaju i veći maksimalni primitak kisika po kilogramu tjelesne mase, te se očekuje da će sportaši iz tipično aerobnih sportova imati veći maksimalni primitak kisika od ostalih. Kemijska sposobnost mišićnih stanica da upotrebljavaju kisik u proizvodnji energije, i sposobnost krvožilnog i respiracijskog sustava da prenose kisik do mišića, ograničavajući su čimbenici aerobnih sposobnosti.

Prema najčešćem shvaćanju, sportovi se dijele prema udjelu pojedinih energetskih sustava na: anaerobne, aerobno-anaerobne sportove i na aerobne sportove, a pojedina aktivnost iznimno je rijetko "čisto" anaerobna ili aerobna. Ako iz mirovanja prijedemo u neku aktivnost, potrebno je više kisika, a organizam nema mogućnost pohrane većih količina kisika. Zbog toga će se u prvim minutama aktivnosti trošiti energija iz anaerobnih izvora, ATP, KP, eventualno iz anaerobne glikolize, i to sve dok se ne uspostavi nova homeostaza uz viši primitak kisika. Na kraju aktivnosti te izvore treba obnoviti, treba razgraditi (oksidirati) stvorenu mliječnu kiselinu, a za sve to treba kisik. Tako se u oporavku troši više kisika, nego što je trenutna energetska potreba, i ta ukupna količina kisika, koja se u oporavku potroši iznad razine zabilježene u mirovanju, naziva se *dug kisika* ( $DO_2$ ) ili, u novije vrijeme, sve češće *prekomjerni primitak kisika u oporavku* (engl. EPOC - *excess post-exercise oxygen consumption*). Neposredno po prestanku rada, uz pomoć kisika obnavljaju se zalihe ATP i kreatinfosfata te se za tridesetak sekundi obnovi oko 50% fosfagenih izvora, a za potpuni povratak zaliha na stanje kao u mirovanju, potrebne su oko 2 minute. Smatra se, da oko 10% ukupnog duga se potroši na obnovu fosfagenih izvora energije. Nadalje, obnavljaju se zalihe kisika u mioglobinu i u krvi.

Naravno, nešto kisika se troši na još uvijek ubrzani rad dišnoga i srčanožilnog sustava, kao i na odstranjivanje laktata. Najvećim uzrokom prekomjernog primitka kisika u oporavku, smatra se povišena tjelesna temperatura. Naime, za vrijeme aktivnosti, tijelo se zagrijava zbog stvaranja topline kao nusprodukta pri pretvaranju kemijske energije u mehaničku u skeletnim mišićima. Za svaki stupanj Celzija, za koji poraste tjelesna temperatura, metabolizam se povećava za približno 13–15%. Kako za hlađenje tijela treba neko vrijeme, tako se i u oporavku metabolizam još jedno vrijeme zadržava na višoj razini, što podrazumijeva i veću potrošnju kisika. Postavlja se pitanje kada će organizam upotrebljavati aerobni način obnove ATP-a, a kada anaerobni. Za aktivaciju anaerobnog načina dobivanja energije ključan je intenzitet aktivnosti, tj. intenzitet pri anaerobnom pragu. Pojam *anaerobnog praga* se objašnjava kao kritični intenzitet rada, pri kojem organizam svojim puferskim mehanizmima može održavati stabilnu koncentraciju laktata (mliječne kiseline), tj. prelazak toga kritičnog intenziteta rada podrazumijeva veće angažiranje anaerobnih sustava, a posljedično i porast mliječne kiseline u mišićima i krvi. Zbog toga se u literaturi još ponekad naziva i *MAXLASS* ili eng. *maximal lactate steady state*. Intenzitet rada je u proporcionalnom odnosu s koncentracijom mliječne kiseline u krvi tek nakon prelaska anaerobnog praga. Intenzitet rada može biti određen, na primjer, brzinom trčanja, opterećenjem na bicikl-ergometru ili brzinom plivanja. Aerobni trening na prag sportaša iz anaerobnih sportova trebao bi utjecati tako da oni anaerobni prag prelaze kasnije, tj. pri većem postotku od maksimalnog primitka kisika, maksimalne frekvencije srca i maksimalnog intenziteta rada. S obzirom na srčanožilni sustav i tjelesnu aktivnost, povećanje frekvencije srca i/ili udarnog volumena povećava minutni volumen srca i protok krvi, a krv se redistribuira. Ove promjene različite su s obzirom na vrstu, trajanje ili intenzitet aktivnosti.

Pri *laganom i umjerenom dinamičnom opterećenju*, na samom početku aktivnosti dolazi do povećanja minutnog volumena srca, koji raste na osnovi povećanja i frekvencije srca i udarnog volumena. Već za dvije do tri minute dolazi do stabilizacije vrijednosti tih pokazatelja, što znači da zapravo energetska opskrba u potpunosti zadovoljava energetske potrebe. Protok krvi je uvijek takav da je prilagođen najnižoj razini koja u potpunosti zadovoljava potrebe određenog tkiva.

*Pri dugotrajnom, ali još uvijek submaksimalnom radu* promjene minutnog volumena srca vrlo su slične kao i pri laganom dinamičnom opterećenju, ali se stabilno stanje postiže na višoj razini jer su energetske potrebe veće. Na početku ovo je povećanje rezultat porasta i udarnog volumena i frekvencije srca. Međutim, nakon tridesetak minuta aktivnosti, udarni se volumen postupno počinje smanjivati. Razlog treba potražiti u procesima vezanima uz termoregulaciju: smanjenje volumena plazme i preusmjeravanje krvi u potkožno tkivo da bi se odstranila suvišna toplina. U slučaju stalnog povećanje intenziteta u dinamičnom opterećenju, *progresivni intenzitet*, dolazi do gotovo linearnog povećanja minutnog volumena srca približno do 40-50% opterećenja. Ovo povećanje je posljedica povećanja i udarnog volumena srca i frekvencije srca. Međutim, nakon toga porast je vezan isključivo uz povećanje frekvencije srca jer se udarni volumen stabilizira, čak i kod netreniranih ili umjereno treniranih osoba blizu maksimalnog opterećenja može se doći i do smanjivanja vrijednosti udarnog volumena. Frekvencija srca raste također linearno, proporcionalno opterećenju, da bi se stabilizira pri maksimalnom opterećenju na vrijednostima od oko 200 otkucaja/min za, npr. mlađu osobu od 20-ak godina. Stanice miokarda sposobne su kontrahirati i više od 300 puta u minuti, međutim to se ne događa jer bi bilo potpuno nekorisno. Naime, ne bi bilo dovoljno vremena za punjenje ventrikula krvlju. *Statična opterećenja* kao podizanje, ili nošenje tereta, ili dizanje utega, izazivaju promjene koje su povezane najvećim dijelom s intenzitetom kontrakcije. Isto se javlja povećanje minutnog volumena srca, ali ovdje se to događa samo na temelju povećanja frekvencije srca. Naime, udarni volumen se ne mijenja, ili se čak i smanjuje, ovisno o jačini kontrakcije mišića. Što je jača kontrakcija, to je smanjenje udarnog volumena veće, jer jača kontrakcija zaustavlja cirkulaciju. Odmah po prekidu statične kontrakcije dolazi do izraženog povećanja udarnog volumena, ali i frekvencija srca i minutni volumen se smanjuju. Autori zaključuju da je protok krvi kroz aktivne mišiće za vrijeme statičnog opterećenja smanjen ili potpuno zatvoren, ovisno o jakosti mišićne kontrakcije koja mehanički zaustavlja kretanje krvi kroz krvne žile, te je uočljiv značajan porast, kako sistoličkog, tako i dijastoličkog tlaka, na što osobito treba paziti prilikom treninga u teretani kod osoba koje imaju povišeni arterijski krvni tlak.

Banfi i sur. (2012.) smatraju da fizička aktivnost u obliku vježbe uzrokuje prilagodbe u metabolizmu organizma sportaša koje se smatraju korisnima za zdravlje.

Intenzivna i kontinuirana vježba, trening i natjecanja, međutim, mogu izazvati promjene u serumskim koncentracijama brojnih laboratorijskih pokazatelja. U sportaša treba uzeti u obzir da povećanje serumske koncentracije aspartat-aminotransferaze (AST) nastaje zbog njegovog oslobađanja iz mišića, a povećanje serumske koncentracije alanin-aminotransferaze (ALT) nastaje zbog njegovog oslobađanja uglavnom iz jetre, te povećanje koncentracije serumskog bilirubina nastaje zbog kontinuirane hemolize, što je tipično za vježbanje. Parametri metabolizma mišića, kao što je kreatin kinaza (CK), obično se fiziološki povećavaju nakon vježbanja. Ovaj se parametar može upotrijebiti za tumačenje fiziološkog oslobađanja CK iz mišića, a njegovo izmijenjeno oslobađanje nastaje zbog rabdmiolize ili nepotpunog oporavka zbog pretreniranosti ili kod traumatskog oštećenja mišića. Tijekom vježbanja oslobađaju se srčani markeri, a posebno tijekom vježbi izdržljivosti. Povećanje tih markera nastaje kao prilagodba miokarda na povećane zahtjeve za kisikom zbog povećane fizičke aktivnosti. Funkcija bubrega može se pratiti kod sportaša mjerenjem koncentracije kreatinina u serumu, ali ovo treba tumačiti s obzirom na indeks tjelesne mase (BMI) i vrijeme natjecateljske sezone. Vježbanje uzrokuje prilagodbu metabolizma glukoze koja poboljšava iskorištenje glukoze kod sportaša i dovodi do smanjenja inzulinske rezistencije (neosjetljivosti) kod osoba koje nisu sportaši. Sportske aktivnosti potiču bolji profil lipida u krvi od profila kod osoba koje se ne bave sportom.

Razlike između sportaša i osoba koje se bave sportom uglavnom su posljedica povećanja koncentracije lipoproteinskih kolesterola visoke gustoće (HDL) kod fizički aktivnih pojedinaca, iako postoje određene razlike među sportskim disciplinama. Utjecaj sporta na serumske i urinarne biomarkere za metabolizam kostiju nije točno utvrđen, pa su, stoga, potrebna daljnja istraživanja kako bi se točno odredio utjecaj sporta na pregradnju kosti i njegov blagotvorni učinak na zdravlje kostiju.

Mikulić (2015.) ukazuje da dobro poznavanje fizioloških procesa vezanih uz sportski trening i natjecanja, omogućuje sportašima i trenerima bolje rezultate, kvalitetnije treninge te ojačan metabolizam i zdravlje. Ljudski pokret i tjelesna aktivnost omogućuje oslobađanje energije u mišićima, a specifičnim trenažnim postupcima povećavaju se energetske kapacitete i sposobnost njihove upotrebe i regeneracije.

Hinchcliff i sur. (1997.b) su proučavali koliki je metabolizirani unos energije i potrošnja energije u aljaških pasa za vuču saonica tijekom naporene utrke na velikim udaljenostima u uvjetima veoma niske vanjske temperature zraka. U istraživanju je sudjelovalo 9 aljaških pasa za vuču saonica u utrci pasa na 490 km tijekom 70 sati. Psi su završili trku s prosječnom brzinom od 7 km/sat na vanjskoj temperaturi zraka od -35 do -10 ° C. Ukupni metabolički gubitak energije, iznosio je 47,100 +/- 5,900 kJ / d (4.400 +/- 400 kJ/kg-0.75 / d), a unos energije metabolizma bio je 44.600 kJ/d (4.100 kJ/kg-0.75/d) tijekom 70-satne utrke. Zaključuje se da je brzina metabolizma za aljaške pse bila velika za velike sisavce kakvi su psi za vuču saonica. Dokazano je, stoga, da je iznimno velik metabolički gubitak energije u tih pasa nastao zbog dugotrajne fizičke aktivnosti i vježbanja u uvjetima ekstremne hladnoće.

Poznato je da je leptin hormon kojeg proizvode masne stanice u organizmu sisavaca. U organizmu ima ulogu razdjelnika jer upravo on odlučuje koji će hranjivi sastojci postati izvorom energije, a koji će se pohraniti kao mast. Prilikom gladovanja razina leptina u organizmu pada i tada se pokreću hormonski, metabolički i kognitivni mehanizmi koji prilagođavaju organizam na nedostatak hrane. Uslijed tih procesa dolazi do pojačanja apetita ali i do smanjene potrošnje energije. Adiponektin je genski proizvod masnog tkiva. On je adipocitokin. Nivo adiponektina se povećava sa gubitkom tjelesne težine. Irisin je hormon koji se stvara u mišićima, ali se tamo ne zadržava. On ulazi u krvotok pa putuje do masnih stanica gdje dovodi do pretvorbe običnih masnih stanica u smeđe masne stanice koje su metabolički aktivne, one koriste kisik i za svoje funkcije trebaju energiju, što znači da troše kalorije. Irisin posredno potiče veću potrošnju energije. Nakon vježbanja dolazi do povećanja nivo irisina u odnosu na nivo prije vježbanja. Bell i sur. (2016.) istraživali su učinke kratkotrajnih anaerobnih vježbi i dugotrajne aerobne vježbe na koncentracije leptina, adiponektina i irisina u sportskim sprinterskim sportovima u natjecanjima sprinta i izdržljivosti. U istraživanju je sudjelovalo 25 trkačkih pasa hrtova koji su trčali na oko 400 m. Uzorci krvi pasa dobiveni su prije trčanja u utrci, 10 minuta i 120 minuta nakon trčanja. U ovom istraživanju također je sudjelovalo i 16 pasa za vuču saonica u vježbi izdržljivosti u utrci pasa koja se provodila u prosjeku 3,5-5 sati dnevno kroz 5 dana, a uzorci krvi psima su vađeni odmah nakon utrke, te 2 i 8 dana nakon utrke.

Rezultati istraživanja ukazuju da je koncentracija leptina u krvi trkaćih pasa hrtova prije trčanja u utrci manja u odnosu na vrijednosti u kućnih pasa, vjerojatno zbog manjeg sadržaja tjelesne masnoće kod ovih sportskih pasa. Koncentracija leptina u krvi pasa za vuču saonica je nešto veća u odnosu na pse hrtove. Koncentracija adiponektina u krvi prije natjecanja, u obje skupine pasa, bila je u prosjeku niža od vrijednosti kod kućnih pasa. Utvrđeno je da dugotrajna aerobna vježba izdržljivosti kod polarnih pasa (pasa koji vuku saonice) dovodi do trajnog smanjenja koncentracije leptina u krvi koji se čini neovisnim o gubitku mase povezanom s pasminom, bez značajnih promjena u koncentracijama adiponektina ili irisina. Kratkotrajna anaerobna vježba trkaćih pasa hrtova nije dovela do nikakve promjene u koncentracijama leptina i adiponektina, no dolazi do značajnog povećanja koncentracije irisina 10 minuta nakon vježbanja, što se smatra kompenzacijskim mehanizmom za obnovu ATP homeostaze u skeletnim mišićima.

Stephens-Brown i Davis (2018.) navode da fizička aktivnost i vježbanje povećavaju potrebu za unosom vode u organizmu sisavaca, ali malo je podataka u literaturi o količini gubitka vode u organizmu pasa koji obavljaju višednevnu vježbu. Autori su ispitivali koliki je dnevni promet vode u organizmu pasa tijekom višednevne vježbe. U istraživanju je sudjelovalo 15 labrador retrievera obučenih za otkrivanje eksploziva i 16 pasa za vuču saonica koji se natječu u utrci pasa na velike udaljenosti. Psi za otkrivanje eksploziva provodili su 5 dana simuliranu vježbu otkrivanja eksploziva, a psi za vuču saonica završili su za 2 dana utrku na 222 km. Rezultati istraživanja pokazuju da je ukupna tjelesna voda (% tjelesne težine) varirala je od  $60\% \pm 8.6\%$  u mirovanju, a nakon vježbe do  $74\% \pm 4.5\%$  u pasa labrador retrievera. Zaključuje se da na potrebu za unosom vode u organizam sisavaca prvenstveno utječe veličina i intenzitet fizičke aktivnosti koju organizam obavlja.

Ahlstrøm i sur. (2011.) opisivali su kako izgleda lov uz pomoć lovačkih pasa u nordijskim zemljama u zimskim uvjetima. Autori su istraživali dnevnu potrošnju energije i promet vode u organizmu u 8 lovačkih pasa tjelesne mase od 14-27 kg koji su u lovu trčali 3 sata tijekom 3 dana na vanjskoj temperaturi zraka od  $-6^{\circ}\text{C}$  i na zemljištu koje je prekriveno s 20-40 cm snijega. Dnevna potrošnja energije rasla je s povećanjem tjelesne mase pasa ( $P < 0,001$ ) i varirala između 7,20 i 16,6 MJ/dan (srednja vrijednost 11,0 MJ/dan) što odgovara 950-1350 kJ/kg tjelesne mase (0,75) po danu (srednja vrijednost 1170 kJ/kg tjelesne mase (0,75) po danu).

Veći psi trčali su u lovu duže nego manji psi i stoga su trošili više energije po kg tjelesne mase (0,75), ali ne značajno ( $P > 0,05$ ). Srednja vrijednost prometa vode u organizmu bila je 217 ml/kg tjelesne mase (0,75) ili 19 ml/kJ energije koja se može metabolizirati. Zaključili su da dnevna potrošnja energije raste s povećanjem tjelesne mase pasa. Dobivene vrijednosti dnevne potrošnje energije bile su slične vrijednostima izmjerenim za trčanje lovačkih pasa u lovu u trajanju od 3 sata na visokoj vanjskoj temperaturi zraka (vrućoj klimi), što upućuje na to da klimatski čimbenik ima veoma mali utjecaj na potrošnju energije u fizičkoj aktivnosti lovnih pasa. U usporedbi sa psima za vuču saonica, dnevna potrošnja energije bila je mnogo manja zato jer su psi za vuču saonica trčali u utrci svakodnevno na velike udaljenosti. Također je povećana potrošnja energije u lovačkih pasa prilikom trčanja u lovu na zemljištu koje je bilo prekriveno snijegom.

Lundby i Jacobs (2016.) izvijestili su o postojanju dviju podvrsta mitohondrija skeletnih mišića u sisavaca koji vježbaju, a to su intermiofibrilarni mitohondriji i subsarkolemalni mitohondriji. S učestalim vježbanjem volumna gustoća mitohondrija se može povećati do 40%, uglavnom na račun povećanja broja intermiofibrilarnih mitohondrija. Prilagodbe mitohondrijske funkcije potaknute vježbanjem ovise o intenzitetu treninga i to se objašnjava povećanom ekspresijom mitohondrijskih enzima koji olakšavaju aerobni metabolizam. Iako se broj mitohondrija često povećava s učestalošću vježbanja, čini se da mitohondrijske prilagodbe nisu potrebne kako bi se omogućio maksimalni unos kisika, dok su takve prilagodbe važnije za kapacitet izdržljivosti sportaša tijekom vježbe.

Miller i sur. (2015.) navode da je *Canis lupus familiaris*, pripitomljeni pas, sposoban za ekstremnu (veliku) izdržljivost. Sposobnost obavljanja aerobne vježbe ovisi o dobro razvijenom mitohondrijskom retikulumu. U ovom istraživanju autori su ispitivali sintezu mišićnih proteina i DNA u skupinama sportskih pasa na početku vježbanja i nakon napornog vježbanja. Prepostavili su da će na početku i tijekom vježbanja doći do povećanja sinteze mitohondrijskih proteina u usporedbi s kontrolnom skupinom pasa koji su u mirovanju, bez razlike u stupnju sinteze miješanih ili citoplazmatskih proteina. Obje skupine pasa imale su vrlo visok stupanj sinteze proteina skeletnih mišića u mirovanju u odnosu na kontrolnu skupinu u mirovanju. Sinteza mitohondrijskih proteina nisu se povećala na početku vježbanja. Kod pasa koji su vježbali došlo je do sinteze mitohondrijskih proteina tijekom vježbanja, kada su miješane i citosolne frakcije smanjene.

Suprotno početnoj hipotezi, zaključuje se da psi nisu imali veliki stupanj povećanja sinteze mitohondrijskih proteina na početku ili tijekom vježbanja. Međutim, psi imaju visok stupanj sinteze proteina u usporedbi s ljudima koji možda ne zahtijevaju dodatno povećanje sinteze proteina na početku treninga aerobnih vježbi.

McAnulty i sur. (2007.) navode da su urati metabolički krajnji produkti metabolizma purina koji doprinosi u oko 66% antioksidacijskog kapaciteta plazme. Autori su proučavali važnost plazmatskih urata kao antioksidansa pomoću njihovog farmakološkog snižavanja, kao i ispitivanje utjecaja urata na antioksidacijski kapacitet plazme i oksidacijski stres nakon intenzivnog vježbanja. U istraživanju je sudjelovalo 15 ispitanika koji su uzimali probenecid (1 g/d) ili placebo u dvostruko slijepom pokusu. Uzorci krvi dobiveni prije vježbanja i odmah nakon vježbanja u trajanju od 45 minuta pri približno 80%  $V_{O_{2max}}$ . Utvrđeno je smanjenje koncentracije urata u plazmi kod ispitanika koji su uzimali probenecid u odnosu na ispitanike koji su dobili placebo nakon vježbanja. Također je došlo do povećanja koncentracije  $F_2$ -izoprostana, nitrita i askorbata (C vitamina) nakon vježbanja. Zaključuje se da plazmatski biomarkeri oksidacijskog stresa koji nastaju zbog vježbanja nisu pod utjecajem normalnih fizioloških koncentracija urata i smanjenog antioksidacijskog kapaciteta plazme.

Fisher-Wellman i Bloomer (2009.) proučavali su da li povećana potrošnja kisika kod akutnog vježbanja može rezultirati oksidacijskim stresom. Slobodni radikali stvaraju se ovisno o načinu vježbe (aerobna, aerobno-anaerobna, anaerobna), intenzitetu i trajanju vježbe, kao i kod različitih vrsta vježbi, zbog povećanih zahtjeva za energijom i potrošnjom kisika, kao i mogućim mehaničkim ozljedama tkiva. Poznato je da vježbanje dovoljnog opsega, intenziteta i trajanja može dovesti do povećane proizvodnje slobodnih radikala, što može dovesti do oksidacije lipida, proteina, nukleinskih kiselina. Smatra se da do smanjene učinkovitosti vježbanja dolazi zbog mogućeg poremećaja u neuronima, smanjuje se kontraktilna funkcija i/ili ubrzava oštećenje mišića, dolazi do umora zbog sekundarne oksidacije kontraktilnih i/ili mitohondrijskih enzima te dolazi do oštećenja fiziološke funkcije skeletnih mišića. U skladu s načelom homeostaze u organizmu, kod vježbanja je potreban oksidacijski stres niskog stupnja zbog fiziološke prilagodbe organizma. Kod dugoročnog vježbanja dolazi do reguliranja antioksidacijskog obrambenog sustava na višu razinu u tijelu i time pomak „redoks“ ravnoteže u korist smanjenja oksidacijskog stresa.



Ji i Leichtweis (1997.) navode da fizički naporna vježba dovodi do povećane potrošnje kisika i poremećaja unutarstanične homeostaze stvaranja prooksidansa i antioksidansa. Smatra se da su tri biokemijska puta u organizmu sisavaca, a to su mitohondrijski transportni lanac, ksantin oksidaza i polimorfonukleari, zaslužna kao mogući izvori unutarstaničnog stvaranja slobodnih radikala tijekom vježbanja. Ove štetne reaktivne vrste kisika predstavljaju ozbiljnu prijetnju staničnom antioksidacijskom obrambenom sustavu, jer smanjuju rezerve antioksidacijskih vitamina i glutaciona. Ipak, enzimski i neenzimski antioksidansi pokazuju veliku prilagodljivost i povećanje u organizmu kao odgovor na kratkotrajnu i dugotrajnu tjelovježbu.

Stanković i Radovanović (2012.) navode da je u mnogim istraživanjima proučavana povezanost oksidacijskog stresa i fizičke aktivnosti. Oni smatraju da fizička aktivnost dovodi do povećanja stvaranja ROS-a što može dovesti do oštećenja stanica. Točan mehanizam povezanosti fizičke aktivnosti, stresnih proteina i ROS-a još je uvijek nedovoljno ispitan. Studija izvedena *in vitro*, ukazuje na mogućnost da mitohondriji u mišićima imaju manju ulogu u stvaranju slobodnih radikala, a sve se više prihvaća važnost hem-proteina u izazivanju oksidacijskog stresa. Interakcija metmioglobina i methmoglobina s peroksidima može biti važan izvor oksidacijskog stresa tijekom fizičke aktivnosti. Proteine odgovorne za transport i deponiranje željeza (transferin i feritin) trebalo bi detaljnije ispitati u kontekstu praćenja nastanka i adaptacije organizma na oksidacijski stres. Intenzivna fizička aktivnost uzrokuje oksidacijski stres. Aerobna fizička aktivnost kod ljudi (trčanje, plivanje, biciklizam) povezana je s povećanjem potrošnje kisika  $VO_2$  ( $VO_2$  - potrošnja kisika) što utječe na povećanje proizvodnje i aktivnosti slobodnih radikala. Međutim, uočeno je da se ovaj fenomen ne javlja kod fizičke aktivnosti niskog intenziteta ( $<50\% VO_{2max}$ ), ( $VO_{2max}$  - maksimalna potrošnja kisika). U tom slučaju se ne nadmašuje antioksidacijski kapacitet i ne pojavljuju se oštećenja uzrokovana slobodnim radikalima. Zaključuje se, stoga, da se proizvodnja slobodnih radikala i oksidacijski stres povećavaju proporcionalno s primjenom intenzivnije aerobne fizičke aktivnosti, ali ne i kod fizičke aktivnosti niskog intenziteta, te da je povećani aerobni metabolizam tijekom fizičke aktivnosti potencijalni izvor oksidacijskog stresa. Povećana proizvodnja ROS-a i dušika, kao i oksidacijski stres, javljaju se i kod vrhunskih sportaša uslijed maksimalnih opterećenja bez obzira na tip energetskog zahtjeva samog sporta (aerobni, aerobno-anaerobni, anaerobni).

Ispitivani su efekti dugogodišnjeg vježbanja različitih tipova sportova kao što su biciklizam, veslanje i taekwondo na parametre oksidacijskog stresa. Dobiveni rezultati pokazuju smanjenje koncentracije TBARS u plazmi kod veslanja, nepromijenjena je koncentracija kod taekwondo-a te povećanje koncentracije kod biciklizma za vrijeme i 10 minuta nakon vježbe maksimalnog opterećenja.

Veliki broj znanstvenih istraživanja dokazuje da su dugotrajna i intenzivna anaerobna fizička aktivnost i oksidacijski stres međusobno povezani jer intenzivna anaerobna fizička aktivnost povećava oksidacijski stres u organizmu koji vodi ka oštećenju proteina, lipida i nukleinskih kiselina u mišićnim stanicama i krvi. Stalna anaerobna fizička aktivnost utječe na povećanje proizvodnje ROS-a, tako da antioksidansi koji su nazočni u tijelu, nisu dovoljni za sprečavanje oksidacijskog stresa koji izaziva mutacije u stanicama te oštećenje tkiva i imunološkog sustava. U brojnim studijama proučavan je oksidacijski stres pri fizičkoj aktivnosti zdravih treniranih osoba. Proizvodnja ROS-a povezana je s mišićnom aktivnošću i pod utjecajem je gena. Pretpostavlja se da su navedeni medijatori važni u regulaciji mišićne prilagodbe na fizičku aktivnost. Mišići se prilagođavaju na fizičku aktivnost povećanjem ekspresija gena za regulaciju antioksidacijskih enzima SOD, CAT i GPx. Netrenirane osobe, za razliku od utreniranih, podložnije su većim promjenama u organizmu, uzrokovanim oksidacijskim stresom pri fizičkoj aktivnosti.

Različita istraživanja dokazuju da su žene sportaši podložnije oksidacijskom stresu u odnosu na muškarce sportaše, kao i to da žene imaju višu razinu antioksidansa u mirovanju u odnosu na muškarce. Stariji organizmi su podložniji oksidacijskom stresu tijekom fizičke aktivnosti uslijed strukturalnih i biokemijskih promjena u organizmu koje nastaju sa starenjem i time olakšavaju nastajanje ROS-a. Zanimljivo je da se povećani oksidacijski stres javlja nakon obroka, a fizička aktivnost prije ili poslije obroka ne može mnogo na to utjecati, posebno kod ljudi s narušenim zdravstvenim stanjem, zaključuju u svojoj studiji Stanković i Radovanović (2012.).

Baltzer i sur. (2012.) su u svom istraživanju analizirali rezultate agility natjecanja kod pasa u različitim stupnjevima težine s obzirom na urinarne eikozanoide, urinarni 15F<sub>2t</sub>-izoprostan (marker za lipidnu peroksidaciju), te hematološke i biokemijske promjene u plazmi pasa čiji su uzorci krvi i urina dobiveni prije, neposredno i 4 sata nakon natjecanja.

Autori navode da agility liga Sjedinjenih Država (USDAA) koja broji 25 000 natjecatelja, organizira više od 400 agility natjecanja godišnje u SAD-u, Portoriku, Meksiku, Bermudima i Japanu. Postotak ozlijeđenih pasa tijekom natjecanja procjenjuje se na čak 33%. S takvim visokim postotkom ozljeda, određivanje učinka ovakvog tipa natjecanja na fiziološke reakcije pasa, uključuje određivanje razine oksidacijskog stresa i proizvodnje biomarkera oksidacijskog stresa tijekom vježbi, što je važno za razumijevanje razloga zašto su ozljede pasa tako česte. Na natjecanjima sudjeluju različite pasmine pasa i postoji mnogo razina natjecanja. Stoga, zbog razlika u fizičkoj spremi i urođenim sklonostima neki psi osjećaju veće napore tijekom fizičke aktivnosti. Učinci vještine i razine intenziteta na određene fiziološke varijable u agility natjecanjima nisu poznati. Vježbanje povećava potrošnju kisika što dovodi do stvaranja slobodnih radikala ili reaktivnih vrsta kisika. Reaktivne vrste kisika izazivaju peroksidaciju lipida i ozljede stanica što može biti preveliki napor za stanični antioksidativni mehanizam. Psi prolaze kroz anaerobno metaboličko stanje tijekom natjecanja s povećanjem laktata u plazmi, hemoglobina, hematokrita i eritrocita, no prema saznanjima autora, učinci treninga i natjecanja na proizvodnju eikozanoida kod pasa različitog stupnja utreniranosti do sada nisu istraženi. Autori su ispitivali su učinke različitog stupnja utreniranosti u odnosu na biomarkere oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane, te hematološke i biokemijske promjene u plazmi. Psi su bili podijeljeni prema stupnju utreniranosti u 3 skupine: početnička skupina, srednja skupina i napredna skupina. Početnička skupina bila je prosječne dobi od  $2,8 \pm 1,5$  godine, srednja skupina je bila  $7,0 \pm 2,3$  godine, a napredna skupina  $6,2 \pm 2$  godine starosti. Vlasnici su pse prijavili za natjecanje u jednoj od tri skupine. U početničkoj skupini su bili zlatni retriever, bokser, standardna i patuljasta pudla, velški terijer i australski govedarski pas. U srednjoj skupini bili su zlatni retriever, belgijski ovčar, australski ovčar i standardna pudla. U naprednoj skupini bili su dva mješanaca, border kolie, džek rasel terijer i velški corgi. Učestalost treniranja svake skupine nije se značajno razlikovala i napredni psi su provodili  $4,2 \pm 1,8$  sati tjedno trenirajući, psi iz srednje skupine trenirali su  $4 \pm 1,4$  sati tjedno a početnici  $3,0 \pm 0,9$  sata tjedno. Agility staza je bila postavljena tako da se sastojala od 11 skokova i 4 tunela, a prolazili su je 4 puta s po 5 minuta odmora između svakog trčanja. Uzeta je krv svakog psa 2 sata prije turnusa, 2 minute i 4 sata nakon završetka vježbe. Uzeti su uzorci krvi i plazme 15 pasa, od čega je bilo 7 ženki i 8 mužjaka. Rezultati istraživanja pokazuju da se broj eritrocita, vrijednost hematokrita, koncentracija hemoglobina i albumina u serumu pasa povećala neposredno nakon trke ( $P < 0,05$ ).

Serumski albumini su se smanjili na vrijednosti slične vrijednostima prije trke 4 sata nakon turnusa, a broj eritrocita, vrijednost hematokrita i koncentracija hemoglobina u serumu su se smanjili 4 sata poslije trke u odnosu na vrijednosti u usporedbi s vrijednostima prije trke.

Najveće povećanje broja eritrocita, vrijednosti hematokrita i koncentracije hemoglobina i albumina u serumu bilo je u naprednoj skupini pasa, zatim u srednjoj skupini, a najmanje u početničkoj skupini neposredno nakon trke ( $P < 0,05$ ). Nepromijenjene su vrijednosti u broju leukocita, udjelu segmentiranih i nesegmentiranih neutrofila, limfocita, monocita, eozinofila, bazofila, broju trombocita, kao i vrijednosti MCHC i MCV u plazmi pasa. Nepromijenjena je koncentracija kreatinina u serumu i ukupnih proteina u plazmi pasa ( $P > 0,05$ ). Laktati u plazmi pasa su se značajno povećali neposredno nakon trke ( $P < 0,001$ ). Najviše je došlo do povećanja koncentracije laktata u plazmi u srednjoj skupini, zatim u naprednoj skupini, a najmanje u početničkoj skupini pasa nakon trke. Koncentracija fosfora u krvi se povećala kod pasa neposredno nakon trke i 4 sata nakon trke, s najvećim porastom u početničkoj skupini, zatim u srednjoj skupini, a najmanje u naprednoj skupini pasa ( $P < 0,05$ ). Aktivnost CK neznatno se povećala neposredno nakon trke, a znatnije povećanje bilo je 4 sata nakon trke u svim skupinama pasa. Značajno povećanje CK zabilježeno je u početničkoj skupini koja je imala najveće vrijednosti ( $P < 0,05$ ). Koncentracija triglicerida u plazmi pasa se povećala neposredno nakon trke. Nepromijenjena je koncentracija ureje, kalcija, natrija, kalija i klorida u krvi pasa ( $P > 0,05$ ). Laktati u plazmi su se povećali za 3,6 puta u srednjoj skupini, zatim 3,2 puta u naprednoj skupini i 1,2 puta u početničkoj skupini. Koncentracija tromboksana  $B_2$  (TXB<sub>2</sub>) u urinu pasa je trostruko porasla 4 sata nakon trke, dok su 6-keto prostaglandin  $F_{1\alpha}$  (PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , metabolit prostaciklina), metaboliti prostaglandina  $E_2$  (13,14-dihidro-15-keto-prostaglandin  $A_2$  i 13, 14-dihidro -15-keto-prostaglandin  $E_2$ ), i 13,14-dihidro-15-keto prostaglandin  $F_{2a}$  imali nepromijenjenu vrijednost u urinu pasa. Dolazi do malog (neznatnog) povećanja urinarnog  $15F_{2t}$ -izoprostana (ISO) nakon trke. Intenzitet napora pasa u ovom istraživanju, dovoljnog je intenziteta da izazove blagi oksidacijski stres i peroksidaciju lipida na temelju blago povišenog urinarnog izoprostana nakon testa. Svi psi u ovom istraživanju imali su slično povećanje urinarnog izoprostana, neovisno o razini vještine i brzini na poligonu, što ukazuje da vježbe izazivaju intenzivne kontrakcije mišića i rezultiraju blagom peroksidacijom lipida.

Nije poznato izaziva li oksidacijski stres ozljede kod pasa koji sudjeluju u agility natjecanjima. No, određivanje razine oksidacijskog stresa koji se razvija s vremenom i potrebnog vremena da se proizvodnja izoprostana vrati na razine prije vježbe, može se pokazati potrebnim. Blago povećanje peroksidacije lipida nakon intenzivne, kratke vježbe do kojeg je došlo kod pasa u ovoj studiji, nije bilo pod utjecajem utreniranosti pasa. Laktati u plazmi su se povećali značajno kod pasa nakon trke. U ovom istraživanju sve tri skupine imale su normalne razine koncentracije laktata u plazmi 4 sata nakon trke, što ukazuje da se oporavak od mliječne acidoze događa brže kod brzih pasa, slično drugim sportskim događajima, i prije oporavka od oksidacijskog stresa. Mliječna acidoza i oksidacijski stres mogu biti uzrok umora mišića. Mehanizam kojim reaktivne vrste kisika izazivaju umor mišića tijekom vježbe nije u potpunosti jasan, no dodaci s antioksidansima, N-acetilcistenima, smanjuje umor kod ljudi i životinja. Umor mišića zbog oksidacijskog stresa može dovesti do ozljeda zglobova, uglavnom kod ljudi. Autori su utvrdili povećanje broja eritrocita (RBC) u krvi pasa, neposredno nakon trke, s najvećim povećanjem kod pasa s najvišom razinom pripremljenosti, a do smanjenja dolazi 4 sata nakon trke. Broj eritrocita u krvi pasa najviše se povećao u naprednoj skupini pasa, a najmanje u početničkoj skupini ( $P < 0,05$ ). Autori su ispitivali učinke vježbi na pse različitih razina utreniranosti u odnosu na biomarkere oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane, te hematološke i biokemijske promjene u plazmi. Promjene plazme nakon vježbe su izazvane hemokoncentracijom zbog gubitka vode, kontrakcije slezene i simpatičke stimulacije, dok je 4 sata nakon trke automatsko razrjeđivanje krvi smanjilo broj eritrocita.

Autori navode da je broj eritrocita u krvi pasa smanjen 4 sata nakon vježbe, a kod ljudi nakon vježbanja dolazi do povećanja volumena plazme koje se naziva „autohemodilucija“ koje rezultira smanjenom koncentracijom eritrocita i ostalih pokazatelja crvene krvne slike. Taj fenomen može objasniti smanjenje broja eritrocita kod pasa 4 sata nakon vježbanja, bez promjene koncentracija proteina ili albumina, stoga jer se tekućina pomiče iz intersticijskog prostora u vaskularni prostor. Autori su u svojim rezultatima utvrdili i neznatno povećanje aktivnosti CK u plazmi pasa neposredno nakon trke, a aktivnost ostaje povećana i nakon 4 sata. Također su uočili da je CK bio pod utjecajem stupnja utreniranosti i najveću vrijednost imali su psi iz početničke skupine ( $P < 0,05$ ). Utvrđeno je da su vježbe koje izvode psi u ovom istraživanju dovoljnog intenziteta da izazovu blagi oksidacijski stres i peroksidaciju lipida.

Intenzitet kontrakcije mišića povećava proizvodnju reaktivne vrste kisika (ROS) zbog povećane potrošnje kisika, što dovodi do povišene proizvodnje aniona superoksida u mišićnim mitohondrijima. Zaključuje se da su promjene u plazmi pasa nakon vježbanja bile posljedica hemokoncentracije uslijed nevidljivog gubitka vode iz organizma, kontrakcije slezene i simpatičke stimulacije, dok je 4 sata poslije vježbanja došlo do autohemodilucije i posljedično do smanjenja broja eritrocita i parametara crvene krvne slike.

Poznato je da je sindrom prekomjernog treniranja (engl. *Over training syndrom*) stanje dugotrajnog osjećaja iscrpljenosti i nemogućnosti obavljanja vježbanja na razini do koje je sportaš došao prije nego se „pretrenirao“, a nastaje zbog neravnoteže između obavljanja fizičkih aktivnosti i odmora između njih, odnosno, prekratkog odmora organizma između dvije fizičke aktivnosti. Izgradnja i oporavak mišićnog tkiva nakon vježbe događaju se samo onda kada je tijelo u potpunom stanju odmora. Simptomi sindroma prekomjernog treniranja su povećana frekvencija rada srca u mirovanju, ozljede mišićno-koštanog sustava, iscrpljenost i bolovi u mišićima, krutost mišića, kronični umor, nesanica, gubitak teka, česte upale gornjih dišnih putova, smanjena koncentracija, depresija, fizički i psihički nemir, razdražljivost, težak osjećaj u nogama, kao i smanjena sposobnost vježbanja ili rekreacije. Ovaj sindrom može se javljati kod sportaša prilikom vježbanja aerobnih sportova (trčanje, plivanje, vožnja bicikla, planinarenje) i anaerobnih sportova (rad s utezima u teretanama, sprinterske discipline u atletici i težak fizički rad) i aerobno - anaerobnih sportova.

Margonis i sur. (2007.) utvrdili su da su za sindrom prekomjernog treniranja karakteristični slabiji rezultati vježbanja (snaga, jačina, sposobnost skakanja) i prolazna upala ili ozbiljne zdravstvene tegobe kod atletičara nakon razdoblja intenzivnog vježbanja. Trenutačno nema ni jednog dijagnostičkog biomarkera za dokazivanje sindroma pretjeranog treniranja. U ovoj studiji autori su ispitivali odgovore biomarkera oksidacijskog stresa u sportaša kod povećanog ili smanjenog opsega vježbanja. Utvrđeno je povećanje broja leukocita, povećanje koncentracije TBARS, PC, CAT, GPx i GOx u plazmi, povećanje koncentracije  $F_{2\alpha}$ -izoprostana u mokraći, te smanjenje koncentracije glutaciona, GSH/GSSG omjera i TAC u plazmi atletičara na početku i 96 sati nakon intenzivnog vježbanja koje je trajalo ukupno 12 tjedana.

Autori zaključuju da prekomjerno treniranje uzrokuje značajan odgovor biomarkera oksidacijskog stresa koji je, u nekim slučajevima, proporcionalan opterećenju vježbe. Biomarkeri oksidacijskog stresa mogu, dakle, poslužiti kao sredstvo za dijagnozu sindroma prekomjernog treniranja.

Moore i sur. (1993.) su istraživali učinke dužih perioda stresa i teških fizičkih aktivnosti na metabolizam željeza kod zdravih i fizički aktivnih muških vojnika koji su sudjelovali u treningu u uvjetima koji su fizički i psihički veoma zahtjevni. Utvrđen je nepromijenjen broj eritrocita, koncentracija hemoglobina, vrijednosti hematokrita, MCV, MCH i MCHC, povećan broj leukocita i koncentracije feritina, te smanjenje koncentracije željeza i vrijednosti TIBC u serumu 55 utreniranih vojnika nakon 2 tjedna intenzivne fizičke aktivnosti i stresa te manjka sna prilikom obuke koja je ukupno trajala 62 dana (8 tjedana). Autori su istraživali i utvrdili da je manjak željeza relativno rijetka pojava u zdravih muškaraca, ali postoje izvješća da naporno vježbanje ili fizička aktivnost mogu imati negativan učinak na metabolizam željeza i doprinijeti stanju koje karakterizira smanjena koncentracija serumskog željeza i kod muškaraca i kod žena. Mehanizam kojim vježbanje dovodi do promjene koncentracije željeza nije poznat. Pretpostavlja se da je uzrok navedenog smanjenja serumskog željeza preraspodjela zalihe željeza u organizmu zbog vježbanja, povećani gubitak željeza putem urina, znoja i/ili izmeta, smanjena crijevna adsorpcija željeza, hemoliza ili veća potrošnja hemoglobina i eritrocita. Navodi se da promjene koncentracije serumskog željeza predstavljaju fiziološku reakciju na vježbanje sličnu dugotrajnoj prilagodbi stresu ili reakciji akutne faze. Ta reakcija akutne faze uključuje smanjenje željeza u serumu i povećanje koncentracija proteina akutne faze u krvi. Vojno osoblje često mora obavljati teške fizičke poslove tijekom dugog vremenskog perioda. Ovo istraživanje, provedeno na postrojbama američke vojske, pokazalo je da kratki periodi intenzivnog psihičkog i fizičkog stresa izazivaju reakcije nalik akutnoj fazi i smanjuju koncentraciju serumskog željeza kod vojnika. Autori su dokazali da nije bilo značajnih negativnih učinaka dugotrajnog, napornog fizičkog rada na laboratorijske indikatore statusa željeza kod muškaraca. Iako je došlo do prolaznog smanjenja serumskog željeza u vojnika na obuci u 2. tjednu, razine tog serumskog željeza postupno su se vratile na početne vrijednosti u 8. tjednu, što je karakteristika reakcije akutne faze.

Ovi rezultati suprotni su rezultatima većine studija o vježbanju i metabolizmu željeza kod muškaraca i žena koje su pokazale da su vrijednosti željeza u krvi uglavnom niže kod treniranih sportaša ili su smanjeni kao reakcija na naporno vježbanje. Smanjenje željeza može se dogoditi kod osoba koje vježbaju ako se metaboličke potrebe povećaju na razine iznad razina dostupnog željeza u zalihamu željeza u tijelu ili iz prehrane. Suprotno nekim studijama, vojnici u ovom istraživanju počeli su obuku s dovoljnim zalihamu željeza i stoga su možda bolje mogli zadovoljiti povećanu potrebu za željezom i nisu razvili niže razine serumskog željeza u usporedbi sa sportašima ili osobama s minimalnim tjelesnim zalihamu željeza.

Podaci iz brojnih studija pokazuju da se zalihe željeza mogu održati tijekom velikih tjelesnih napora pod uvjetom da se unosi dovoljno željeza putem prehrane i da su početne zalihe željeza u tijelu bile zadovoljavajuće kako bi se zadovoljile kratkotrajne promjene metaboličkih potreba za željezom. U ovom istraživanju unos željeza bio je u prosjeku 13 mg/dan, ali je bio samo 6 mg/dan tijekom 35 dana u kojima su vojnici dobili samo jedan obrok u danu. Pretpostavljajući da je adsorpcija željeza iz hrane 20%, prehrana je osigurala između 1,2 i 2,6 mg željeza dnevno, što je dovoljno da se zadovolje metaboličke potrebe tijekom obuke za rendžere. Kombinacija dovoljnog unosa željeza i dovoljnih zaliha željeza vjerojatno su značajno doprinijeli sposobnosti vojnika da održe razine željeza tijekom dužeg perioda napora u usporedbi s ispitanicima koji su opisani u drugim studijama i koji su se upustili u obuku ili vježbanje s niskim razinama zaliha i marginalnim unosom željeza putem prehrane. Podaci u ovom istraživanju ukazuju da čak i dugotrajna fizička aktivnost i stres povećavaju potrošnju željeza, ali razina povećanja nije nadmašila količinu zamjenskog željeza koje je tijelo imalo na raspolaganju iz zaliha i prehrane. Neki oblici treninga izdržljivosti, kao trčanje maratona ili plivanje, izazivaju naglo sniženje željeza i feritina u krvi, što je pripisano povećanoj intramuskularnoj hemolizi eritrocita. Autori navode da promjene koncentracija feritina u serumu predstavljaju fiziološku reakciju na vježbanje sličnu dugotrajnoj prilagodbi stresu ili reakciji akutne faze. Ta reakcija akutne faze uključuje povećanje koncentracija feritina i proteina akutne faze u krvi. Navodi se da koncentracija serumskog feritina < 60 µg/l odražava minimalne zalihe željeza u organizmu.



Autori navode da su vojnici u ovoj studiji započeli obuku s dovoljnim zalihama željeza (koncentracija feritina  $> 100 \mu\text{g/l}$ ) i stoga su možda bolje mogli zadovoljiti povećanu potrebu za željezom i nisu razvili niže razine koncentracije serumskog feritina u usporedbi sa sportašima ili osobama s minimalnim tjelesnim zalihama željeza. Zaključeno je da intenzivni tjelesni napori tijekom dugog perioda ne moraju nužno dovesti do umanjenog metabolizma željeza. Vojnici su uspjeli zadržati normalan status željeza zbog visokih razina zaliha željeza, fizičkog opterećenja sličnog opterećenju prije obuke i konzumaciji hrane koja je ispunila metaboličke potrebe za željezom. Prolazne promjene u serumu željeza ukazuju da neki poremećaji slični akutnoj fazi u metabolizmu željeza mogu biti normalne prilagodbe na stres i fizičku aktivnost kod zdravih muškaraca.

Vidnes i Opstad (1981.) navode da povećanje koncentracije serumskog feritina, nastaje zbog povećane sinteze i lučenja feritina iz mononuklearnog fagocitnog sustava kao reakcije na lučenje željeza zbog hemolize eritrocita. Schobersberger i sur. (1990.) navode da se koncentracija feritina u serumu muškaraca, koji nisu bili u dobroj tjelesnoj formi, smanjila tijekom 7 dana vježbanja s utezima tijekom 6 tjedana vježbanja. Smatra se da je navedeno smanjene feritina u serumu odraz prikrivenog (latentnog) nedostatka željeza u organizmu.

Slične rezultate opisuju Diehl i sur. (1986.) pri čemu su utvrdili da se koncentracija serumskog feritina postupno smanjila kod sportašica tijekom tri treninga.

Sukladno prethodnim autorima, Roberts i Smith (1992.) navode da se koncentracija serumskog feritina smanjila kod plivača tijekom 3 tjedna napornog vježbanja na visokim nadmorskim visinama, ali se vrijednost serumskog feritina vratila na početnu kada su se došli na nadmorsku visinu na kojoj su bili prije treninga, iako se nije promijenio režim i intenzitet treninga.

Hinchcliff i sur. (2000.) dokazali su da je ponovljena vježba izdržljivosti u vučnih pasa povezana s lipidnom peroksidacijom, smanjenjem koncentracije antioksidansa u plazmi i oštećenjem skeletnih mišića. Oni su utvrdili povećanje koncentracije  $F_{2\alpha}$ -izoprostana u plazmi i CK u serumu poslije prve i treće dionice trčanja, smanjenje vitamina E u serumu i TAC u plazmi nakon prve dionice, te nepromijenjenu koncentraciju E vitamina u serumu i TAC u plazmi nakon treće dionice.

Ova studija ukazuje, stoga, na to kako antioksidacijski mehanizmi u minimalno treniranih pasa, u nekim slučajevima, mogu biti neodgovarajući za ispunjavanje zahtjeva ponovljenih vježbi izdržljivosti.

Hinchcliff i sur. (2003.) proučavali su povezanost vježbanja pasa s povećanjem proizvodnje oksidansa koji mogu imati veliku ulogu u nastanku oštećenja mišićnog tkiva skeletnih mišića (rabdomiolize). Pretpostavlja se da sudjelovanje pasa u dugim utrkama saonicama može promijeniti antioksidacijski kapacitet plazme i povezan je s povećanjem stupnja oštećenja mišićnog tkiva skeletnih mišića tj. povećanje indeksa rabdomiolize. Autori su proučavali 31 psa u dugim utrkama saonicama na 1600 km koje je trajalo 11 dana. Utvrđeno je smanjenje aktivnosti SOD i GPx u eritrocitima, koncentracije ukupnih proteina, albumina i ceruloplazmina (CER), značajno povećanje aktivnosti AST i CK, kao i nepromijenjena koncentracija kolesterola i vitamina E u plazmi pasa nakon trke.

Normalan oksidacijski metabolizam uključuje proizvodnju slobodnih radikala, a što je veći omjer oksidacijskog metabolizma, veća je razina proizvodnje slobodnih radikala. Trčanje značajno povećava potrošnju kisika, a time i proizvodnju slobodnih radikala kod trkaćih pasa zbog njihovog pojačanog metabolizma, što se očituje u velikoj potrošnji energije i oštećenja mišića izazvanih vježbanjem (rabdomiolizu). Autori naglašavaju činjenicu da su sisavci, koji su naviknuti na aerobni metabolizam, vremenom razvili mogućnost za prikupljanje slobodnih radikala unutar stanice, a važnu ulogu u tome ima sustav antioksidacijske obrane, pri čemu važnu ulogu ima SOD. Autori su istraživali kako slobodni radikali koji nastaju tijekom vježbe doprinose oštećivanju mišića i doprinose nastanku rabdomiolize izazvane fizičkim naporima. Smanjenje aktivnosti GPx eritrocita tijekom trke, ukazuje na smanjenje enzimske antioksidacijske aktivnosti u eritrocitima te povezanost sa oštećenjem stanica skeletnih mišića. Ipak, uzročna povezanost između smanjenja aktivnosti antioksidacijskih enzima i oštećenja mišića uzrokovanih vježbanjem nije pronađena u ovoj studiji. Mehanizam odgovoran za smanjenje aktivnosti GPx u eritrocitima pasa nije poznat. Moguće je da je smanjenje koncentracije selena u krvi pasa tijekom trke bio mehanizam koji je izazvao smanjenje GPx, s obzirom da je selen sastavni dio ovog enzima. Utvrđeno je značajno povećanje aktivnosti AST u plazmi nakon trke, pa su autori istraživali da li slobodni radikali, koji nastaju tijekom vježbe, doprinose oštećivanju mišića i nastanku rabdomiolize izazvane fizičkim naporima.

Veliko povećanje aktivnosti enzima AST i CK u plazmi pasa nakon trke, tumači se kao posljedice istjecanja enzima iz oštećenih stanica skeletnih mišića. Aktivnost AST u plazmi, pokazatelj je oštećenja skeletnih mišića. Dokazano je značajno smanjenje aktivnosti antioksidacijskih enzima u plazmi koje je povezano s oštećenjem stanica skeletnih mišića, na što ukazuje povišena plazmatska aktivnost AST. Dokazano je da je povećanje CK u korelaciji s povećanjem serumske koncentracije izoprostana, biomarkera lipidne peroksidacije, što ukazuje da slobodni radikali koji nastaju tijekom vježbe doprinose oštećivanju mišića. Aktivnost CK u plazmi u ovom istraživanju, mjerena je kao pokazatelj oštećenja skeletnih mišića. Dokazano je značajno smanjenje aktivnosti antioksidacijskih enzima u plazmi koje je povezano s oštećenjem stanica skeletnih mišića, na što kao ukazuje povišena plazmatska aktivnost CK. Utvrđeno je smanjenje koncentracije ukupnih proteina u plazmi unutar jednog sata nakon trke. Smanjenje koncentracije ukupnih proteina u plazmi pasa uočene u ovom istraživanju ukazuju na promjene u volumenu plazme. Zaključuje se da natjecanje pasa u dugim utrkama, uključujući produljenu i ponovljenu submaksimalnu vježbu, rezultira smanjenjem enzimske antioksidacijske aktivnosti u krvi trkaćih pasa i povećanjem stupnja oštećenja mišićnog tkiva skeletnih mišića.

U literaturi je poznato da veću sklonost za povećanje koncentracije kolesterola u krvi imaju muškarci i žene kod kojih je nastala preuranjena menopauza. Poznata je činjenica da estrogen (ženski spolni hormon) smanjuje koncentraciju kolesterola u krvi žena i muškaraca. Poznato je i da je redovita tjelesna aktivnost važan čimbenik u snižavanju LDL kolesterola u krvi, kao i da aerobna sportska aktivnost, poput trčanja, plivanja, vožnje bicikla ili brzog hodanja, u trajanju minimalno pola sata dnevno, može sniziti LDL kolesterol u krvi za oko 5-10% (Anonimus, 2017.).

Pasquini i sur. (2008.) istraživali su pokazatelje u krvi 251 psa kojima su određivane laboratorijske vrijednosti kolesterola u krvi pomoću enzimatskih metoda i elektroforetskom tehnikom. Utvrđeno je povećanje koncentracije kolesterola u plazmi kod rotvajlera i pirinejskog planinskog psa. Autori su utvrdili da je hranidba kod istraživanih pasa imala veliki utjecaj na metabolizam lipida, pa stoga, kod pasa koji su hranjenih hranom koja je obilovala ribom i ribljim proizvodima, dolazi do značajnog smanjenja koncentracije kolesterola, HDL kolesterola i LDL kolesterola u krvi.

U istraživanju je utvrđeno povećanje koncentracije LDL kolesterola u plazmi štenaca mlađih od 1 godine i u pasmine labrador retriever. Utvrđena je također i nepromijenjena koncentracija triglicerida u krvi, kao i to da spol, dob, pasmina i hranidba nisu značajno utjecali na metabolizam triglicerida u krvi pasa.

Nazifi i sur. (2005.) istraživali su pokazatelje lipida u krvi 50 odraslih kaspjskih minijaturnih konja prema njihovoj dobi (1,5-3, 3-5 i > 5 godina) i spolu. Rezultati istraživanja ukazuju da je s porastom životne dobi konja došlo do povećanja koncentracije kolesterola, HDL kolesterola ( $P < 0,05$ ) u krvi. Spol nije imao značajnog utjecaja na koncentraciju kolesterola, HDL kolesterola. Utvrđeno je da je s porastom životne dobi došlo do povećanja koncentracije LDL kolesterola ( $P < 0,05$ ) u krvi konja. Spol nije imao značajnog utjecaja na koncentraciju LDL kolesterola u krvi. Autori ukazuju da je s porastom životne dobi došlo do povećanja koncentracije triglicerida ( $P < 0,05$ ) u krvi konja. Spol nije imao značajnog utjecaja na koncentraciju triglicerida u krvi. Autori navode da kod ljudi postoji statistički značajno povećanje koncentracija kolesterola i triglicerida, kao i smanjenje koncentracije HDL kolesterola i LDL kolesterola serumu ljudi starije dobi.

Frank i sur. (2015.) istraživali su 23 psa za vuču saonica, od čega 12 mužjaka i 11 ženki, koji su se natjecali u utrci pasa (IPSSDR) 2014. godine. Prosječna dob pasa bila je  $4,0 \pm 1,7$  godina, a svi su bili dobro utrenirani i trenirali su na stazama duljine od 1931 do 3218 km prije natjecanja. Krv pasa uzorkovana je prije same trke i 2 dana nakon trke. Ova utrka imala je nekoliko dionica, s ukupno pređenom udaljenosti od 563 km uz vuču sanjki mase 80-95 kilograma na uređenim, snježnim stazama. Prvi dan su pretrčali 65 km, drugi 87 km, a pri tome im je trebalo od 3,5 do 5 sati za savladavanje pojedine dionice. Temperatura okoline kretala se u rasponu od  $-25$  do  $-10$  ° C. Svi psi hranili su se mješavinom krupno mljevene hrane (sa 50% ili više kalorija) i sirovim mesom, nadopunjenim uljima, vitaminima i mineralima. Svim psima je jutro prije vađenja krvi ponuđena voda za piće. Rezultati istraživanja ukazuju da koncentracija natrija, fosfora i klorida u plazmi pasa ostaje nepromijenjena poslije trke. Koncentracija kalija, magnezija i kalcija u plazmi pasa bila je značajno smanjena poslije trke ( $P < 0,001$ ). Uočeno je značajno smanjenja koncentracije bikarbonata u plazmi pasa ( $P < 0,001$ ) uz povećanje anionskog rascijepa u serumu ( $P = 0,006$ ) poslije trke. Uočeno je značajno smanjenje koncentracije ukupnih proteina, albumina i globulina ( $P < 0,001$ ) u plazmi pasa poslije trke.

Koncentracija glukoze u plazmi pasa ostaje nepromijenjena. Poslije trke dolazi do umjerenog povećanja koncentracije kreatinina i značajnog povećanja koncentracije ureje u plazmi pasa ( $P < 0,001$ ). Uočeno je povećanje aktivnosti CK ( $P < 0,001$ ), AST ( $P < 0,001$ ), kao i ALT i ALP ( $P < 0,001$ ) u plazmi poslije trke. Dolazi do značajnog smanjenja koncentracije kolesterola u plazmi pasa ( $P < 0,001$ ) poslije trke. Uočena je negativna korelacija koncentracije kalija i promjene aktivnosti CK ( $P < 0,001$ ). Uočena je pozitivna korelacija između koncentracije CK i AST u krvnoj plazmi pasa ( $P < 0,001$ ). U ovom istraživanju autori su dokazali da dolazi do blagih, ali značajnih promjena pokazatelja u krvi pasa. Rezultati ukazuju na smanjenje ukupnih proteina, globulina i albumina u plazmi pasa. Točni razlozi ovih promjena biokemijskih pokazatelja u krvi pasa nisu jasni, ali mogu biti povezani s velikim energetske potrebama pasa, mikroalbuminurijom ili s gastrointestinalnim gubicima elektrolita. Uočeno je da smanjenje koncentracije albumina u plazmi pasa poslije trke dovodi sekundarno do smanjenja koncentracije kalcija jer se albumin veže na kalcij u krvi.

Uočen je povećanje katabolizma proteina što dovodi do povećanja koncentracije ureje u plazmi pasa, a smanjenje protoka krvi kroz bubrege kod pasa i konja koji vježbaju, također može biti povezano s tim povećanjem. Autori su utvrdili očekivano značajnu pozitivnu korelaciju između aktivnosti CK i AST u plazmi pasa i nisku korelaciju između aktivnosti CK i koncentracije mioglobina. Uočeno je da porast koncentracije mioglobina umjereno korelira s porastom aktivnosti CK u plazmi pasa. Pozitivna korelacija između aktivnosti CK i AST u plazmi pasa ukazuje na to da je AST biomarker ozljede mišićnih stanica, a ne biomarker oštećenja jetre. Dokazano je ovim istraživanjem da su aktivnosti CK i AST u plazmi bolji pokazatelji oštećenja mišića od koncentracije mioglobina u plazmi pasa. Jedna od najznačajnijih korelacija ovom istraživanju bila je negativna povezanost između promjena koncentracije kalija i aktivnosti CK u plazmi pasa. Došlo je do blagog, ali značajnog smanjenja koncentracije kalija u plazmi pasa nakon utrke, što je sukladno ostalim istraživanjima vučnih pasa. Stvani unos minerala i opterećenje bubrežne funkcije u pasa, u ovom istraživanju nije poznat, stoga je povezanost između unosa kalija i natrija u hrani i klirensa kreatinina, koji služi za ispitivanje glomerularne funkcije bubrega, i/ili koncentracija tih elektrolita u plazmi, nejasna. Zaključuje se da 2 uzastopna dana umjerene fizičke aktivnosti u utrci izdržljivosti dovode do značajnih promjena biokemijskih pokazatelja plazme slično kao i u utrkama izdržljivosti na velikim udaljenostima.

Nakon utrke pasa najveće promjene nastaju u enzimima povezanim s oštećenjem mišića čije su koncentracije bile slične onima kod dugogodišnje treniranih i izdržljivih pasa. Ovo istraživanje enzima u plazmi pasa povezano s porastom aktivnosti CK, dokazalo je da AST ima snažnu pozitivnu korelaciju, dok mioglobin ne može biti koristan kao biomarker zbog brze eliminacije bubrega i potrebe za trenutnim prikupljanjem krvi. Zanimljivo je da je, dvodnevna utrka pasa pokazala veliku varijabilnost koncentracije serumskog CK pasa od malog povećanja iznad referentne vrijednosti do 40-strukog povećanja. Ova varijacija u CK u plazmi pasa omogućila je procjenu odnosa prema elektrolitima u serumu, uz aktivnost CK koja pokazuje negativnu korelaciju i smanjenje koncentracije kalija u plazmi i zahtijeva daljnja istraživanja.

Knežević i sur. (2015.) istraživali su koncentraciju triglicerida i kolesterola kao pokazatelje promjene metabolizma lipida u pasa tijekom četveromjesečnog treninga. U istraživanju je sudjelovalo 20 pasa pasmine labrador retriever, od čega 14 ženki i 6 mužjaka, prosječne starosti  $16,9 \pm 4,5$  mjeseci a koji su bili uključeni u program rada Centra za rehabilitaciju ljudi s posebnim potrebama. Pasma je u dva navrata uzorkovana krv, i to prije početka treninga te na kraju četveromjesečnog režima treninga. Trening se sastojao od trčanja na pokretnoj traci tri puta tjedno po 20 minuta. Rezultati istraživanja pokazali su da je prije početka vježbanja koncentracija kolesterola u serumu pasa bila u 8 pasa veća od referentnih vrijednosti. Na kraju četveromjesečnog treninga uočeno je znatno sniženje koncentracije kolesterola u serumu pasa u odnosu na koncentraciju na početku istraživanja. Utvrđeno je da je prije početka vježbanja koncentracija triglicerida u serumu pasa bila u granicama referentnih vrijednosti, osim u 2 psa kod kojih su vrijednosti bile povišene. Na kraju četveromjesečnog treninga uočeno je blago smanjenje koncentracije triglicerida u serumu pasa. Smanjenje koncentracije kolesterola i triglicerida u serumu pasa ukazuje na ubrzani metabolizam zbog povećane fizičke aktivnosti i povećanog iskorištavanje masti kao alternativnog izvora energije. Metabolička prilagodba tijekom vježbanja pruža mogućnost praćenja koncentracije kolesterola i triglicerida u serumu pasa za procjenjivanje intenziteta vježbe i njenoga učinka na opće zdravstveno stanje pasa.

Osorio (2006.) je ispitivao 138 pasa, od čega 74 mužjaka i 64 ženke, a kojima je laboratorijski analizirao lipide u krvi.

Rezultati istraživanja ukazuju da skupina od 35 pasa starijih od 7 godina pokazuje statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) za kolesterol i HDL kolesterol, u usporedbi sa skupinom pasa u dobi od 1-7 godina, odnosno, došlo je do smanjenja koncentracije kolesterola i HDL kolesterola u krvi skupini pasa starijih od 7 godina. U ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika u odnosu na spol. Zaključuje se da promjene načina života u pasa, uključujući prehrambene navike, odnosno, više unosa životinjskih masti i proteina i manje unosa ugljikohidrata u hranidbu, ne uzrokuju negativne promjene u lipidnom profilu ispitivanih pasa, kao što je to uočeno kod ljudi.

U literaturi se navodi da koncentracija kolesterola u krvi žena ovisi i o razdoblju menstrualnog ciklusa, odnosno o promjenama u količini estrogena u krvi. Ove promjene koncentracije kolesterola znatno su veće kod pretilih žena starijih od 40 godina. Poznato je da je koncentracija kolesterola u krvi žena najveća je u prvoj polovici ciklusa i nakon ovulacije, a nakon toga dolazi do njegovog postupnog smanjenja. U jednom istraživanju, mjerena je koncentracija hormona estrogena, kolesterola, HDL kolesterola, LDL kolesterola i triglicerida u krvi 260 zdravih žena u dobi od 18 i 44 godine. Utvrđeno je da se koncentracija kolesterola, LDL kolesterola i triglicerida u krvi smanjila, a HDL kolesterola u krvi žena povećala sa maksimalnom koncentracijom u vrijeme ovulacije, usporedno sa povećanjem koncentracije estrogena u krvi. Autori navode da je koncentracija LDL kolesterola i triglicerida u krvi žena najniža neposredno prije početka menstruacije (Anonimus, 2010.a).

Gamulin i sur. (2018.) navode da su spolni hormoni steroidi koji se preko višestrukih biokemijskih mehanizama sintetiziraju u gonadama. U organizmu sisavaca postoji šest skupina steroidnih hormona koji se mogu klasificirati prema strukturnoj i biološkoj (hormonskoj) osnovi. To su: estrogeni i progestini (ženski spolni steroidi), androgeni (muški spolni steroidi), mineralokortikoidi (aldosteron), glukokortikoidi (kortizol) i vitamin D. Svi navedeni steroidi nastaju iz kolesterola. Spolni hormoni odgovorni su za razvoj reproduktivnog sustava jedinki te njihov fiziološki učinak u organizmu. Regulacijski ciklus proizvodnje spolnih hormona je složen proces, a uvelike ovisi o samoj funkciji gonada koji su glavni proizvođači tih steroida. Proizvodnja spolnih hormona se odvija preko osovine hipotalamus – hipofiza – jajnici.

Glavni predstavnici ženskih spolnih hormona su  $17\beta$ -estradiol i progesteron. Sintetiziraju se iz kolesterola i to putem *corpus luteum* jajnika i placente. Kolesterol je polazna točka za proizvodnju i progesterona i estradiola. Postoje dva puta od dehidroepiandrosterona (DHEA) do  $17\beta$ -estradiola. Glavni put je preko androst-4-en-3, 17diona i estrona. Drugi put je preko androste-5-en- $3\beta$ ,  $17\beta$ -diola i testosterona te predstavlja manji put. Estrogeni su ženski spolni hormoni odgovorni za razvoj i održavanje ženskih spolnih organa i sekundarnih spolnih karakteristika. Estrogen tijekom trudnoće djeluje zajedno s progesteronom, a osim toga povoljno djeluje na gustoću kostiju. Najaktivniji estrogen je estradiol.  $17\beta$ -estradiol i estron se mogu pretvarati jedan u drugog. Oba hormona izlučuju jajnici, a metabolički produkt ova dva hormona je estron čija se sinteza odvija u jetri. Estrogen se izlučuje u manjim količinama i prije spolne zrelosti, da bi se tijekom spolne zrelosti količina povećala oko 20 puta.  $17\beta$ -estradiol uglavnom izlučuju jajnici te žuto tijelo, a u manjoj količini testisi i nadbubrežna žlijezda. Progesteron je ženski spolni hormon koji zajedno s estrogenima sudjeluje u regulaciji menstrualnog ciklusa. U negravidnih ženki progesteron se stvara i izlučuje iz žutog tijela, a u gravidnih je glavni izvor hormona posteljica. Nešto se malo progesterona stvara i u nadbubrežnoj žlijezdi i testisima.

Uloga progesterona je da djeluje kao antagonist estrogenim hormonima, povećava viskoznost cerviksa, povećava bazalnu temperaturu tijela, te potiče razvoj mliječnih žlijezda. Progesteron se sintetizira iz kolesterola u žutom tijelu (*corpus luteum*), a estrogeni u jajnicima i žutom tijelu, te nešto manje u testisima i nadbubrežnoj žlijezdi. Tijekom biosinteze spolnih hormona, pregnenolon je važan prekursor koji je potreban za stvaranje svih steroidnih hormona.

Frye i sur. (2018.) istraživali su da li postoji promjena u aktivnosti serumskih mišićnih enzimi u utreniranih pasa za vuču saonica 2-4 dana poslije utrke. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti biokemijske pokazatelje, odabrane hormone (inzulin i kortizol) i reakciju akutne faze u pasa koji su uspješno završili prvu dionicu utrke Yukon Quest 2015. u odnosu na pse koji su na sredini utrke razvili kliničku sliku rabdomiolize. U istraživanju je sudjelovalo ukupno 19 vučnih pasa podijeljenih u 2 skupine. U prvoj skupini je bilo 14 pasa (7 mužjaka i 7 ženki) koji su uspješno završili prvu dionicu utrke. U drugoj skupini je bilo 5 pasa (2 mužjaka i 3 ženke) prosječne starosti  $3,8 \pm 0,8$  godina koji su nakon prve dionice razvili kliničku sliku rabdomiolize.



Uzorci krvi pasa uzeti su neposredno prije utrke i nakon prve dionice tijekom obaveznog razdoblja odmora od 36 sati. Utvrđeno je značajno povećanje koncentracije fosfora, magnezija i ureje u serumu ( $P < 0,01$ ) pasa koji su uspješno završili prvu dionicu utrke. Kod pasa koji su razvili rabdmiolizu, koncentracija fosfora u serumu ( $P < 0,01$ ) bila je značajno povećana, a koncentracija ureje u serumu ( $P < 0,01$ ) značajno smanjena u odnosu na pse koji su uspješno završili prvu dionicu utrke. Koncentracije i aktivnosti enzima ALT, AST i CK, kao i koncentracije glukoze u serumu pasa koji su uspješno završili prvu dionicu utrke pokazuju značajno povećanje u odnosu na vrijednosti prije utrke ( $P < 0,01$ ), sa značajnim povećanjem koncentracije i aktivnosti AST i CK kod pasa koji su nakon prve dionice razvili rabdmiolizu ( $P < 0,01$ ). Koncentracija kalija, kalcija, natrija, ukupnih proteina, albumina i kreatinina u serumu pasa koji su uspješno završili prvu dionicu značajno se smanjila u odnosu na vrijednosti prije utrke kod svih pasa ( $P < 0,01$ ), s izrazitijim značajnim smanjenjem koncentracije kalija u serumu ( $P < 0,01$ ) kod pasa s rabdmiolizom. Nisu zabilježene promjene u serumskim koncentracijama citokina u bilo kojoj skupini pasa (IL-2, IL-6 i IL-8, TNF $\alpha$ ). C-reaktivni protein (CRP) bio je povećan u obje skupine pasa, ali značajno veći u pasa sa rabdmiolizom ( $P < 0,01$ ). Uočeno je smanjenje koncentracije inzulina u krvi obje skupine pasa ( $P < 0,05$ ). Koncentracija kortizola u krvi u pasa koji su uspješno završili prvu dionicu ostaje nepromijenjena, a kod pasa koji su razvili rabdmiolizu dolazi do njegovog značajnog povećanja u usporedbi s psima koji su uspješno završili prvu dionicu ( $P < 0,01$ ). Utvrđeno je, također, da psi koji su uspješno završili prvu dionicu utrke imaju povećanje aktivnosti CK u serumu iznad 10.000 U/L, a psi s rabdmiolizom iznad 30.000 U/L. Iako je koncentracija kalija smanjena u utreniranih pasa, on ostaje u referentnim vrijednostima, a koncentracija kalija u pasa s rabdmiolizom dovodi do hipokalemije. Utvrđeno je da povećanje CRP u serumu pasa može biti odraz normalnog fiziološkog odgovora organizma na utreniranost pasa, no povećanje CRP u serumu pasa s rabdmiolizom može biti rani odgovor akutne faze. Zaključuje se da rezultati ovog istraživanja mogu pomoći u postavljanju novih smjernica za vrijednosti serumskog CK u potvrđivanju dijagnoze rabdmiolize. Nadalje, promjene koncentracije elektrolita, osobito smanjenje kalija u serumu pasa, mogu biti povezane s patofiziološkim mehanizmom rabdmiolize. Ostaje nejasno treba li organizmu pasa dodati dopunu kalija ili natrija u hrani (da se smanji odgovor aldosterona za očuvanje natrija) za prevenciju rabdmiolize, pa su stoga potrebna daljnja istraživanja.

Brancaccio i sur. (2007.) navode da ukupna aktivnost i koncentracija kreatin kinaze (CK) u krvi sisavaca ovise o dobi, spolu, pasmini, mišićnoj masi, fizičkoj aktivnosti i klimatskim uvjetima. Povećanje koncentracije serumskog CK u zdravih ispitanika mogu biti u korelaciji sa statusom fizičke pripreme, budući da one ovise o oštećenju sarkomera, zato jer naporna vježba oštećuje stanice skeletnih mišića i dovodi do povećanja koncentracije ukupnog serumskog CK. Najveće povećanje aktivnosti serumskih enzima nastaje nakon duljeg vježbanja, kao što su ultra- maraton ili vježbe s utezima i trčanje nizbrdo, koje uključuju ekscentričnu mišićnu kontrakciju. Ukupna aktivnost serumskog CK je značajno povišena 24 sata nakon vježbanja, a kada se ispitanici odmaraju, postupno se vraća na početnu vrijednost u mirovanju. Aktivnost serumskog CK pokazuje veliku različitost među pojedinim sportašima. Neki sportaši imaju slab fiziološki odgovor na vježbanje, sa dugotrajno sniženim vrijednostima koncentracije i aktivnosti serumskog CK. Neki sportaši imaju velik fiziološki odgovor na vježbanje, pa imaju trajno povećanje aktivnosti i koncentracije serumskog CK. Zbog svega navedenoga, za povezanost vrste treninga, veličine mišića, tipa vlakana i otpuštanja CK nakon vježbanja, potrebna su daljnja istraživanja.

Rovira i sur. (2007.b) istraživali su hematološke i biokemijske promjene kod 15 pasa na agility natjecanju na stazi od 360-400 m s 40 prepreka koje su trebali savladati tijekom vježbe. Uzorci venske krvi pasa uzeti su 7 dana prije natjecanja, neposredno nakon savladavanja staze, te nakon 5, 15 i 30 minuta nakon savladavanja staze. Utvrđeno je značajno povećanje broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i hematokrita, te nepromijenjenu koncentraciju ukupnih proteina u serumu pasa nakon vježbe. Koncentracija triglicerida u serumu se povećala poslije vježbe, s najvećim vrijednostima 30 minuta nakon vježbe. Poslije vježbe koncentracija laktata u serumu se povećala, a aktivnost serumske laktat dehidrogenaze (LDH) bila je značajno viša 30 minuta nakon vježbe. Zaključuje se da agility natjecanje u pasa izaziva blage do umjerene promjene u hematološkim i biokemijskim parametrima koji nastaju zbog kontrakcije slezene, povećane lipolize i anaerobnih metaboličkih putova za stvaranje energije u mišićima.

Rovira i sur. (2007.a) su proučavali promjene tjelesnih tekućina i elektrolita tijekom i poslije agility natjecanja u 15 pasa koji su se natjecali u prosječnom vremenu od 100 sekundi.

Uzorci krvi uzeti su unutar 30 sekundi nakon natjecanja, te nakon 5, 15 i 30 minuta nakon trke. Prethodno su određene laboratorijske vrijednosti u krvi istih pasa u mirovanju. Utvrđeno je da su se tijekom trke volumen krvi, ukupni volumen eritrocita i volumen plazme povećali, što ukazuje da je kontrakcija slezene glavni čimbenik povećanja volumena krvi. U usporedbi s laboratorijskim vrijednostima u mirovanju, volumen krvi se smanjio nakon oporavka zbog povratka eritrocita u spleničnu rezervu. Također, aktivnost dovodi do povećanja koncentracije klorida i laktata plazme, uz značajno smanjenje koncentracije albumina, kalcija i fosfora i nepromijenjene koncentracije natrija, kalija, ureje i kreatinina u krvi, što također ukazuje da je kontrakcija slezene glavni čimbenik povećanja volumena krvi. Zaključuje se da je kontrakcija slezene i pomak tekućina iz vaskularnog odjeljka djeluje na povećanje volumena krvi, eritrocita i plazme, kao i povećanje volumena stanica povezanih s agility natjecanjem u pasa.

Pellegrino i sur. (2018.) navode da su sportska natjecanja pasa veoma raširena u svijetu. Brzina otkucaja srca, laktati u krvi i rektalna temperatura su parametri za određivanje fiziološkog odgovora organizma pasa na napore vježbe. Autori su proučavali učinak vježbe na brzinu otkucaja srca, laktate u krvi i rektalnu temperaturu u 9 pasa hrtova nakon trke na udaljenosti od 100 m.

Nakon trke, psi su prošli 10-minutno razdoblje odmora. Uzorkovana je krv pasa za određivanje koncentracije laktata u krvi prije trke, neposredno nakon trke, te 5 i 10 minuta nakon trke u razdoblju odmora, a u tom razdoblju je također određena brzina otkucaja srca i rektalna temperatura. Broj otkucaja srca, koncentracija laktata u krvi i rektalna temperatura značajno su se povećale nakon trke ( $P < 0,01$ ). Dok se brzina otkucaja srca vratila na vrijednosti prije trke u 10 minutnom razdoblju odmora ( $P > 0,1$ ), koncentracija laktata u krvi i rektalna temperatura su se povećali ( $P < 0,01$ ). Naglo povećanje vrijednosti brzine otkucaja srca, laktata u krvi i rektalne temperature, uočene neposredno nakon vježbanja u pasa, ukazuje na veliki intenzitet izvršenog napora. Slično tome, koncentracija laktata u krvi nakon vježbanja premašila je prag laktata od 4 mmol/L, što upućuje na prevladavajući anaerobni metabolizam u pasa tijekom napora. Iako se brzina otkucaja srca vratila na vrijednosti prije trke, potrebno je duže vrijeme odmora nakon vježbe od 10 minuta za potpuni oporavak.

Zaključuje se da su u hrtova nakon intenzivne fizičke aktivnosti, brzina otkucaja srca, laktati u krvi i rektalna temperatura pouzdani pokazatelji za točnu procjenu fiziološkog odgovora pasa na napor.

Huntingford i sur. (2014.) opisuju kako ekstremna aktivnost visokog intenziteta izdržljivosti, koja u svojem programu vježbanja ima učestale iscrpljujuće vježbe, postoji kod ekstremnih sportova kao što su ultra maraton, trke polarnih pasa i hrtova, dok je aktivnost niskog intenziteta izdržljivosti kod pasa koji sudjeluju u sportovima i vježbe izvode povremeno ovisno o godišnjim dobima ili samo vikendima. U ovu skupinu pripadaju vojni psi, psi tragači, psi spasitelji, rekreacijski lovački psi, sportski psi uključeni u sportove kao npr. trčanje, plivanje, vožnja biciklom i skijaško trčanje s psom.

Clero i sur. (2015.), te Shadia (2009.) povremene aktivnosti ovih „vikend“ pasa navode kako aktivnost srednjeg intenziteta izdržljivosti.

Levy i sur. (2009.) istraživali su vrste ozljeda kod pasa koji sudjeluju u agility natjecanjima. Autori su proučavali čimbenike opasnosti koji mogu dovesti do ozljeda pasa te odredili koja su anatomska područja bila najčešće ozlijeđena. U istraživanju je sudjelovalo 1627 pasa, od čega ih je 33% bilo ozlijeđeno, a od tih je 58% ozlijeđeno na samom natjecanju. Najčešće su bili ozlijeđeni border koliji. Najčešće ozljede su bile ozljede mekih tkiva, ekstremiteta i leđa pasa. Psi su se najčešće ozljeđivali uglavnom prilikom savladavanja A- prepreka i skokova i oko dvije trećine ozljeda su nastale zbog kontakta s preprekom.

Huntingford i sur. (2014.) navode da je broj natjecateljskih pasa znatno porastao, osobito u fizičkim aktivnostima niskog intenziteta izdržljivosti, a oni su utvrdili povećanje vrijednosti hematokrita, koncentracije AST, ALP, CK, ureje, mokraćne kiseline, ukupnih proteina, albumina, natrija, klorida, željeza, kortizola, vrijednosti TIBC i UIBC, te smanjenje koncentracije glukoze, kalija, kalcija i fosfora, kao i nepromijenjena koncentracija ALT, magnezija, kreatinina i kolesterola u serumu 10 neutreniranih pasa mužjaka prije i poslije 2 dana uzastopne vježbe niskog intenziteta izdržljivosti na pokretnoj traci za trčanje, kao i 20 sati poslije vježbanja. Navedeni psi su vježbali na pokretnoj traci 2 sata brzinom od 11km/sat. Smatra se da smanjena koncentracija glukoze u serumu pasa može biti odraz hranidbe i/ili korištenja energetskih izvora hrane u neutreniranih pasa.

Utvrđeno je da je odmah nakon vježbe izdržljivosti niskog intenziteta, znatno porasla koncentracija serumskog AST što ukazuje na to da je došlo do vježbom potaknutog oštećenja stanične membrane mišića. Ova je studija pokazala da netrenirani psi imaju fiziološke promjene slične onima u drugih pasa koji vježbaju.

Odmah nakon vježbe izdržljivosti niskog intenziteta, serumski enzim CK znatno se povećao ukazujući na to da se pojavilo vježbom potaknuto oštećenje stanične membrane mišića. CK se nije vratio na početnu vrijednost unutar 20 sati, vjerojatno zbog kontinuiranog podizanja koje se pojavljuje nakon prestanka vježbanja sve do 12 sati. Autori su utvrdili značajno povećanje koncentracije željeza, vrijednosti TIBC, kao i UIBC, koja pokazuje dvostruko povećanje u serumu neutreniranih pasa prije i poslije 2 uzastopna dana kontrolirane vježbe niskog intenziteta izdržljivosti na pokretnoj traci, a dolazi do povratka na razinu prije vježbanja 20 sati poslije vježbanja ( $p < 0.05$ ). Došlo je do povećanja koncentracije  $F_2$ -izoprostana u serumu odmah nakon vježbanja, ali nakon 2 dana dolazi do vraćanja na vrijednosti u mirovanju, a koncentracija kortizola u serumu bila je znatno povećana na kraju vježbanja u oba dana. Zaključeno je da neutrenirani sportski psi imaju fiziološke promjene slične psima koji vježbaju. Vježba niskog intenziteta izdržljivosti korištena u ovoj studiji nije izazvala razinu oksidacijskog stresa koji bi ukazivao na značajno oštećenje mišića. Ovi podatci govore da, kao i u ljudi, umjereno vježbanje dovodi do dobre kondicije i poboljšane sposobnosti za odgovor na oksidacijski stres u pasa. Nadalje, netrenirani psi pokazuju blagu hemokoncentraciju i fiziološke promjene sklonije oksidaciji masti nego glikolizi. Autori ističu da su kod oksidacijskih indeksa i mjerenja kortizola u serumu pasa vrijeme uzimanja uzoraka i metode odlučujući pokazatelji u tumačenju nalaza u terenskim istraživanjima.

Clero i sur. (2015.) istražili su učinke dodataka hrani koji sadrže masne kiseline kratkih i srednjih lanaca, mješavinu antioksidansa, vitamine B grupe i L-larnitin u pasa tijekom vježbe srednjeg intenziteta na fiziološke, biokemijske i upalne pokazatelje te biomarkere oksidacijskog stresa. U istraživanju je sudjelovalo 10 utreniranih belgijskih ovčara podijeljenih u dvije skupine. Jedna skupina pasa je koristila dodatke hrani 1 sat prije i tijekom 5 minutnog odmora tijekom vježbe, a druga, kontrolna skupina, nije koristila ništa. Vježba se sastojala od dva trčanja u trajanju od 20 minuta pri brzini od 14 km/sat uz 5 minuta odmora. Vježbanje je ponovljeno nakon 15 dana na način da su skupine zamijenjene, a svaki je pas bio sam sebi kontrola.

Svaki pas je morao trčati uz bicikl i vodiča, a brzina se održavala na istoj razini pomoću prijenosnog GPS uređaja. Psi su bili trenirani za ovu vježbu dva puta tjedno tijekom razdoblja od 1 godine. Uzorkovana je krv pasa 5 minuta prije ispitivanja, neposredno nakon ispitivanja i 24 sata nakon vježbe. Utvrđeno je povećanje glukoze u krvi u obje skupine. Također je utvrđeno povećanje koncentracije triglicerida u krvi pasa. U skupini pasa koji su koristili dodatke hrani, vrijednost triglicerida se smanjila, a vratila se na početne vrijednosti 24 sata nakon vježbe. U skupini pasa koji nisu koristili dodatke u hrani (kontrolna skupina), tijekom vježbe povećala se koncentracija triglicerida u krvi, a nakon 24 sata ta se vrijednost vratila na početnu vrijednost. Autori su zaključili da dodaci hrani mogu povećati izdržljivost i oporavak radnih pasa tragača koji su podložni razdobljima rada, vježbanja i ponavljanjima vježbi u izrazito stresnim situacijama. Ovaj praktičan pristup od velike je važnosti za radne pse koji služe za traganje i spašavanje i može spasiti živote ljudi. Korištenje masnih kiselina s kratkim i srednjim lancima i odabranim antioksidansima, prije i tijekom vježbanja, čini se da može imati pozitivan učinak na radne pse. Zaključno, rezultati ovog istraživanja ukazuju na bolje rezultate i veći učinak nakon korištenja dodataka hrani kod pasa.

Shadia (2009) je proučavao 44 policijska psa njemačka ovčara (22 mužjaka i 22 ženke), u Khartoumu u Sudanu. Utvrđeno je povećanje aktivnosti AST, ALP, glukoze, ukupnih proteina, albumina, smanjenje koncentracije triglicerida, te nepromijenjenu vrijednost koncentracije ureje i kolesterola u serumu pasa.

Hiperglikemija je posljedica stresa izazvanog uzimanjem uzoraka krvi. Pretpostavlja se da je smanjenje koncentracije kolesterola u serumu pasa povezano sa hranidbom jer su psi imali hranu bogatu povrćem, a samim tim i niže razine kolesterola od pasa koji se hrane mesom, ali vrijednosti se ipak nisu smanjile ispod donje razine. Autor je utvrdio smanjenje koncentracije triglicerida u serumu pasa. Zaključuje se da smanjenje vrijednosti triglicerida u krvi pasa nije povezano sa hranidbom. Zaključuje se da spol nije imao značajan učinak na proučavane pokazatelje u krvi.

Radak i sur. (2001.) ukazuju da vježbanje povećava stvaranje reaktivnih vrsta kisika i dušika (RONS) i izazivanjem adaptacije može povećati učestalost bolesti povezanih s RONS-ovima. Jedan trening, ovisno o intenzitetu i trajanju, može izazvati povećanje aktivnosti antioksidacijskih enzima i smanjenje razine tiola, kao i antioksidacijskih vitamina, te može rezultirati oksidacijskim oštećenjem uslijed nepotpune adaptacije.

Povećane razine RONS-a i oksidacijsko oštećenje su inicijatori specifičnih adaptacijskih reakcija, kao stimulacija aktivacije antioksidacijskih enzima, tiola i pojačano popravljnje oksidacijskog oštećenja. Redovito vježbanje ima mogućnost razviti kompenzaciju oksidacijskog stresa, što rezultira pretjeranom kompenzacijom protiv povećanih razina proizvodnje RONS-a i oksidacijskog oštećenja. Redovito vježbanje izaziva adaptaciju antioksidacijskih sustava i sustava za popravljnje, što može rezultirati smanjenjem baznih razina oksidacijskog oštećenja i povećane otpornosti na oksidacijski stres. Adaptacija biološkog sustava na određene stresove jedna je od temeljnih homeostatskih reakcija koja rezultira u povećanoj otpornosti na taj stres. Jedan trening izaziva adaptivnu reakciju, iako ograničenu. S druge strane, pozitivni učinci vježbanja kao što su povećana mišićna masa, poboljšani kardiovaskularni sustav, smanjenja učestalost niza bolesti i sl., uglavnom su posljedica adaptivne reakcije na redovito fizičko vježbanje. Pokazalo se da fizičko vježbanje povećava stvaranje RONS-ova, koji su potrebni inicijatori adaptivnih reakcija antioksidacijskog sustava i sustava koji popravljja oksidacijska oštećenja. Nakon oksidacijskog stresa kojeg je izazvalo vježbanje, organizam može gotovo u potpunosti popraviti oksidacijsku štetu tijekom perioda odmora i pripremiti se za nadolazeće stresove kroz povećanje aktivnosti antioksidacijskih sustava i sustava za popravljnje oksidacijskog oštećenja. Trajanje oksidacijskih opterećenja izazvanih vježbanjem, razina proizvodnje RONS-ova i s time povezano oksidacijsko oštećenje, rezultiraju adaptacijom koja je ovisna o supstratu. Stoga su sadržaj proteina i aktivnosti antioksidacijskih enzima modulirani dostupnošću supstrata; superoksid, primjerice, je potreban za aktivaciju superoksid dismutaze i slično, aktivnost enzima za popravljnje može ovisiti o aduktu (popravljnje DNK). Vrlo lagano vježbanje možda neće izazvati adaptaciju jer je eliminirano stvaranje RONS-ova zbog stalnog raspona razina antioksidanata. Stoga nema potrebe da se poveća aktivnost antioksidacijskih sustava za sustava za popravljnje štete. Vrlo teško i naporno vježbanje ili vrlo kratki periodi odmora mogu dovesti do nekompenziranog oksidacijskog stresa zbog masivne proizvodnje RONS-ova koja rezultira povećanim oksidacijskim oštećenjem. Dobro uravnotežen oksidacijski stres izazvan vježbanjem s adaptivnim oksidacijskim stresom (štetom), s druge strane, rezultirao bi pojačavanjem antioksidacijskih sustava i sustava za popravljnje te bi smanjio proizvode oksidacijskog oštećenja. Takva vrsta adaptacije dovodi do poboljšanje kvalitete života i smanjenja učestalosti niza različitih bolesti.

---

Poznato je da RONS-ovi reagiraju sa lipidima, proteinima i DNK, ali i da blagi oksidacijski stres, kao što je vježbanje, rezultira selektivnim oštećenjem lipida, proteina i DNK.

Neke studije pokazale su da vježbanje i trening smanjuju razine peroksidacijskog lipida (LIPOX) u raznim tkivima tijekom stanja mirovanja. Ukazano je da su promjene razina LIPOX-a u raznim tkivima izazvane vježbanjem ovisne o vrsti tkiva jer su četiri tjedna vježbanja rezultirala smanjenjem razina LIPOX-a u mišićima lista i srcu, ali je došlo do povećanja razine u jetri. Pokazalo se da su početne razine LIPOX proizvoda niže u timusu, slezeni i mezenteričnim limfnim čvorovima. Pokazalo se da je starenje povezano s povišenim razinama LIPOX-a i da vježbanje ima kapacitet ublažiti to povećanje izazvano starenjem. Otkrića o redovitom vježbanju i akumulaciji LIPOX-a ukazuju da vježbanje može rezultirati smanjenjem početnih razina LIPOX-a i membranama koje su bolje otporne na oksidacijski stres. Jedan trening pruža adaptaciju, u ograničenom razmjeru, koja smanjuje oksidacijski stres. Tijekom akutnog vježbanja, aktivnost antioksidacijskih enzima i sadržaj proteina se mogu povećati, ali razine tiola i antioksidacijskih vitamina se smanjuju i stoga se često uočava oksidacijsko oštećenje. Smatra se da bi to oštećenje izazvano vježbanjem, moglo biti važno za aktiviranje sustava za popravljavanje oksidacijskog oštećenja organizma. Redovito vježbanje dovodi do povećanja aktivnosti antioksidacijskih enzima i čini se da se sustav popravljavanja oksidacijske štete može pojačano regulirati, a kao posljedica toga, akumulacija oksidacijskog oštećenja se održava ili smanjuje. Nadalje, redovito vježbanje povećava otpornost na oksidacijski stres. Stoga se čini da umjereno stvaranje RONS-ova, izazvano redovitim vježbanjem, povećava otpornost na bolesti povezane s RONS-ovima i može usporiti neke poremećaje koji su povezani sa starenjem izazvani RONS-ovima.

Radak i sur. (2008.) smatraju da redovita fizička aktivnost, odnosno tjelovježba umjerenog intenziteta i trajanja, poboljšava funkciju kardiovaskularnog sustava i regulira imunološki sustav u organizmu sisavaca. Redovita umjerena fizička aktivnost dovodi do povećanja mišićne mase i povećane otpornosti na oksidacijski stres. No, dokazano je da redovito vježbanje smanjuje oksidacijski stres u organizmu, prekomjerna tjelovježba i pretreniranost dovode do oštećenja organizma izazvanim oksidacijskim stresom. Zaključuje se da redovita umjerena fizička aktivnost osigurava u organizmu sisavaca blagotvorne učinke, uključujući poboljšanu fiziološku funkciju, smanjenu učestalost bolesti i bolju kvalitetu života.



Gomez-Cabrera i sur. (2008.) navode da vježba uzrokuje oksidacijski stres kod sisavaca samo kad je naporna i iscrpljujuća. Naporna vježba uzrokuje oksidaciju glutationa, oslobađanje citosolnih enzima i druge znakove oštećenja stanica. Međutim, sve je više dokaza da reaktivne vrste kisika (ROS) nisu samo štetne, nego također igraju važnu ulogu u staničnoj signalizaciji i regulaciji ekspresije gena. Ksantin oksidaza je uključena u stvaranje superoksida povezanog s napornim vježbanjem, a alopurinol (inhibitor enzima ksantin oksidaze) sprječava oštećenje mišića nakon napornog vježbanja. ROS prilikom vježbanja aktivira staničnu signalizaciju koji dovode do povećane aktivnosti antioksidacijskih enzima, pa se, stoga, vježbanje može smatrati antioksidansom. Rose i Bloomberg (1989.) istraživali su hematološke, biokemijske i metaboličke promjene u pasa hrtova. Ukupno 5 pasa hrtova s prethodno postavljenim karotidnim arterijskim kateterima, trčalo je na udaljenost od 400 m za mamcem. Vrijeme savladavanja staze bilo je od 25 do 27 sekundi. Uzorci arterijske krvi pasa uzorkovani su prije trke i 1 sat nakon trke. Uzorci mišića za mjerenje mišićnih metabolita prikupljeni su biopsijom lateralnog vastus mišića. Rezultati istraživanja ukazuju da je došlo do prolaznog povećanja broja leukocita i neutrofila u krvi pasa, kao i do značajnog povećanja serumske glukoze, ukupnih proteina, kreatinina i kalija 20 minuta nakon trke.

Biokemijske promjene seruma pasa nastaju zbog pomicanja tekućine iz vaskularnog odjeljka, uz povećanje osmolalnosti i ukupnih proteina. Koncentracija glukoze u mišiću i glukoza-6-fosfata povećane su odmah nakon vježbanja, a nisu pronađene promjene u mišićnom ATP-u ili glikogenu prije i poslije vježbanja. Koncentracije laktata u mišićima i plazmi pasa se smanjuje 5 minuta nakon vježbanja.

Wakshlag i sur. (2010.) istraživali su uzrokuje li vježba izdržljivosti na velikim udaljenostima kod pasa za vuču saonica povećanje serumskih koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP). U istraživanju je sudjelovalo 25 vučnih pasa, a krvni serum je dobiven 48 sati prije i odmah nakon završetka utrke od 557 km. Utvrđeno je da se koncentracija CRP u serumu pasa značajno povećala odmah nakon utrke. Koncentracija IL-6 u serumu bila je nepromijenjena, a dolazi do smanjenja koncentracije serumskog albumina. Koncentracija željeza u serumu se neznatno smanjila zbog hrane bogatom željezom koju su konzumirali psi prije utrke.

---

Zaključuje se da koncentracija CRP-a u krvi pasa može poslužiti kao biomarker sustavne upale izazvane fizičkom aktivnošću, odnosno, vježbanjem. Količina vježbi potrebnih za poticanje odgovora akutne faze u pasa nije poznata.

Burr i sur. (1997.) uspoređivali su biokemijske i hematološke vrijednosti u krvnom serumu u pasa za vuču saonica prije i nakon utrke na velikim udaljenostima. U istraživanju je sudjelovalo 17 odraslih pasa u Iditarodovoj stazi iz 1991. godine kao i 21 pas u simuliranoj utrci za pse. Kod pasa koji su završili utrku povećala se koncentracija ureje i mokraćne kiseline u serumu nakon utrke. Kod pasa koji nisu završili utrku (eliminirani su iz natjecanja) uočeno je smanjenje koncentracija ureje i mokraćne kiseline u serumu. Značajno povećanje aktivnosti CK i AST otkriveno je u serumu svih pasa nakon utrke. Kod pasa koji su se natjecali u simuliranoj utrci, nakon utrke, vrijednosti serumskog albumina, ukupnih proteina, kalcija i kalija, kao i koncentracija hematokrita, hemoglobina i broja eritrocita, bile su značajno niže od vrijednosti u mirovanju, a nakon utrke dolazi do značajnog povećanja aktivnosti i koncentracije ALP, ALT, AST, laktat dehidrogenaze (LDH), CK, kao i koncentracije ureje i mokraćne kiseline u serumu pasa odnosu na vrijednosti u mirovanju.

McKenzie i sur. (2007.) proučavali su koji su biokemijski pokazatelji promijenjeni u serumu pasa za vuču saonica nakon dugotrajne vježbe izdržljivosti. U istraživanju je sudjelovalo 10 vučnih pasa koji su trčali 160 km dnevno tijekom 5 uzastopnih dana. Koncentracija serumskog globulina se smanjila nakon vježbe. Nakon vježbe došlo je do povećanja koncentracije serumskog klorida, ureje, srčanog troponina-I i povećanja aktivnosti ALT, CK i AST, a dolazi do smanjenja koncentracija kalija, ukupnih proteina i albumina u serumu pasa. Zaključuje se da su biokemijske promjene seruma pasa vjerojatno nastale kao posljedica metaboličkog stresa zbog produžene vježbe izdržljivosti. Hipoglobulinemija kod pasa za vuču saonica u mirovanju nastaje zbog imunosupresivnog ili kataboličkog učinka napornih vježbi izdržljivosti.

Hinchcliff i sur. (1993.) su proučavali promjene biokemijskih pokazatelja u serumu 28 pasa koji su se natjecali u međunarodnoj utrci pasa za vuču saonica na velikim udaljenostima Yukon Quest 1991. godine. Krvni serum pasa je dobiven nakon 36-satnog obaveznog odmora u sredini utrke, kao i na dvije sljedeće kontrolne točke. Utvrđena je nepromijenjena koncentracija ukupnih proteina, natrija i kreatinina u serumu tijekom utrke.

Koncentracija kalija u serumu značajno se smanjila ( $P < 0,05$ ) kao i koncentracija serumskih triglicerida, a utvrđeno je značajno povećanje serumske aktivnosti ( $P < 0,05$ ) CK i AST tijekom utrke. Koncentracija kortizola u plazmi nije se značajno promijenila.

Hinchcliff i sur. (1997.a) su proučavali kako sudjelovanje u utrci na velike udaljenosti djeluje na koncentraciju elektrolita u serumu i acidobazni status u pasa. U istraživanju je sudjelovalo 14 vučnih pasa, 9 mužjaka i 5 ženki u dobi od 18 do 48 mjeseci. Uzorci krvi dobiveni su prije, tijekom i nakon utrke od 483 km. Utvrđeno je da se koncentracija natrija i kalija u serumu smanjila tijekom utrke, kao i koncentracija ukupnih proteina, albumina i globulina. Acidobazni status se tek minimalno izmijenio. Tjelesna težina u pasa značajno se smanjila tijekom utrke. Zaključuje se da je dugotrajno trčanje povezano je sa smanjenjem koncentracije kationa u serumu kod pasa, slično kao i kod ljudi i konja. Međutim, mehanizam smanjenja koncentracije kationa u serumu vjerojatno se razlikuje među vrstama. Kliničke abnormalnosti povezane sa smanjenjem kationa u serumu nisu uočene u istraživanih pasa.

Davis i sur. (2008.) su proučavali učinke treninga i naporne submaksimalne vježbe izdržljivosti na hematološke vrijednosti kod vučnih pasa. U istraživanju je sudjelovalo 39 pasa za vuču saonica koji su trenirali i natjecali se u utrci izdržljivosti. Uzorkovana je krv pasa prije početka 7-mjesečnog treninga, nakon završetka treninga i nakon završetka utrke izdržljivosti od 1770 km. Nakon treninga i utrke došlo je do značajnog smanjenje koncentracije hemoglobina te značajnog povećanja broja leukocita u krvi pasa. Suprotno tome, nije utvrđeno da trening i vježbe imaju veće učinke na apsolutne brojeve ili frakcije CD4 + ili CD8 + limfocita, osim značajnog povećanja udjela CD8 + limfocita povezanih s treningom. Rezultati istraživanja pokazuju, dakle, da trening i vježbe izdržljivosti dovode do promjena hematoloških pokazatelja, a to su koncentracija hemoglobina i broj leukocita u krvi pasa za vuču saonica.

Reynolds i sur. (1999.) proučavali su kako unos proteina u prehranu vučnih pasa tijekom vježbanja utječe na serumske biokemijske pokazatelje. U istraživanju je sudjelovalo 32 pasa koji su bili raspoređeni na temelju hranidbe u 4 skupine. Prva skupina pasa konzumirala je izokaloričnu hranu koja sadrži 18% proteina, druga skupina 23% proteina, treća skupina 29% proteina i četvrta skupina 35% proteina kao izvor energije.

Psi su hranjeni mjesec dana prije i za vrijeme 12 –tjednog treninga. Utvrđeno je da je nepromijenjena koncentracija hemoglobina u serumu za sve skupine pasa. Psi hranjeni hranom koja sadrži 18% proteina imali su i veću stopu povrede mekih tkiva tijekom treninga, u usporedbi s psima koji su hranjeni drugim hranama. Nakon 12 tjedana, psi hranjeni hranom koja sadrži 29% i 35% proteina imali su povećanu koncentraciju natrija i hemoglobina u serumu. Psi hranjeni hranom koja sadrži 29% proteina imali su veći volumen plazme nakon 12 tjedana u odnosu na pse bilo koje druge skupine. Zaključuje se da konzumiranje hrane s 18% proteina kao izvor energije (3,0 g proteina/kg tjelesne mase) nije dovoljno da udovolji metaboličkim potrebama pasa u treningu. Za intenzivan fizički napor, hrana sa 35% proteina kao izvor energije (6,0 g proteina/kg) ima prednost u odnosu na ostale hrane za pse jer dovodi do povećanja volumena plazme.

Kenyon i sur. (2011.) su proučavali kako vježbe izdržljivosti vučnih pasa na dugim udaljenostima utječe na serumske koncentracije željeza i proteina akutne faze kod pasa. U istraživanju je sudjelovalo ukupno 114 pasa koji su sudjelovali u utrci Iditarod 2007. godine, od čega je 59 pasa završilo utrku, a 55 pasa nije završilo utrku. Uzorci krvi dobiveni su od pasa prije i nakon sudjelovanja u utrci. Utvrđeno je smanjenje koncentracije ukupnih proteina i željeza u serumu nakon utrke, a povećanje koncentracije ceruloplazmina i C-reaktivnog proteina (CRP) u serumu nakon utrke. Pokazano je povećanje koncentracija feritina u serumu kod pasa koji nisu završili utrku, u usporedbi s vrijednošću pasa koji su završili utrku. Također je utvrđeno da je kod 4 od ukupno 114 ispitivanih pasa došlo do smanjenja koncentracije feritina u serumu nakon utrke, što upućuje na mogući nedostatak željeza u krvi. Zaključeno je da su povećanje serumske koncentracije ceruloplazmina i CRP-a nakon utrke dovodi do promjena koje ukazuju na nedostatak željeza, a koje mogu biti prikrivene upalom. Moguće je, stoga, da promjene koncentracija željeza u serumu i CRP mogu odražavati fiziološki odgovor na vježbu izdržljivosti u pasa.

Garza i sur. (1997.) navode da je uobičajena praksa u sportu mjerenje koncentracije serumskog feritina u sportaša kod vježbi izdržljivosti zbog uvjerenja da niske zalihe željeza u organizmu sportaša mogu smanjiti učinak vježbanja. Smatra se da na vježbe izdržljivosti mogu negativno utjecati niske zalihe željeza u organizmu sportaša čak i u odsutnosti anemije.

Zaključuje se da nadomjestak željeza u sportaša može povisiti razine serumskog feritina, ali povećanje koncentracije feritina, bez povećanja koncentracije hemoglobina, nije dovelo do povećanja izdržljivosti. Smatra se, stoga, da niska koncentracija serumskog feritina s koncentracijom hemoglobinom u srednjem i gornjem normalnom rasponu je relativna indikacija za nadomjestak željeza, a niska koncentracija serumskog feritina s hemoglobinom u niskim normalnim granicama je također relativna indikacija za nadomjestak željeza kod sportaša.

Ilkiw i sur. (1989.) su proučavali promjene hematoloških i biokemijskih vrijednosti krvnih pokazatelja u 16 hrtova nakon sudjelovanja u trci na 722 m, tj. nakon fizičke aktivnosti, a određivani su prije trke, neposredno nakon trke i 3 sata nakon trke. Utvrđeno je povećanje ukupnih proteina plazme, hemoglobina, eritrocita, leukocita, segmentiranih i nesegmentiranih neutrofila i limfocita u krvi pasa, a nepromijenjene su vrijednosti monocita i eozinofila neposredno nakon trke. Došlo je do povećanja koncentracije natrija, klorida, kalcija, mliječne kiseline, AST, ALT, ALP, CK, LDH i glukoze u plazmi, a nepromijenjene su koncentracije kalija i ureje neposredno nakon trke. Većina biokemijskih vrijednosti, vratila se na početne vrijednosti u mirovanju 3 sata nakon trke, osim koncentracija natrija, klorida, AST i CK koji su još ostali povišeni, a vrijednost ureje u krvi se smanjila. Također, 3 sata nakon trke uočen je povećan broj leukocita, kao i sniženje koncentracije ukupnih proteina plazme, hemoglobina, eritrocita i limfocita u krvi pasa.

Steiss i sur. (2004.) proučavali su 10 labrador retrievera (4 ženki i 6 mužjaka) u dobi od 3-6,5 godina koji su vježbali s profesionalnim trenerom. Psi su praćeni 5 minuta nakon treninga i 2 uzastopna dana tijekom treninga kao i 2 uzastopna dana na natjecanju na terenu. Utvrđeno je značajno povećanje klorida i laktata u krvi nakon vježbanja ( $P < 0,05$ ), a natrij, kalij i ureja u krvi značajno su se smanjili nakon vježbanja. Utvrđeno je također da vježbanje pasa dovodi do hipertermije, respiratorne alkaloze, hipokapnije i blage metaboličke acidoze koji se javljaju 5 minuta nakon vježbanja tijekom treninga i natjecanja na terenu, što predstavlja fiziološki odgovor na povećanu fizičku aktivnost tijekom vježbanja.

Marin i sur (2013.) smatraju da dugotrajno redovito vježbanje poboljšava antioksidacijski obrambeni sustav u organizmu sisavaca.

Međutim, intenzivne fizičke vježbe kod vrhunskih sportaša mogu dovesti do pretreniranosti koja je povezana sa oksidacijskim stresom. Autori su istraživali kako vježbe opterećenja i sportska natjecanja utječu na oksidacijski stres, biokemijske pokazatelje i antioksidacijsku enzimsku obranu u vrhunskih rukometaša tijekom 6 mjeseci praćenja. U istraživanju je sudjelovalo 10 muških rukometaša. Uzorci krvi prikupljeni su četiri puta svakih šest tjedana tijekom sezone. Utvrđeno je da je tijekom najintenzivnijeg razdoblja treninga i natjecanja došlo do značajnih promjena u plazmatskim pokazateljima oksidacijskog stresa, tj. dolazi do povećanja TBARS i smanjenja tiola. Obrnuto, dugotrajne prilagodbe organizma za intenzivno vježbanje imaju zaštitni učinak protiv oksidacijskog stresa u eritrocita, tj. dolazi do smanjenja TBAR i karbonilne skupine. Aktivnost eritrocitnih antioksidacijskih enzima značajno je povećana, što ukazuje na antioksidacijsku prilagodbu organizma izazvanu vježbanjem. Također je utvrđeno da su se biomarkeri oštećenja skeletnih mišića, a to su CK, LDH i AST, značajno povećali tijekom razdoblja intenzivnog treninga. Nisu zabilježene značajne promjene u plazmi IL-6, TNF-a i mokraćne kiseline, dok je značajno smanjena koncentracija IL-1 $\beta$  i aktivnosti GGT. Zaključuje se da se oksidacijski stres i antioksidacijski biomarkeri mogu mijenjati tijekom sezone natjecanja sportaša.

Chevion i sur. (2003.) istraživali su da li naporno vježbanje dovodi do ubrzanja metabolizma, povećane proizvodnje reaktivne vrste kisika (ROS) i smanjenja kapaciteta antioksidacijskih obrambenih sustava. Autori su proučavali da li je sposobnost visoko uvježbanih vojnika da izdrže oksidacijski stres, izazvan napornim vježbanjem, povezana sa statusom plazmatskih antioksidansa. Ispitanici su bili uključeni u šestomjesečni intenzivni program tjelesne aktivnosti 5 dana u tjednu, a koje je uključivalo dva ekstremna marša od 50 i 80 km tijekom 2 tjedna uz opterećenje teretom od 35 kg na leđima ispitanika, Marš je trajao između 10 i 20 sati. Uzorci krvi uzeti su neposredno prije i poslije svakog marša. Ukupno 29 sudionika je završilo marš od 50 km, a 16 je završilo marš od 80 km. Prema procijeni autora, fizički napori ove skupine bili su zahtjevniji od skupina koje su sudjelovale u drugim istraživanjima. Utvrđeno je povećanje koncentracije AST, CK, glukoze, ureje i bilirubina u plazmi ispitanika poslije napornog vježbanja uz opterećenje teretom. Uočeno je desetostruko povećanje koncentracije CK u plazmi nakon oba marša. Tijekom ili nakon napornog vježbanja dolazi do oštećenja integriteta mišićnih stanica, što omogućuje istjecanje velikih molekula enzima CK iz mišića. Veliko povećanje koncentracije CK u plazmi (10 puta) uočeno je tijekom svakog marša.

Koncentracija CK u plazmi prije prvog marša bila je 3 puta veća od uobičajene. Koncentracija CK u plazmi ispitanika povećala se značajno tijekom svakog marša (40 do 80 puta) nego kod zdravih neaktivnih ispitanika. Koncentracija CK u plazmi ispitanika nije se vratila na svoje početne vrijednosti prije drugog marša. Koncentracija CK u plazmi, dakle, može poslužiti kao izravni pokazatelj količine mišićnog napora utrošenog u vježbanje i učinke vježbanja na tkivo. Zaključno, smatra se da bi, nakon velikih tjelesnih napora, promjene plazmatskih pokazatelja povezanih s vježbanjem, u kombinaciji s procesima unutar stanica, mogle dati koristan podatak o sposobnosti ispitanika da izdrži tjelesnu aktivnost, uključujući iznimno naporno vježbanje.

Leschnik i sur. (2007.) navode da je fizička spremnost policijskih pasa osnova za njihovu učinkovitost. U istraživanju je sudjelovalo 9 pasa kojima su određivani fiziološki pokazatelji prije i nakon treniranja. Test vježbanja sastojao se od toga da su psi trčali 30 minuta na uzici, sa svojim vodičem koji je bio na biciklu koji je opremljen sa standardiziranim brzinomjerom, po ravnoj površini. Fizikalni pregled, elektrokardiogram i analiza krvi učinjeni su prije, neposredno nakon vježbe i 30 minuta nakon vježbanja. Utvrđeno je povećanje rektalne temperature, smanjenje aktivnosti CK i AST u krvi pasa, a nepromijenjena je koncentracija laktata, kolesterola i triglicerida u krvi pasa nakon vježbanja. Ostali pokazatelji, kao što su srčana frekvencija i parcijalni tlak ugljičnog dioksida, nisu se značajno promijenili.

Zaključuje se da fiziološki pokazatelji, kao što su rektalna temperatura, te aktivnosti CK i AST u krvi, mogu biti korisni u tumačenju pojedinačnih referentnih vrijednosti vezanih za trening policijskih pasa, a koje su dobivene prije i nakon programa osnovne obuke. U krvotoku se kolesterol veže s molekulama proteinima, te nastaju različite vrste lipoproteina. Lipoprotein visoke gustoće (HDL) je gusta, kompaktna mikročestica koja prenosi suvišni kolesterol u jetra, gdje se on mijenja i izbacuje kroz žuč. Lipoprotein niske gustoće (LDL) je veća, manje zgusnuta čestica koja obično ostaje u organizmu. Lipoproteini vrlo niske gustoće (VLDL) su molekule koje prenose trigliceride, kemijske spojeve koji pohranjuju masne kiseline, bitan izvor energije za organizam. Poznato je da osobe koje intenzivno vježbaju, poput trkača na duge staze, imaju veliku koncentraciju HDL kolesterola u krvi.

To je u skladu sa činjenicom da žene prije menopauze imaju veću koncentraciju HDL kolesterola u krvi od muškaraca iste dobi, zato jer estrogen u žena povećava koncentraciju HDL kolesterola i VLDL kolesterola u krvi. Poznata je činjenica da u žena prije menopauze hormon estrogen smanjuje LDL kolesterol u krvi (Anonimus, 2010.b).

Wahl i sur. (1981.) istraživali su nasumce odabranih 606 zaposlenika telefonske tvrtke u dobi od 20 do 59 godina. Veliki postotak žena, tj. 50% u dobnoj skupini 20-29 godina i 50-59 godina, koristi neki oblik egzogenog pripravka spolnih hormona. Utvrđeno je da žene koje koriste spolne hormone imaju značajno povećanje koncentracije HDL kolesterola, LDL kolesterola i VLDL kolesterola u svim dobnim skupinama od 20 do 59 godina, u odnosu na žene koje ne uzimaju hormone. Utvrđeno je i da muškarci imaju najveću prosječnu vrijednost VLDL kolesterola, ali njihove prosječne koncentracije HDL kolesterola i LDL kolesterola su niže u odnosu na žene koje uzimaju spolne hormone, tj. jednake onima ženama koje ne uzimaju hormone. Ovi podaci potvrđuju činjenicu da je povećanje lipoproteina u krvi žena povezano s vrstom oralnih kontraceptiva koji koriste, kao i s tretmanom u postmenopauzi.

Rovira i sur. (2008.) navode da je poznato da vježbanje izaziva različite fiziološke i laboratorijske promjene u organizmu sisavaca, ovisno o karakteristikama vježbanja, a to su trajanje i intenzitet, te sposobnost i razina treninga. Popularnost pšecég sporta dovela je do objave većeg broja znanstvenih istraživanja o sustavnim promjenama u organizmu pasa koje nastaju kao rezultat vježbanja. Vježba izaziva različite fiziološke promjene različitog opsega, ovisno o karakteristikama izvršene vježbe (trajanju i intenzitetu) te o sposobnosti i razini treniranja pasa. Autori su proučavali fiziološki odgovor organizma na vježbanje kod pasa obučanih za traganja i spašavanje. U istraživanju je sudjelovalo 9 pasa (5 ženki i 4 mužjaka) u dobi od 24 mjeseca do sedam godina (srednja vrijednost: 3,5 godine). Vježba se sastojala od treninga traganja i spašavanja u trajanju od 20 min, provedenog na otvorenom području. Tijekom vježbe, broj otkucaja srca pasa je kontinuirano praćen pulsni oksimetrom, mjerena je brzina disanja i rektalna temperatura, a uzorci venske krvi dobiveni su u mirovanju, neposredno nakon vježbe, te 5, 15 i 30 minuta nakon vježbe. Rezultati istraživanja ukazuju na to da klinički znakovi koji ukazuju na iscrpljenost ili netoleranciju na vježbanje nisu opaženi kod pasa tijekom istraživanja. Broj otkucaja srca se povećao neposredno nakon vježbe i ostao povećan i 30 minuta nakon vježbe.



Brzina disanja se povećala, kao i rektalna temperatura neposredno nakon vježbe, s najvišim vrijednostima 5 minuta nakon vježbanja. Broj eritrocita i koncentracija hemoglobina ostaju nepromijenjeni neposredno nakon vježbanja, ali neposredno nakon vježbanja dolazi do povećanja i broja leukocita u plazmi pasa. Koncentracija ukupnih proteina, glukoze, kalija i aktivnost AST u plazmi pasa ostaje nepromijenjena neposredno, 5, 15 i 30 minuta nakon vježbe. Koncentracija natrija u plazmi se smanjila neposredno nakon vježbe, i vratila u vrijednosti u mirovanju, a koncentracija klorida i kortizola u plazmi se smanjila neposredno nakon vježbanja. Zaključuje se da dolazi do značajnih promjena fizioloških i laboratorijskih pokazatelja koje su uzrokovane treningom. Osim toga, za vrijeme vježbe nije došlo do dehidracije, elektrolitske neravnoteže i stresa ili oštećenja mišića u ispitivanih pasa.

Robbins i sur. (2017.) su istraživali povezanost okolišnih i fizioloških čimbenika na hematološke pokazatelje koje pridonose izdržljivosti nakon uzastopnih napornih vježbi. U istraživanju je sudjelovalo 12 pasa (8 mužjaka i 4 ženke) u dobi od 8 do 23 mjeseca (6 labrador retrievera, 3 njemačka ovčara i po 1 engleski špringer španijel, njemački oštrodlaki ptičar i nizozemski ovčar). Vježbanje je trajalo do 30 minuta, s 5 min odmora između vježbi ili dok trener ne utvrdi da je pas umoran. Nakon vježbanja, izmjeren je puls i rektalna temperatura, a u venskoj krvi su određeni laktat i plinski pokazatelji. Vanjska temperatura iznosila je 28,9 °C, a srednja vlažnost zraka 47%. Prosječno trajanje vježbanja bilo je 27 minuta. Niti jedan pas nije pokazao znakove toplinskog stresa koji su zahtijevali medicinsku intervenciju. Pokazatelji za mjerenje izdržljivosti pasa bili su ukupna aktivnost, rektalna tjelesna temperatura prije i nakon vježbanja. Utvrđeno je povećanje pulsa i smanjenje tekućine u odjeljku izvanstanične tekućine, povećanje koncentracije laktata, glukoze, hemoglobina i vrijednosti hematokrita u krvi pasa nakon vježbanja. Zaključuje se da su utjecaj vanjske temperature, aktivnosti prije i poslije vježbanja i metabolički pokazatelji važni čimbenici izdržljivosti pasa kod napornog vježbanja.

Muñoz i sur. (1999.) ispitivali su kardiovaskularni i metabolički odgovor u dvije trke kros trčanja (pripremna razina i napredna razina) kod 8 muških trkaćih konja (4 engleska lovačka i 4 englesko-arapska konja). Osnova ovog istraživanja bila je utvrđivanje glavnih metaboličkih putova koji su uključeni u resintezu mišićne energije tijekom natjecanja. Broj otkucaja srca u konja mjeren je tijekom trke.

Uzorci jugularne venske krvi dobiveni su od konja prije trke, neposredno nakon trke, te 5 i 10 minuta nakon trke. Utvrđeno je značajno povećanje broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, vrijednosti MCV i koncentracije ukupnih proteina plazme nakon obje trke. Vrijednost laktata u plazmi premašila je anaerobni prag od 4 mmol/L, dosegnuvši maksimalnu razinu od 13,3 mmol/L. Broj otkucaja srca konja kretao se od 140 do 200 otkucaja u minuti, dosegnuvši maksimum na 230 otkucaja u minuti, što dokazuje smanjenje opskrbe kisika u mišićima. Zaključeno je da se resinteza mišićne energije tijekom trke konja provodi pomoću oksidacijskih procesa i glikolize s odgovorom laktata u plazmi. Stoga su vježbe izdržljivosti i snage nužno potrebne za trkaće konje.

Knežević i sur. (2015.) navode da vježbanje uzrokuje predvidljive promjene u perifernoj krvi mnogih životinjskih vrsta. Te promjene odražavaju u prvom redu odgovarajuće fiziološke prilagodbe na zahtjeve koje postavlja samo vježbanje, ali i patofiziološka događanja koja proizlaze od stresa prouzročenog vježbom. Vježbanje također uzrokuje i fiziološke promjene u broju otkucaja srca, disanju i rektalnoj temperaturi. Broj otkucaja srca se smatra indikatorom relativnog kardiovaskularnog opterećenja i stoga je praćenje broja otkucaja srca vrlo korisno za nadziranje intenziteta treninga kao i za otkrivanje subkliničkih bolesti u životinja. Vrsta napora koju pas izvršava tijekom vježbanja određena je intenzitetom i dužinom trajanja vježbi. Hormonske promjene koje se zbivaju tijekom vježbanja pasa utječu na metabolizam i sposobnost prilagodbe organizma povećanim energetske zahtjevima. U plazmi pasa se više od 90% masnih kiselina nalazi u obliku estera (primarno triglicerola, estera kolesterola i fosfolipida) sadržanih u cirkulirajućim lipoproteinskim česticama, dok se ostalih 10% masnih kiselina u plazmi nalazi neesterificirano, odnosno slobodno. Neesterificirane masne kiseline (slobodne masne kiseline) se transportiraju u cirkulaciji vezane za albumine. Esterificirane masne kiseline u obliku triglicerola su pohranjene u masnim stanicama i služe kao važna rezerva energije za tijelo. Oslobođanje triglicerida iz masnih stanica regulirano je hormonima kako bi se osigurala energija za tijelo između obroka. Kolesterol je prekursor steroidnih hormona nadbubrežne žlijezde (kortizola i aldosterona) te spolnih hormona (estrogena i androgena). Molekule triglicerida i gotovo sve molekule kolesterola cirkuliraju u plazmi u lipoproteinima. Lipoproteini predstavljaju transportni oblik lipida u organizmu. Sastoje se od jezgre hidrofobnih lipida (trigliceridi i esteri kolesterola) koji su okruženi hidrofilnim slojem fosfolipida, apolipoproteina i kolesterola.

Prema gustoći lipoproteini se klasificiraju u pet skupina: hilomikroni–lipoproteini bogati trigliceridima iz hrane, lipoproteini vrlo male gustoće (engl. *very low density lipoprotein* – VLDL) koji sadrže uglavnom endogene trigliceride, lipoproteini srednje gustoće (engl. *intermediate density lipoprotein* – IDL), lipoproteini niske gustoće (engl. *low density lipoprotein* – LDL) i lipoproteini visoke gustoće (engl. *high density lipoprotein* – HDL) u kojima je glavni lipid kolesterol. LDL kolesterol prenosi kolesterol iz jetre do ostalih stanica u organizmu. Višak kolesterola može se taložiti na stijenkama arterija i tamo zajedno s još nekim tvarima iz krvi stvarati plak koji s vremenom može prouzročiti začepljenje krvnih žila. Zbog toga se LDL kolesterol naziva i “lošim kolesterolom”. HDL kolesterol ima ulogu povratnog prijenosa kolesterola iz tkiva u jetru. Na taj način smanjuju vjerojatnost nagomilavanja kolesterola na stijenkama krvnih žila i vjerojatnost razvoja kardiovaskularnih bolesti. Iz tog se razloga HDL kolesterol naziva “dobrim kolesterolom”.

#### 1.1.9. Antioksidansi kao nutritivni dodatci

Do sad su provedena brojna epidemiološka ispitivanja i klinički pokusi u ljudi koji su pokazali kako dugotrajni povećani unos vitamina C i E te  $\beta$ -karotena hranom ili u obliku dodatka vitamina u hrani ili tekućini za piće može imati zaštitni učinak za neke bolesti. Ipak, svi ti klinički pokusi i ispitivanja nisu do sada dali čvrste dokaze o korisnim antioksidacijskim učincima dodatka vitamina u hrani. Provedena su mnoga istraživanja u ljudi o antioksidacijskim učincima nekih vitamina. Većina tih istraživanja ukazala su na povezanost između dugotrajnog povećanog unosa vitamina E i  $\beta$ -karotena hranom koja obiluje voćem i povrćem ili u obliku dodatka vitamina u hrani ili tekućini za piće i smanjene smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti. Jedno istraživanje u ljudi dalo je preporuku prema kojoj bi hranom trebalo svakodnevno unositi četiri važna antioksidansa, a to su vitamini C i E,  $\beta$ -karoten te selen koji je esencijalni sastavni dio antioksidacijskih enzima GPx i tioredoksinreduktaze (Bradamante, 2002.). Podaci dobiveni iz različitih istraživanja nedovoljni su da bi se dodatak antioksidansa u hrani ili tekućini za piće preporučivao sportašima ili fizički aktivnijim osobama. U prehrani sportaša često se koriste dodaci antioksidansa kako bi djelovali protiv povećanog oksidacijskog stresu koji se javlja pri fizičkim naporima. Još uvijek nije u potpunosti poznato da li ova vrsta dodataka antioksidansa u hrani ili tekućini za piće zaista utječe na smanjenje oksidacijskog stresa kod sportaša, mada je dokazano da se na taj način povećava antioksidacijski kapacitet.

U jednoj studiji ispitivan je oksidacijski stres pri fizičkoj aktivnosti kod zdravih netreniranih ispitanika. Proučavane su razlike među spolovima u oksidacijskom stresu pri fizičkoj aktivnosti kao i utjecaj dodatka antioksidacijskih vitamina C i E u hrani prije fizičke aktivnosti.

Utvrđeno je povećanje koncentracije PC, MDA, GSSG, GSH, vitamina C i E u plazmi nakon fizičke aktivnosti u netreniranih ispitanika obaju spolova uz dodatak antioksidacijskih vitamina C i E u hrani prije fizičke aktivnosti. Rezultati ove studije pokazuju da žene imaju višu razinu antioksidansa u krvi u mirovanju u odnosu na muškarce. Dokazano je i da dodatak antioksidansa u hrani može umanjiti oksidacijski stres uzrokovan fizičkom aktivnošću jednako kod oba spola. U drugoj studiji proučavao se utjecaj fizičke aktivnosti i dodatka antioksidansa karnitina u hrani na oksidacijski stres u ispitanika, koji je nastao kao odgovor na aerobni i anaerobni test snage. U ovoj studiji je utvrđeno smanjenje koncentracije MDA u plazmi u mirovanju, povećanje koncentracije ksantinoksidaze u plazmi i vodikovog peroksida u serumu ispitanika nakon fizičke aktivnosti uz dodatak antioksidansa karnitina u hrani prije fizičke aktivnosti. U jednom istraživanju proučavao se učinak dodatka antioksidacijskih vitamina C i E i selena u hrani uz ekscentričnu fizičku aktivnost s dodatnim opterećenjem mišića fleksora u laktu kod mladih utreniranih ispitanica i utvrdilo se smanjenje koncentracije PC, MDA, GSSG i GSH u plazmi ispitanica. Rezultati ispitivanja ukazuju da primijenjeni program fizičke aktivnosti, kao i dodatak antioksidansa u hrani, utječu na smanjenje koncentracije biomarkera oksidacijskog stresa u plazmi utreniranih ispitanica.

U jednoj studiji je ispitan utjecaj dodatka antioksidacijskih vitamina C i E u koncentriranom voćno-povrtnom soku prije fizičke aktivnosti, primjenjivanom kroz 2 tjedna, na oksidacijski stres pri aerobnoj fizičkoj aktivnosti utreniranih ispitanika obaju spolova. U toj studiji je utvrđeno smanjenje koncentracije PC u plazmi, kao i nepromijenjena koncentracija MDA i 8-OHdG u plazmi kod utreniranih ispitanika oba spola 30 minuta nakon aerobne fizičke aktivnosti uz dodatak antioksidacijskih vitamina C i E u voćno-povrtnom soku prije fizičke aktivnosti. U dosadašnjim studijama ispitivan je utjecaj dodatka antioksidansa u tekućini za piće kod odbojkašica tijekom 6 tjedana vježbanja u pred natjecateljskoj sezoni. Utvrđeno je smanjenje koncentracije MDA u plazmi kod odbojkašica na početku i 6 tjedana nakon vježbanja uz dodatak vitamina C i E, cinkovog glukonata i selena u soku prije fizičke aktivnosti.

Dokazano je i da primijenjeni tretman dodatka antioksidansa u hrani ili tekućini za piće u pred natjecateljskoj fazi vježbanja sprečava iscrpljivanje antioksidacijske obrane kod sportašica, što je veoma važno s obzirom da je utvrđeno da su žene sportaši podložnije oksidacijskom stresu u odnosu na muške sportaše.

Unatoč brojnim studijama, točno mjesto nastanka oksidacijskog stresa pri fizičkoj aktivnosti u ljudi, još uvijek nije utvrđeno, kao ni kolika je stvarna korist od dodataka antioksidansa u hrani li tekućini za piće u obrani od oksidacijskog stresa (Stanković i Radovanović, 2012.). Powers i sur. (2004.) navode da mišićna vježba potiče proizvodnju radikala i reaktivnih vrsta kisika (ROS) u mišiću koji vježba. Autori smatraju da su ROS odgovorne za oksidaciju bjelančevina uzrokovanu vježbanjem koji dovode do umora mišića. Kako bi se zaštitile od oksidacijskih oštećenja izazvanih tjelovježbom, mišićne stanice sadrže složene endogene mehanizme stanične obrane (enzimske i neenzimske antioksidanse) kako bi uklonile ROS. Nadalje, egzogeni antioksidansi u prehrani djeluju u suradnji s endogenim antioksidansima i čine mrežu staničnih antioksidansa. Autori navode da proizvodnja oksidansa, koji nastaju zbog vježbanja, može pridonijeti umoru mišića, što je dovelo do brojnih istraživanja koja su ispitivala učinke antioksidacijskih dodataka u prehrani na učinkovitost vježbi kod ljudi.

Do danas, postoji ograničen broj dokaza da će dodatak antioksidansa u prehrani poboljšati učinkovitost vježbanja. Nadalje, ostaje nejasno da li redovito naporno vježbanje povećava potrebu za unosom antioksidansa u prehrani, a zato su potrebna dodatna istraživanja koja analiziraju antioksidacijske zahtjeve kod određenih sportova i sportaša.

Mastaloudis i sur. (2001.) proučavali su jesu li vježbe izdržljivosti povezane s oksidacijskim stresom, tj. uzrokuju li ekstremne vježbe izdržljivosti lipidnu peroksidaciju. Autori su utvrdili u svojoj studiji povećanje koncentracije  $F_{2\alpha}$ -izoprostana u plazmi na početku, u sredini i 1sat nakon utrke, vraćanje na početnu vrijednost 24 sata nakon utrke i nepromijenjenu koncentraciju 30 dana nakon utrke, te smanjenje koncentracije vitamina E u plazmi na početku, u sredini, 1sat nakon i 24 sata nakon utrke kod atletičara nakon ekstremne vježbe izdržljivosti (utrka ultramaratona) koji su uvečer prije utrke i uvečer 29-og dana nakon utrke popili tabletu vitamina E.

---

Ova studija dokazuje da ekstremne vježbe izdržljivosti sportaša imaju kao posljedicu lipidnu peroksidaciju s popratnim bržim smanjenjem koncentracije vitamina E u plazmi.

Sechi i sur. (2017.) istraživali su kako dugotrajna hranidba obogaćena dodatkom antioksidansa djeluje na sprečavanje oksidacijskog stresa i reguliranje općeg zdravstvenog stanja terapijskih pasa. Oksidacijski stres posljedica je nakupljanja reaktivnih vrsta kisika (ROS). Oksidacijski stres izazvan tjelovježbom povećava umor mišića i dovodi do oštećenja mišićnih vlakana, te dovodi do oštećenja imunološkog sustava. U istraživanju je sudjelovalo 11 terapijskih pasa, od toga 6 ženki i 5 mužjaka različitih pasmina i prosječne dobi od  $2,7 \pm 0,8$  godina. Psi su bili podijeljeni u 2 skupine, od kojih je prva skupina hranjena sa hranom bez antioksidansa, a druga skupina s hranom s antioksidansima u razdoblju od 18 tjedana. Nakon 18 tjedana, određeni su metabolički parametri, a to su reaktivni derivati kisikovih metabolita (d-ROM) i biološki antioksidacijski potencijal (BAP), te je došlo do značajnog smanjenja vrijednosti d-ROM, koncentracije triglicerida i kreatinina u krvi skupine pasa koji su hranjeni hranom s antioksidansima ( $P < 0,05$ ), kao i značajnog povećanja vrijednosti amilaze u krvi skupine pasa koji su hranjeni hranom bez antioksidansa ( $P < 0,01$ ). Nakon toga, skupine pasa su zamijenjene s obzirom na hranu sa i bez antioksidansa, te su hranjene još 18 tjedana. Utvrđeno je značajno smanjenje vrijednosti amilaze i glutamat piruvat transaminaze (GPT) u krvi u obje skupine pasa, i one hranjene bez i one hranjene sa dodatkom antioksidansa ( $P < 0,05$ ). Zaključeno je da kontrolirana, uravnotežena hrana obogaćena s dodatkom antioksidansa, dovodi do obnavljanja staničnog metabolizma i neutraliziranja viška slobodnih radikala u terapijskih pasa.

Sacheck i Blumberg (2001.) smatraju da antioksidacijska obrane u organizmu sisavaca ima zaštitnu ulogu u mišićnim stanicama smanjujući pridruženo oksidacijsko oštećenje lipida, nukleinskih kiselina i proteina. Međutim, istraživanja o uporabi antioksidansa u prehrani, poput vitamina E, za smanjenje tjelesnih ozljeda uzrokovanih tjelovježbom, dovela su do dvojbenih rezultata.

Jašić (2013.) navodi da mnoge fitokemikalije ili fitonutritijenti, tvari iz voća i povrća koje blagotvorno djeluju na zdravlje, neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala. Fitokemikalije predstavljaju obrambeni sustav biljaka i vrlo su moćni antioksidansi koji djelotvorno štite organizam sisavaca od mnogih bolesti.

Antioksidansi onemogućuju djelovanje slobodnih radikala/oksidansa kad su oni u suvišku, odnosno kad su iznad razine potrebnog za normalne fiziološke procese organizma. Autor navodi da se u prirodne antioksidanse ubrajaju karotenoidi, od kojih su najpoznatiji  $\beta$ -karoten, likopen i lutein. Također, antioksidanse čine i flavonoidi i izoflavoni, vitamin A, C, E, koenzim Q, kao i minerali selen i cink. Zaključuje se da se svi prirodni antioksidansi nalaze najviše u svježem voću i povrću.

Maughan (1999.) ukazuje da mnogi mikronutrienti igraju ključnu ulogu u metabolizmu proizvodnje energije. Tijekom napore fizičke aktivnosti brzina prometa energije u skeletnim mišićima povećava se 20-100 puta u odnosu na stanje mirovanja. Adekvatan vitaminski i status minerala u organizmu sisavaca neophodan je za zdravlje, a njihovo minimalno smanjenje može biti izraženo samo kada je velika brzina prometa energije u organizmu. Dugotrajna naporna vježba koja se redovito izvodi može također rezultirati oštećenjem mišića ili povećanom brzinom prometa energije, što rezultira potrebom povećanog unosa hrane u organizam. Povećani unos hrane zbog zadovoljavanja potrebe za energijom, povećat će unos prehrambenih mikronutrijenata. Sportaši trebaju u fizički napornom treningu u svoju prehranu obavezno unijeti željezo, kalcij i vitaminske antioksidanse.

Dunlap i sur. (2006.) ukazuju da vježbanje doprinosi oksidacijskom stresu. Voće, kao što su borovnice, su dobri antioksidansi jer sadrže fenole koji ulaze u kemijske reakcije sa slobodnim radikalima. Održavanje razine antioksidansa nadopunom prehrane borovnicama, može spriječiti oksidacijska oštećenja izazvana vježbanjem. U ovom istraživanju su sudjelovali psi za vuču saonica. Protokol vježbanja nije uzrokovao veće oštećenje mišića pasa što se odražava u nepromijenjenoj aktivnosti i koncentraciji CK u plazmi i razini izoprostana, ali dodatak borovnice u hrani doveo je do značajnog povećanja antioksidacijskog statusa u pasa 48 sati nakon vježbanja. Zaključuje se da su psi hranjeni borovnicama tijekom vježbanja, u usporedbi s psima koji su hranjeni s kontrolnom hranom tijekom vježbanja, bolje zaštićeni od oksidacijskog stresa.

Urso i Clarkson (2003.) navode da vježbanje može dovesti do neravnoteže između ROS i antioksidansa, odnosno do oksidacijskog stresa. Dodatke prehrani s antioksidansima koriste sportaši kao sredstvo protiv oksidacijskog stresa izazvanog vježbanjem.

No, nije potpuno istraženo da li naporna fizička aktivnost (naporno vježbanje) zaista povećava potrebu za dodatnim antioksidansima u prehrani.

Peternelj i Coombes (2011.) navode da su velike koncentracije reaktivnih vrsta kisika (ROS) proizvedene u skeletnim mišićima tijekom vježbanja, povezane s oštećenjem mišića i oštećenjem funkcije mišića. Potpora endogenim obrambenim sustavima u organizmu sisavaca sa dodatkom oralnih antioksidansa dobila je veliku pozornost kao neinvazivna metoda za sprječavanje ili smanjenje oksidacijskog stresa, oštećenja mišića i poboljšanje učinka vježbanja. Činjenica je da dodatak antioksidansa smanjuje oksidacijski stres uzrokovan vježbanjem. Međutim, sva istraživanja u ovom području još uvijek nisu dokazala točno na koji način dodaci antioksidansa smanjuju oštećenja mišića uzrokovano vježbanjem i na koji način poboljšavaju učinkovitost vježbanja. Osim toga, sve veći broj istraživanja ukazuje na štetne učinke antioksidacijskih dodataka na zdravstvene i radne učinke vježbanja.

Iako su ROS povezane s štetnim biološkim i kemijskim reakcijama u organizmu, one su također bitne za razvoj i optimalnu funkciju svake stanice. U 23 istraživanja dokazano je da dodaci antioksidansa kod sportaša ometaju normalnu fiziološku prilagodbu organizma izazvanu vježbanjem. Glavna otkrića navedenih istraživanja su da u određenim situacijama opterećenje stanice visokim dozama antioksidansa dovodi do smanjenja pozitivnih učinaka vježbanja i do ometanja važnih fizioloških procesa posredovanih ROS-om, kao što su vazodilatacija i signaliziranje inzulina. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se izradile smjernice u svezi uporabe antioksidacijskih dodataka sportašima tijekom vježbanja. Stoga se preporuča da adekvatan unos vitamina i minerala kroz raznovrsnu i uravnoteženu prehranu ostane i nadalje najbolji pristup za održavanje optimalnog antioksidacijskog statusa u vježbanju sportaša.

Pingitore i sur. (2015.) smatraju da oksidacijski stres odražava neravnotežu između proizvodnje reaktivnih vrsta kisika i adekvatne antioksidacijske obrane. Ovo nepovoljno stanje u organizmu sisavaca može dovesti do oštećenja stanica i tkiva. Odnos između vježbanja i oksidacijskog stresa posebno je složen, a ovisi o načinu, intenzitetu i trajanju vježbanja. Redoviti umjereni trening čini se korisnim za sprječavanje oksidacijskog stresa i za zdravlje.



Isto tako, kratkotrajna vježba dovodi do povećanog oksidacijskog stresa, iako je taj isti poticaj potreban kako bi se omogućila regulacija endogenih antioksidansa. Dodatak oralnih antioksidansa endogenoj antioksidacijskoj obrani u organizmu može predstavljati prikladno neinvazivno sredstvo za sprečavanje ili smanjivanje oksidacijskog stresa tijekom treninga. Međutim, višak egzogenih antioksidansa može imati štetne učinke na zdravlje i učinkovitost vježbanja. Prirodna hrana, umjesto u obliku tablete, sadrži antioksidanse u prirodnim omjerima i onim fiziološkim omjerima koji mogu djelovati tako da se optimizira antioksidacijski učinak. Zaključuje se da adekvatan unos vitamina i minerala kroz raznovrsnu i uravnoteženu prehranu ostaje najbolji pristup za održavanje optimalnog antioksidativnog statusa u organizmu sisavaca. Antioksidacijski dodaci mogu se davati u posebnim uvjetima, kada su sportaši izloženi izuzetno velikom oksidacijskom stresu ili ne ispunjavaju zadovoljavajuće zahtjeve antioksidansa u prehrani. Potrebno je individualizirani pristup za prehranu kod svakog sportaša u određenom razdoblju treninga, klinički nadziran uz uključivanje analize krvi i fizioloških testova, uz sveobuhvatnu nutricionističku potporu.

Baskin i sur. (2000.) zaključuju da dopunska prehrana s antioksidansima ( $\alpha$ -tokoferol acetat,  $\beta$ -karoten, lutein) dovodi do povećanja koncentracije antioksidansa u plazmi pasa za vuču saonica. Osim toga, dodatak antioksidansa u prehrani smanjuje oksidaciju DNA i povećava otpornost lipoproteinskih čestica na *in vitro* oksidaciju, a može i ublažiti posljedice oksidacijskog stresa, tzv. oksidacijsku štetu uzrokovanu vježbanjem.

Mesarić, Bačić i Ivković (2015.) ukazuju da se antioksidansi u organizam sisavaca svakodnevno unose hranom i pićem. U hrani antioksidansa ima najviše u kuhanim rajčicama, borovnicama, brusnicama, košticama grožđa, matičnoj mliječi, propolisu, klinčiću i crnom vinu. Antioksidansi mogu biti i u obliku dodataka prehrani kao što su vitamin C (prooksidant), vitamin E (bolje djeluje oblik topiv u vodi), vitamin A, OPC (oligoprocijanid iz koštica crnog grožđa), resveratrol, likopen (sa intracelularnim djelovanjem), fenoli i flavonoidi (čokolada), kao i EPCG (epigalokatehingalat iz zelenog čaja).

Kukovska i sur. (2015.) su procjenjivali učinke 60-dnevnog dodatka hrani šipka i grožđa kod uravnotežene kućne hranidbe na parametre oksidacijskog stresa, a to su reaktivni derivati kisikovih metabolita i malondialdehid u serumu vojnih pasa prije i nakon redovite tjelesne aktivnosti, odnosno vježbanja. Psi su hranjeni uravnoteženom kuhanom hranom prema vojnim protokolima. Psi su nasumično podijeljeni u 4 skupine u skladu s režimom hranidbe: 1. skupina su psi koji su hranjeni sa uravnoteženom kuhanom hranom prema vojnom standardu, 2. skupina su psi koji su hranjeni sa suhom hranom za pse, 3. skupina su psi koji su hranjeni sa kuhanom hranom s dodatkom ekstrakta od 500 mg šipka i 4. skupina su psi koji su hranjeni kuhanom hranom s dodatkom 100 mg ekstrakta grožđa u razdoblju od 60 dana, nakon čega su sve 4 skupine hranjene standardnom kuhanom hranom. Uzorci krvi u pasa dobiveni su prije vježbanja, unutar 60 dana od početka vježbanja i hrane sa dodacima antioksidansa i nakon 60 dana od vježbanja i dodatka hrani antioksidansa. Utvrđeno je da je početno povećanje reaktivnih derivata kisikovih metabolita i malondialdehida u serumu vojnih pasa nakon vježbanja ukazuje na prisutnost oksidacijskog stresa 30 minuta nakon vježbanja. Međutim, antioksidacijski učinci ekstrakata šipka i grožđa nisu sigurno utvrđeni, jer nakon hranidbe i vježbanja nije došlo do statistički značajne razlike za malondialdehid ni u 60 dana dodatka hrani niti nakon 60 dana nakon ukidanja dodataka hrani.

Piercy i sur. (2000.) istraživali su da li dodaci hrani sa antioksidansima smanjuju aktivnost kreatin kinaze (CK) u plazmi induciranim vježbanjem kod pasa. U istraživanju je sudjelovao 41 pas za vuču saonica. Psi su nasumično podijeljeni u dvije skupine, te su dobivali istu osnovnu hranu kroz čitavu studiju. Nakon 8 tjedana uz osnovnu hranu, prva skupina pasa (21 pas) dobila je dodatak hrani koji sadrži vitamin E, vitamin C i  $\beta$ -karoten, a kontrolna skupina (20 pasa) uz osnovnu hranu, dobila je dodatak hrani s minimalnim količinama antioksidansa. Nakon 3 tjedna, obje skupine pasa su odradile jednaku vježbu izdržljivosti ukupnog trajanja 3 dana. Uzorci krvi prikupljeni su prije i 3 tjedna nakon dodavanja dodataka antioksidansa hrani pasa nakon svakog dana vježbanja. Dodaci hrani koji sadrže antioksidanse uzrokovali su značajno povećanje koncentracije vitamina E, ali je koncentracija retinola, vitamina C i ukupnog antioksidacijskog statusa ostala nepromijenjena u krvi pasa. Vježba je uzrokovala znatno povećanje aktivnosti CK, ali nije uzrokovala značajnu razliku u aktivnosti CK između skupina.

Vježba je, također, bila povezana sa sniženjem koncentracije vitamina E, retinola i kolesterola i ukupnog antioksidacijskog statusa, te povećanom koncentracijom vitamina C, triglicerida i mokraćne kiseline u krvi obje skupine pasa. Zaključuje se da uporaba dodataka hrani za pse koji sadrže antioksidanse, nije smanjila vježbom uzrokovano povećanje aktivnosti CK u krvi pasa. Oštećenje mišića kod pasa, mjereno aktivnošću plazmatskog CK, nastaje, dakle, uz pomoć nekog mehanizma koji nije oksidacijski stres.

Sacheck i sur. (2003.) su utvrdili povećanje aktivnosti CK u serumu 16 mladih (26.4 +/-3.3 godina) i 16 starijih (71.1 +/- 4.0 godina) zdravih ispitanika nakon vježbanja, a koji su nasumce odabrani i koji su trčali niz brdo 45 minuta tijekom 12 tjedana. Ispitanici su bili podijeljeni u 2 skupine: jedna skupina je uzimala vitamina E u koncentraciji od 1000 IU/d prije i poslije trčanja, a druga, kontrolna skupina, je uzimala placebo također prije i poslije trčanja. Uzorci krvi ispitanicima su vađeni prije i neposredno nakon vježbe, kao i 6, 24, i 72 sati poslije vježbanja kako bi se odredilo antioksidacijsko stanje, ozljeda mišića peroksidacija lipida te oštećenje DNA. Uzimanje vitamina E uzrokovalo je manje promjene u smislu smanjenja oksidacijskog stresa izazvanog ekscentričnim vježbama, a iako su bile različite u mlađih i starijih ljudi, dok dob nije imala izravan utjecaj na ove reakcije u skupini ovih utreniranih ispitanika.

White i sur. (2001.) analizirali su aktivnost CK u krvi 44 trkaća konja prije i nakon trke na  $1\ 000 \pm 200$  metara pri maksimalnoj brzini, pri čemu je jedna skupina (14 konja) primila prije trke 5 g C vitamina intravenozno, a kontrolna skupina od 30 konja nije primila C vitamin prije trke. Utvrdili su povećanje aktivnosti CK u krvi nakon trke u obje ispitivane skupine konja. Rezultati ovog istraživanja ukazuju da je primjena C vitamina smanjila oksidacijski stres izazvan vježbanjem kod trkaćih konja, ali nije mogla spriječiti oštećenje mišića.

Jewell i sur. (2000.) navode da oksidacijsko oštećenje DNA, proteina i lipida može biti uzrok starenja i različitih kroničnih bolesti u organizmu sisavaca. Prisutnost ukupnih alkena (malondialdehid i 4-hidroksialkeni) u krvi ili tkivima pokazatelj je lipidne peroksidacije, koja može biti rezultat oksidacijskih reakcija *in vivo*. Vitamin E djeluje kao antioksidans koji lomi lanac i sprječava širenje oštećenja slobodnih radikala u biološkim membranama.

Ova istraživanje trajalo je 6 tjedna kako bi se procijenio učinak određene koncentracije vitamina E na nusprodukte oksidacijskih reakcija *in vivo* kod pasa i mačaka. 40 odraslih pasa i 40 odraslih mačaka bilo je raspoređeno u četiri jednake skupine po vrsti prema slučajnom odabiru. Kontrolne skupine pasa i mačaka hranjene su suhom hranom koja je sadržavala koncentraciju vitamina E od 153 i 98 IU /kg hrane, a pokusne skupine pasa i mačaka hranjene su istom suhom hranom, ali sa dodatkom vitamina E u koncentraciji od 293, 445 i 598 IU/kg hrane za skupinu pasa i u koncentraciji vitamina E od 248, 384 i 540 IU/kg hrane za skupinu mačaka. Utvrđeno je da je povećanje koncentracije vitamina E u hrani za pse i mačke uzrokovalo značajno povećanje koncentracije vitamina E u serumu pasa i mačaka u usporedbi s bazalnim vrijednostima. No, svi postupci povećanja koncentracije vitamina E u serumu nisu bili učinkoviti i u smanjenju serumske razine alkana. Zaključuje se da psi i mačke doživljavaju oksidacijsko oštećenje i da povećana razina antioksidansa u njihovoj prehrani može smanjiti *in vivo* oksidacijsko oštećenje organizma.

Bloomer i Smith (2009.) su proučavali učinak oksidacijskog stresa na aerobne i anaerobne vježbe snage, te odredili kako vježbanja uz dodatak ili bez dodatka glicin propionil-L-karnitina (GPLC) utječe na smanjenje oksidacijskog stresa u ispitanika. U istraživanju je sudjelovalo 32 ispitanika (dvostruko slijepa proba) koji su dobivali placebo, GPLC-1 (1 g PLC/d), GPLC-3 (3 g PLC/d) tijekom 8 tjedana uz aerobno vježbanje. Krv je uzeta od ispitanika prije i neposredno nakon vježbanja i analizirana na malondialdehid vodikov peroksid i aktivnost ksantin oksidaze. Rezultati istraživanja upućuju da se koncentracija malondialdehida u krvi ispitanika tek malo povećala nakon vježbanja, ali se smanjila za obje GPLC skupine nakon mirovanja ( $p=0,044$ ). Utvrđeno je također i povećanje koncentracije vodikovog peroksida ( $p=0,05$ ) i aktivnost ksantin oksidaze ( $p=0,003$ ). Zaključuje se da i aerobne i anaerobne vježbe snage povećavaju oksidacijski stres u sličnom opsegu. Vježbanje ispitanika uz dodatak karnitina (GPLC) može smanjiti koncentraciju malondialdehida u krvi ispitanika u mirovanju, ali ima neznatan utjecaj na ostale biomarkere oksidacijskog stresa izazvane tjelovježbom.

#### *1.1.10. Podjela pasmina pasa*

Podjela pasa može se izvršiti prema različitim kriterijima, na osnovu njihovih različitih osobina.

Ni jedna od tih podjela nije dovoljno precizna, jer se mnoge pasmine nastale križanjem pasmina iz različitih grupa podjele i ne mogu se precizno svrstati u samo jednu od njih.

Jedna od glavnih podjela je morfološka klasifikacija na temelju građe tijela psa. Također, vrlo je bitna i radna sistematizacija s obzirom na njihovu namjenu i cilj uzgoja. Upravo zbog toga što se većina pasmina istovremeno može nalaziti u više skupina, službena sistematizacija koju primjenjuje Međunarodna kinološka organizacija, FCI, često se mijenja. Svakih nekoliko godina primjenjuje se nova podjela u pasminske razrede, pri čemu se uzima u obzir i morfološka i radna sistematizacija (Bauer, 1996.). Prema toj podjeli, psi su svrstani u 10 grupa sa sekcijama i podsekcijama.

#### *1.1.10.1. FCI klasifikacija pasa*

- I FCI Grupa - Pastirski psi i psi čuvari stada
- II FCI Grupa - Pinčevi i šnauceri
- III FCI Grupa - Terijeri
- IV FCI Grupa - Jazavčari
- V FCI Grupa - Špic tip i primitivni tip pasa
- VI FCI Grupa - Goniči i krvosljednici i srodne rase
- VII FCI Grupa - Ptičari
- VIII FCI Grupa - Retriveri, šunjkavci i psi za vodu
- IX FCI Grupa - Psi za pratnju i razonodu
- X FCI Grupa - Hrtovi

#### *1.1.10.2. Morfološka podjela pasa*

Prema obliku glave ili morfološkoj sistematizaciji, svi se psi mogu podijeliti u četiri osnovna tipa:

1. Lupoidni tip pasa po građi lubanje sličan je vuku, a tu pripadaju svi ovčarski psi, dio pastirskih pasa, terijeri, pinčeri, gubičari, polarni psi i dr.
2. Molosoidni tip pasa su psi koji su građom lubanje slični izvornom morfološkom psu jake, masivne i velike građe tijela, a tu pripadaju sve doge i dogoliki psi, te većina pastirskih i planinskih pasa.
3. Graoidni tip pasa su psi vitke građe, a tu pripadaju hrtovi i hrtoliki psi.

4. Brakoidni tip je skupina u koju pripadaju ptičari, goniči, jazavčari, španijeli, retriveri i psi za vodu. To je skupina kojoj pripadaju svi goniči, a i iz njih nastali ostali psi koji prema radnoj sistematizaciji pripadaju lovačkim psima pa su oni izjednačeni i po morfološkom i po uporabnom kriteriju. U ovog tipa glava je u obliku prizme, njena dužina otprilike je jednaka dužini lopatice, dok je gubica jednako široka s donje, kao i s gornje strane. Imaju izrazit stop i robusno tijelo snažne konstitucije te čvrstu i skladnu građu tijela.

Psi ovakve konstitucije živahnog su temperamenta i otporni na bolesti i nepovoljne vanjske (ekološke) čimbenike. Karakterizira ih izuzetna izdržljivost (dugo mogu trčati za divljači, praktično bez predaha) (Tucak i sur., 2003.).

#### *1.1.10.3. Radna sistematizacija pasa*

Prema Tucaku i sur., (2003.) psi se prema funkciji i vrsti rada dijele na lovačke pse i nelovačke pse. Prema načinu upotrebe u lovu lovački psi se dijele na: ptičare, dizače divljači, retrivere, jamare, goniče i tragače po krvi (krvosljednike).

### 1. LOVAČKI PSI

- 1) Ptičari
- 2) Dizači divljači
- 3) Donosači divljači
- 4) Retriveri ili aportereri
- 5) Šunjkavci
- 6) Jamari
- 7) Goniči
- 8) Tragači po krvi (krvosljednici)

### 2. NELOVAČKI PSI

- 1) Službeni psi
- 2) Ovčarski i pastirski psi
- 3) Psi čuvari i psi za kuću
- 4) Hrtovi

- 5) Psi za pratnju i razonodu
- 6) Sportski psi

### *1.1.11. Lovački psi*

Poznato je da je od ukupno preko 400 kod FCI registriranih pasmina, do danas je uzgojeno i registrirano oko 150 pasmina koje pripadaju skupini lovačkih pasa. Skupina lovačkih pasa, proizlazi iz radne sistematizacije pasa po kojoj su oni podijeljeni prema radnim osobinama na dvije skupine, lovačke i nelovačke pse.

Goniči su najstarija skupina lovačkih pasa koja lovi zajedno s čovjekom od pradavnih vremena, pa stoga psi goniči čine najstariju i najbrojniju skupinu lovačkih pasa. Čovjek je kasnije, postupnom selekcijom stvorio pasmine naglašenih određenih osobina koje su mu bile korisne za lov. Smatra se da je u Europi do danas uzgojeno oko 90 pasmina pasa goniča. Lovački psi goniči uzgojeni su i održali su se u zemljama s pretežno brdsko-planinskom konfiguracijom reljefa, uz veliki udio površina obraslih šumama (Tucak i sur., 2003.).

Postoje dvije vrste pasa goniča, a to su dugonogi i kratkonogi goniče. Dugonogi goniči izvorni su oblik ove skupine, no budući da su se razvojem današnjeg društva uvelike smanjila lovna područja, nove prilike prouzročile su stvaranje goniča s kraćim nogama. Goniči su iskonski lovci koji glasno love. Svojim različitim glasanjem lovcu daju informaciju koju divljač gone, koliko su udaljeni od nje, ukazuju na trenutke u kojoj pronalaze divljač, prestižu je i napadaju te u kojem će ju smjeru dovesti u vidokrug lovca, koji osluškujući glasanje svog psa ima dovoljno vremena predvidjeti gdje će divljač proći te se pripremiti za hitac i odstrel (Pasarić, 2018.). Osim naših autohtonih pasmina goniča, i ostale pasmine, koje su uzgajane u istočnim područjima Hrvatske, pokazale su se kao idealne pasmine za ravničarske lovove. Tako se često susreću alpski brak jazavčari, slovački goniči (kopovi), bosanski oštrodlaki goniči (baraci), balkanski goniči, trobojni goniči te mnogi drugi. Kod nas psi goniči koriste se najčešće u brdskim krajevima za lov na sitnu divljač. Zbog svojeg povišenog tijela vrlo lako savladavaju terene te mogu goniti divljač i po nekoliko sati. Međutim, danas se dosta koriste i u lovovima na divlje svinje.

U istočnim dijelovima Hrvatske, odnosno nizinskim dijelovima, psi goniči ne koriste se često, osim u lovovima na divlje svinje, sitnu divljač poput zeca ili u lovu na predatore. Zbog takvog terena i načina lova najčešće se koriste brakjazavčari, kopovi ili biglovi, a mogu se naći i druge pasmine poput terijera ili jazavčara (Pikec, 2017.).

#### *1.1.11.1. Hrvatske autohtone pasmine pasa*

Autohtonim hrvatskim pasminama pasa smatra se 7 pasmina, a to su hrvatski ovčar, dalmatinski pas, mali međimurski pas, tornjak, posavski gonič, istarski oštrodlaki gonič te istarski kratkodlaki gonič (Pasarić, 2018.). Naši preci baveći se od davnina lovom uspjeli su uzgojiti vlastite autohtone pasmine pasa goniča. One postoje i danas, priznate od Međunarodne kinološke organizacije (FCI). Te su pasmine posavski gonič, istarski kratkodlaki gonič i istarski oštrodlaki gonič (Tucak i sur., 2003.).

U našim krajevima, koji su pretežito šumovita područja, naši preci koji su se također od davnina bavili lovom, a tijekom stoljeća uspjeli su uzgojiti vlastite autohtone pasmine pasa goniča. Goniči su naše jedine autohtone pasmine lovnih pasa, a sve druge koje se koriste na našim područjima su iz drugih zemalja. Po obliku naši su goniči kvadratični – visoki i dugački oko 50 cm (45-55), imaju umjereno duge viseće uši, a repovi im se ne skraćuju – ostaju prirodno dugi. Po građi tijela prilagođeni su relativno brzom i ustrajnom kretanju, a glas im mora biti jasan, glasan i zvonak jer je to signal za lovce kojim smjerom gonič goni divljač, odnosno iz kojeg smjera treba gonjenu divljač očekivati (Darabuš i Jakelić, 2002.). Već u samim nazivima pasmina vidi se porijeklo tih pasa i kraj čiju kulturu i običaje predstavljaju, te ih samim time možemo i predstaviti kao našu ostavštinu i svjedoke prirodne, kulturne i povijesne baštine Republike Hrvatske. U lovištima na području Republike Hrvatske najčešće se koriste naše autohtone dugonoge pasmine goniča, a to su istarski kratkodlaki i istarski oštrodlaki gonič te posavski gonič (Pasarić, 2018.).

#### *1.1.11.2. Lovački psi goniči u Republici Hrvatskoj*

Pasmine lovačkih pasa iz skupine goniča, koji se najčešće rabe u lovištima u Republici Hrvatskoj, su istarski kratkodlaki gonič, istarski oštrodlaki gonič, posavski gonič, dalmatinski pas, bosanski oštrodlaki gonič (barak), srpski gonič, trobojni gonič, planinski gonič, slovački gonič (kopov), tirolski gonič, alpski brak jazavčar, bigl i baset (Tucak i sur., 2003.). Alpski brak jazavčar je najčešći kratkonogi gonič u našim lovištima (Pasarić, 2018.).



### *1.1.12. Alpski brak jazavčar (njem. Alpenlandische dachsbracke)*

FCI klasifikacija:

- Skupina 6. Goniči, krvosljednici i srodne pasmine
- Sekcija 2. Krvosljednici (s radnim ispitom)

Standard: 254 /18.06.1996./Zemlja porijekla: Austrija

Datum standarda: 10. listopad 1995.

Alpski brak jazavčar (njem. Alpenlandische dachsbracke) je pas porijeklom iz Austrije. Prema FCI klasifikaciji pripada u Grupu 6. Goniči, krvosljednici i srodne pasmine, Sekcija 2. Krvosljednici, s radnim ispitom. Standard 254 /18.6.96./, zemlja porijekla: Austrija, datum standarda: 10. listopad 1995. godine.

Osnovne proporcije ove pasmine su sljedeće: visina u grebenu iznosi 34 do 42 cm, idealna veličina za mužjake je 37-38 cm, a za ženke 36-37 cm (FCI, 1996.)



**Slika 1. Alpski brak jazavčar-Dachsbracke (Izvor: <http://www.lovac.info>, 2006.)**

#### *1.1.12.1. Standard pasmine*

##### **Vanjski izgled pasmine**

Opći izgled Alpskog brak jazavčara je karakterističan. Radi se o kratkonogom, krupnom lovnom psu robustnog i snažnog kostura, guste dlake i čvrstih mišića. Važne proporcije su da odnos visine i dužine tijela iznosi 2:3 i odnos ličnog i lubanjskog dijela glave je 9:10. Po ponašanju je inteligentnog i prijateljskog izražaja, neustrašiv. Lubanja je lagano zasvođena sa izraženim stopom.

Predio lica ima snažna njušku s naglašenim prijelazom u lubanjski dio. Čeona brazda je dobro izražena. Potiljna kost je blago naglašena. Nos je crn s ravnim nosnim hrbatom. Usnice su priliježuće, crnog pigmenta s lagano zaobljenim kutom usnica. Ima snažno kompletno zubalo, škarasto ili klještasto. Traži se puni niz od 42 zuba. Nedostatak dva zuba (P1 ili P2) se tolerira. Nedostatak M3 se ne provjerava. Oči su tamno smeđe. Očni kapci su priliježući uz oko i crno pigmentirani. Uši su visoko usađene bez nabora, široke i glatke, viseće, srednje dužine (dosežu do očnjaka) te dobro zaobljene pri vrhovima. Vrat je mišićav, ne predugačak. Tijelo je izduženo, s dobrim i snažnim mišićima. Greben je umjereno naglašen. Leđa su ravna. Slabine su kratke i široke. Sapi su jedva koso položene. Prsa su duboka i široka, bez izraženog predprsja. Dubina prsiju je oko polovice visine psa. Trbuh je umjereno uvučen. Rep je visoko usađen, debeo pri korijenu. Ima dužu dlaku s unutrašnje strane (četkasti rep). Jedva doseže do zemlje, nošen je blago prema dolje. Prednji dio ima udove s priliježućim lopaticama koje su dugačke, koso položene i sa snažnim mišićima. Prednje noge su ravne i snažne, djeluju kratko u odnosu na tijelo. Stražnji dio ima mišiće i snažne udove, dobrih kutova. Gledano od iza, osi nogu su ravne. Prednje i zadnje šape su snažne, okrugle, s međusobno zbijenim prstima. Imaju snažne jastučice i crne nokte. Kretanjem dobro pokriva teren. Kretanje je izduženog koraka, poželjan hod je kas. Koža je elastična i snažna, bez nabora. Ima dvostruku dlaku koja se sastoji od vrlo debele vanjske dlake i guste poddlake, koja pokriva cijelo tijelo i priliježe. Idealna boja dlake je tamno jelenje crvena sa ili bez primiješanih crnih dlaka. Također je poželjna i crna boja s jasnim oznakama crveno-smeđe boje po glavi ("Vieraugl"), prsima, nogama, šapama i s unutrašnje strane repa. Dozvoljena je bijela zvijezda na prsima (FCI, 1996.).

### **Temperament psa i korištenje pasmine**

Alpski brak jazavčari vrlo su prijateljski nastrojeni, ali i neustrašivi pri kontaktu sa divljači. Robustan je radni pas, otporan na vremenske prilike. Upotrebljava se za lov u planinama, osobito kao tragač ranjene jelenske divljači ili kao gonič za zeca i lisicu (FCI, 1996.). Alpski brak jazavčari su privrženi svom gospodararu i lako ih je trenirati. Iako po svojoj klasifikaciji spadaju u krvosljednike, u našoj zemlji je vrlo malo onih koji su obučavani za tu namjenu. Alpski brak jazavčari kod nas se koriste prvenstveno u lovovima na divlje svinje.

Zbog svog izgleda najbolji tereni su upravo u istočnim dijelovima Hrvatske gdje su tereni obrasli šumom, šikarama i ispresijecani mnogobrojnim prosjekama, a pogoni su kratki. Vrlo lako pronalaze trag divljači i na njega reagiraju vrlo dobro. Pronalaskom divljači reagiraju vrlo oštro te divljač mogu držati dugo u mjestu (Pikec, 2017.).

#### *1.1.13. Istarski kratkodlaki gonič*

FCI klasifikacija:

- Skupina 6. Goniči, krvosljednici i srodne pasmine
- Sekcija 1. Goniči
- 1.2. Srednje veliki goniči (s radnim ispitom)

Standard: 151 /29.05.2015./

Zemlja porijekla: Hrvatska

Datum standarda: 15. siječnja 1973.

Istarski kratkodlaki gonič je pas porijeklom iz Hrvatske. Upotrebljava se kao izvrstan gonič, osobito za lov na zeca i lisicu. Može se koristiti i kao krvosljednik. Njegova konstitucija je prikladna za prostrane otvorene lovačke terene Istre (FCI, 2015.a). Istarski kratkodlaki i oštrodlaki goniči ime su dobili po poluotoku Istri, koji je sastavni dio Republike Hrvatske, a nalazi se na sjeverozapadnom dijelu jadranskog mora između tršćanskog i riječkog zaljeva, a svojim nazivom po zemljopisnom porijeklu još jednom dokazuju da su vrijedan dio, ne samo naše prirode, već i povijesti i kulture (Pasarić, 2018.). Prema FCI klasifikaciji pripada u FCI Grupu 6. Goniči, krvosljednici i srodne pasmine, Sekcija 1. Goniči, 1.2. Srednje veliki goniči, s radnim ispitom, Standard 151/29.05.2015./, zemlja porijekla: Hrvatska, datum standarda: 15. siječanj 1973. Danas se istarskog goniča često može susresti u Istri i okolnim područjima. Osnovne proporcije ove pasmine su sljedeće: visina grebena je 44- 56 cm, idealna visina za mužjake je 50 cm, idealna visina za ženke je 48 cm, a idealna težina je oko 18 kg za odraslog psa (FCI, 2015. a).



**Slika 2. Istarski kratkodlaki gonič (Izvor: <http://www.lovac.info>, 2007.)**

#### *1.1.13.1. Standard pasmine*

##### **Vanjski izgled pasmine**

Istarski kratkodlaki gonič je pas otmjenog izgleda, sa žuto-narančastim oznakama na snježno-bijelom krznu. Dlaka mu je kratka i fina, glava duga, uska i suha, tijelo gipko, rep tanak, blago sabljastog oblika. Glasa se s velikom ustrajnošću, uglavnom visokim i daleko čujnim lavežom. Što se tiče važnih proporcija, duljina tijela smije biti veća od visine grebena za najviše 10%.

Fizički izgled je karakterističan. Duljina glave iznosi 20-24 cm. Čelo ne posjeduje nabore. Lubanja gledana sa strane ima izražen zatiljni greben, a čelo blago zaobljeno, s blagim prijelazom prema nosnom hrptu. Lubanja gledana odozgo ima duguljasto čelo, prilično usko, s vidljivom čeonom brazdom. Stop je blag, nije strm. Predio lica ima crnu ili barem smeđu njušku. Nosnice su dobro otvorene. Gubica je duga, u korijenu široka, sužuje se prema nosu. Nosni hrbat je ravan. Zubi su snažni s pravilnim i potpunim škarastim zubalom. Oči su ovalne, ni upale ni isturene. Šarenica je što je moguće tamnija. Očni kapci su crni ili smeđi. Pogled je bistar i izražajan. Uši su tanke, nasadene nešto više od vodoravne linije očiju. Prema vrhu se ponešto sužavaju. Smatraju se dugima kada, povučene duž nosnog hrpta prema naprijed, dopiru do očnjaka. Vrlo dugima se smatraju ako dopiru dalje od očnjaka. Prema standardu moraju biti barem poluduge i dopirati do obrvnih lukova. Gornja linija vrata je u predjelu potiljka blago zaobljena. Korijen glave vidljiv je iza zatiljnog grebena, koso prelazi u trup. Njegova duljina od zatiljnog grebena do grebena iznosi između 15 i 20 cm. Koža je napeta, bez podvoljka ili nabora. Gornja linija tijela se od grebena do sapi spušta blago. Leđa su ravna, široka i mišićava. Slabine su široke i kratke. Sapi su duge i široke, vodoravne ili blago padajuće. Kod ženki su nešto dulje nego kod mužjaka.

Visina sapi je za otprilike jedan prst manja od visine grebena. Kukovi su jedva vidljivi. Prsa su duboka i dopiru barem do laktova. Normalno je da opseg prsa bude za 12 cm veći od visine grebena. Rebra su zaobljena. Pretprsje je dobro razvijeno, ali vrh prsne kosti jedva je vidljiv. Trbuh ima donju liniju koja se od prsne kosti k preponama blago penje. Time je trbuh usukan. Rep je pri korijenu debeo, a sužuje se prema vrhu. Pas izgleda otmjenije što se rep više sužuje. Visoko je nasaden, srednje duljine, ne dopire mnogo dalje od skočnog zgloba. Time rep tvori blagi luk prema gore. Prednji udovi su građeni tako da je lopatica duga, nakošena, mišićava i dobro pričvršćena za prsa. Laktovi nisu zakrenuti ni prema unutra ni prema van. Podlaktica je apsolutno uspravna, mišićava. Zglob došaplja je teško odvojiv od podlaktice.

Došaplje je strmo i kratko. Može biti blago koso postavljeno, ali kut s vertikalom smije iznositi maksimalno 10 °. Šape su više mačjeg, nego zečjeg izgleda, lagane, s tijesno priljubljenim prstima. Jastučići su zaobljeni i otporni. Nokti su snažni. Stražnji udovi su građeni tako da se gledano straga, natkoljenica, potkoljenica, tetiva skočnog zgloba i stražnje donožje nalaze u istoj liniji. Natkoljenica je kratka, široka i mišićava. Koljeno ima široku i visoko smještenu koljenu čašicu. Potkoljenica je duga, koso položena i mišićava. Skočni zglob je snažan. Došaplje je kratko, uspravno ili blago koso postavljeno, pri čemu kut s vertikalom smije iznositi najviše 10-20°. Šape izgledaju poput prednjih, samo su nešto dulje. Hod je vrlo elastičan, pravilan i slobodan. Koža je na cijelom tijelu dobro priljubljena, gipka, bez nabora i crvenkaste boje. Krzno ima kratku, tanku, gustu i sjajnu dlaku. Katkad je nešto dulja na stražnjoj strani natkoljenice i na donjoj strani repa. Temeljna boja dlake je snježnobijela. Normalno je da su uši narančaste. Narančasta boja se proteže od korijena ušiju s obje strane preko čela do visine očiju, što glavi pridaje karakterističan izraz s maskom. Govori se o zvijezdi kada se gore na čelu nalazi veća ili manja oznaka jednake boje. Uši mogu biti posute i malim žuto-narančastim mrljama, što je naročito cijenjeno i smatra se znakom čistokrvnosti. Više ili manje prostrane žuto-narančaste oznake, u obliku točki ili malih pruga, mogu se nalaziti bilo gdje na tijelu, međutim najčešće u predjelu korijena repa. One ne smiju nikada biti toliko brojne da dominiraju nad bijelom temeljnom bojom. Boja oznaka treba biti jasna, ne blijeda niti tamna, ili možda smeđa, što bi govorilo u prilog nečistokrvnosti. Postojanje treće boje apsolutno je nepoželjno, čak i ako je samo nekoliko dlaka tako obojeno. Krzno može biti i jednobojno bijelo, bez oznaka (FCI, 2015. a).

## Temperament psa i korištenje pasmine

Istarski kratkodlaki gonič je ponašanjem blagog i mirnog karaktera, poslušan i vrlo privržen svojem gospodararu. Živahan je i strastven lovac (FCI, 2015. a). Inteligentan je pas koji se lako obučava za lov, ustrajan je gonič, pogotovo za lov na zečeve, lisice i divlje svinje. Glasa se vrlo ustrajno jakim i visokim lavežom koji se daleko čuje. Izuzetno je pogodan za lov na oštroukamenitom (krškom) terenu, ali i na svim drugim lovnim terenima (Pasarić, 2018.). Ovi psi stvarani su na krškim predjelima Istre gdje su ima kamen i visoke temperature otežavali upijanje mirisa tragova životinja, no zbog svog izuzetnog njuha to ih nije sprječavalo u pronalaženju divljači. Glavna namjena ove pasmine je lov na zeca, kunića, lisice te ostalu sitnu divljač. Gonjenje divljači u prosjeku traje vrlo kratko, ali je efikasno i detaljno prelaze svaki dio terena. U novije vrijeme koriste se i u lovovima na divlje svinje te na krvnom tragu (uz položeni ispit). Zbog svog zvonolikog glasa i tonaliteta savršeno daju do znanja lovcima o kojoj se divljači rada kada gone (Pikec, 2017.).

### *1.1.14. Posavski gonič*

FCI klasifikacija:

- Skupina 6. Goniči, krvosljednici i srodne pasmine
- Sekcija 1. Goniči
- 1.2. Srednje veliki goniči (s radnim ispitom)

Standard: 154 /29.05.2015./

Zemlja porijekla: Hrvatska

Datum standarda: 19. siječnja 1973.

Posavski gonič svoje ime nosi po području u kojem je nastao, Posavini, čime dokazuje da je vrijedan dio naše baštine i kulture. Posavina je područje nizinskog toka rijeke Save, od utoka Sutle pa sve do ušća Save u Dunav (Pasarić, 2018.). Posavski gonič je pas porijeklom iz Hrvatske. To je naša autohtona pasmina. Datum standarda je 19. siječnja 1973. godine. Upotrebljava se kao dobar, vrlo otporan gonič, naročito za lov na zeca i lisicu. Može se upotrebljavati i kao krvosljednik. Njegova čvrsta konstitucija pogodna je za lov u prostranim šumskim područjima Posavine s mnogo šiblja.

Prema FCI klasifikaciji pripada u FCI Grupu 6. Goniči, krvosljednici i srodne pasmine, Sekcija 1. Goniči, 1.2. Srednje veliki goniči, s radnim ispitom, Standard 154/29.05.2015./, zemlja porijekla: Hrvatska, datum standarda: 19. siječanj 1973. godine. Osnovne proporcije ove pasmine su sljedeće: visina grebena je 46-58 cm, idealna veličina za mužjake je 50 cm, a idealna veličina za ženke je 48 cm (FCI, 2015. b).



**Slika 3. Posavski gonič (Izvor: <http://www.lovac.info>, 2007.)**

#### *1.1.14.1. Standard pasmine*

##### **Vanjski izgled pasmine**

Opći izgled ove pasmine pasa je specifičan. Posavski gonič je čvrst pas srednjih proporcija. Njegovo crveno, crvenkasto ili pšenično žuto krzno posjeduje na glavi, oko vrata, na prsima i dolje na udovima i na kraju repa bijele oznake. Glasa se visokim i daleko čujnim lavežom. Važna proporcija da je duljina tijela veća od visine grebena za 11-13%.

Glava je duga i uska, dužine 20-24 cm. Lubanja, gledano sa strane, ima blago zaobljeno čelo. Gledano odozgo, ovalnog je oblika i nije suviše široka. Čeona brazda i zatiljni greben su izraženi. Stop je vidljiv, ali nije jako izražen. Predio lica ima široku, crnu, crnkastu ili tamnosmeđu njušku. Nosni hrbat, sa strane gledano, smije biti blago zaobljen. Gubica je prilično duga, u svojoj cijeloj duljini ravnomjerno razvijena. Usne su srednje debljine i napete. Gornja usna blago prekriva donju. Kut usana dobro je zatvoren. Pigmentacija usana je tamna ili crna. Zubi su snažni. Zubalo je potpuno i pravilno škarasto. Oči su velike, s dobro priljubljenim očnim kopcima. Šarenica je tamne boje. Pogled je bistar. Uši su viseće, dobro priljubljene uz obraze, plosnate, tanke i na vrhu zaokružene. Povučene prema naprijed duž nosnog hrpta, uši dopiru do kuta usana.

Vrat, gledano sa strane, ima blago zaobljenu gornju liniju. Koso je položen, srednje duljine i mišićav. Koža na vratu je napeta.

Tijelo ima ravnu gornju liniju, izražen greben i duga leđa. Slabine su srednje duljine, široke, mišićave, snažne i dobro nasadene na sapi. Sapi su mišićave, blago zaokružene, umjereno padajuće. Kukovi su jedva vidljivi. Prsa su duga, široka i duboka. Rebra su zaobljena. Pretprsje je srednje široko. Vrh prsne kosti nije jako izražen. Trbuh je usukan, trbušne slabine su slabo razvijene. Rep se nalazi u nastavku gornje leđne linije. U korijenu je debeo, srednje duljine, dopire najviše do skočnog zgloba. Nošen je sabljasto. Bujno je odlakan. Četkast rep s duljom dlakom na donjoj strani je dozvoljen. Prednji udovi imaju snažnu koštanu strukturu. Sprijeda gledano su široki, ravni i uspravni. Gledano sa strane, od gore prema dolje su blago nagnuti prema naprijed. Ramena su s koso položenom lopaticom, koja je duga, mišićava i dobro pričvršćena uz prsa. Nadlaktica je snažna i mišićava. Lakat nije zakrenut prema van, niti priljubljen uz prsa. Podlaktica je uspravna. Zglob došaplja je umjereno izražen. Došaplje je kratko, vrlo blago povijeno. Šape imaju tijesno priljubljene prste, prije su mačje nego zečje. Jastučići na tabanu i prstima su otporni i elastični. Nokti su snažni, poželjno pigmentirani. Stražnji udovi su sa strane gledano, od gore prema dolje blago nagnuti prema naprijed. Natkoljenica je srednje duljine, široka i mišićava. Koljeno je široko. Potkoljenica je dulja od natkoljenice, koso položena. Skočni zglob je snažan. Došaplje je uspravno i srednje duljine. Ako su prisutni, čaporci moraju biti odstranjeni. Stražnje šape su izgledom jednake kao i prednje. Hod je pravilan, tečan i umjereno živahan. Koža je elastična, na cijelom tijelu dobro priljubljena, bez nabora. Krzno ima dlaku duljine 2-3 cm koja je kruta, gusta i ravna. Trbuh je dobro odlakan. Na donjoj strani trbuha, na stražnjoj strani udova i na donjoj strani repa dlaka je nešto dulja. Boja dlake je pšenično crvenkasta u svim mogućim nijansama, nikada kestenjasto ili čokoladno smeđa. Bijele oznake poprimaju na glavi oblik zvijezde, lise ili prostranije bijele mrlje. Na vratu one tvore ili ovratnik ili oznaku na donjoj strani. Daljnje bijele oznake nalaze se na pretprsju, ispod trbuha, dolje na udovima i na vrhu repa. Bijele oznake poželjne su na svim opisanim mjestima, ali ne smiju nikako zauzimati više od jedne trećine cjelokupne površine tijela (FCI, 2015. b).

### **Temperament psa i korištenje pasmine**

Posavski gonič je poslušan pas i veoma privržen svom gospodaru. Posjeduje izvrsne karakterne osobine uz umjereno živahan temperament.



Strastven je lovac (FCI, 2015. b). Prijateljski je nastrojen i jako privržen svom vlasniku te izražene inteligencije. Sve to ga čini lakim za obučavanje i rad. Koristi se za lov na zeca, lisicu, a u posljednjih par desetljeća i na divlju svinju, pri čijem lovu se pokazao vrlo dobar. On je brz i okretan pas koji prilično uporno i glasno goni, što je odlično za lovce jer se njegov visoki lavež daleko čuje. Može se upotrebljavati i kao krvosljednik. Iako je to pas koji dolazi s ravničarskog područja, svojom čvrstom građom idealan je za pretraživanje terena s gustim grmljem i mnoštvom šiblja. Posavski gonič se dobro adaptirao i na krške-kamenite terene, kao i na gorska šumovita područja. Pri pretraživanju koristi se isključivo njuhom, koji mu je odlično razvijen (Pasarić, 2018.).

## **1.2. Cilj istraživanja**

Predviđeno istraživanje temelji se na hipotezi da trenirani psi određenog genotipa, nakon intenzivne fizičke aktivnosti, pokazuju znakove manjeg oksidacijskog stresa, u uvjetima zadovoljavajuće hranidbe, nego psi istoga genotipa koji nisu utrenirani.

U tu svrhu postavili smo sljedeće ciljeve:

1. Utvrditi antioksidacijski status u krvi pasa u mirovanju određujući enzimске i neenzimske pokazatelje.
2. Utvrditi antioksidacijski status u krvi pasa odmah nakon intenzivne fizičke aktivnosti.
3. Procijeniti učinak utreniranosti, dobi i spola na promatrane pokazatelje.

## 2. MATERIJALI I METODE RADA

### 2.1. Opći podaci o skupinama lovačkih pasmina pasa u istraživanju

Istraživanje razine oksidacijskog stresa provodilo se u dvije skupine lovačkih pasmina pasa (kratkonogi goniči i dugonogi goniči). U skupini kratkonogih goniča u pokusu su bili psi pasmine alpski brak jazavčar. U skupini dugonogih goniča bili su istarski kratkodlaki gonič i posavski gonič. Prema učestalosti sudjelovanja u lovu (kao mjera utreniranosti pasa) psi su bili podijeljeni u dvije skupine: na trenirane pse (n=22) i netrenirane pse (n=9). U trenirane smo ubrojili one pse koji su išli tri puta tjedno u lov, a netrenirani psi jednom mjesečno. Prema spolu u istraživanju je sudjelovalo 20 mužjaka i 11 ženki. Prema dobi podijelili smo pse na mlade (od 7 mjeseci do 2 godine) i odrasle (od 2 do 9 godina). Uzorci krvi 31 psa uzeti su venepunkcijom *v. cephalice* 24 sata prije intenzivnog fizičkog napora (uzeti uzorci krvi pasa u kućama njihovih vlasnika) i 5 minuta nakon intenzivnog fizičkog napora tj. sudjelovanja u višesatnom lovu na divlje svinje. Krv je uzorkovana u epruvete volumena 4 mL (Becton Dickinson, Kanada) s podtlakom i antikoagulansom (K<sub>3</sub>EDTA za hematološke analize i Li-heparin za biokemijske analize). Krv je dostavljena u laboratorij u roku 2 sata te su odmah napravljene hematološke analize, a uzorci krvi sa Li-heparinom centrifugirani su pri 1500 g, te je plazma odvojena i smrznuta na -80°C do daljnjih analiza.

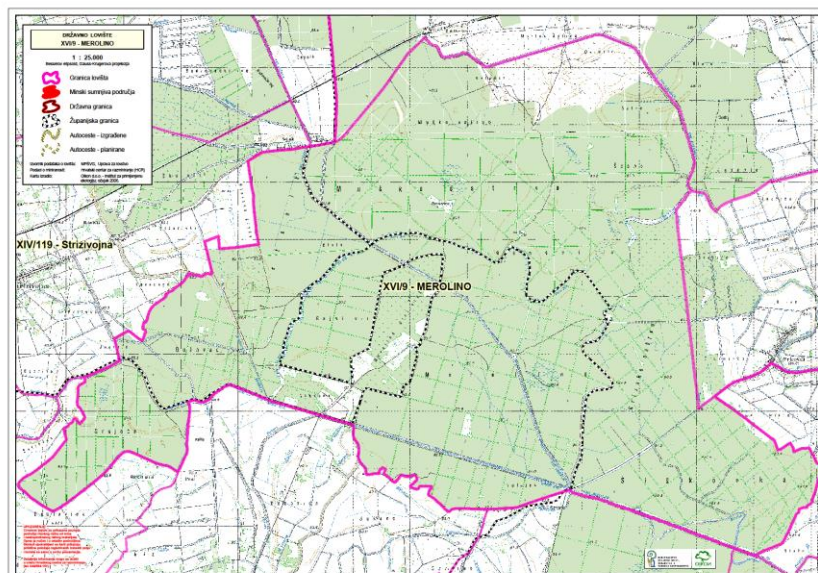
### 2.2. Opći podaci o području istraživanju

Lov na divlje svinje sa lovačkim pasminama pasa bio je u lovištima „Kujnjak“, „Merolino“ i „Ludoš“. Skupni lov na divlje svinje prigonom pomoću lovačkih pasmina pasa bio je u siječnju 2015. godine uz vanjsku temperaturu zraka od 10 °C u nizinskom kraju. Lov je trajao 8 sati intenzivnog trčanja lovnih pasmina pasa za divljim svinjama.



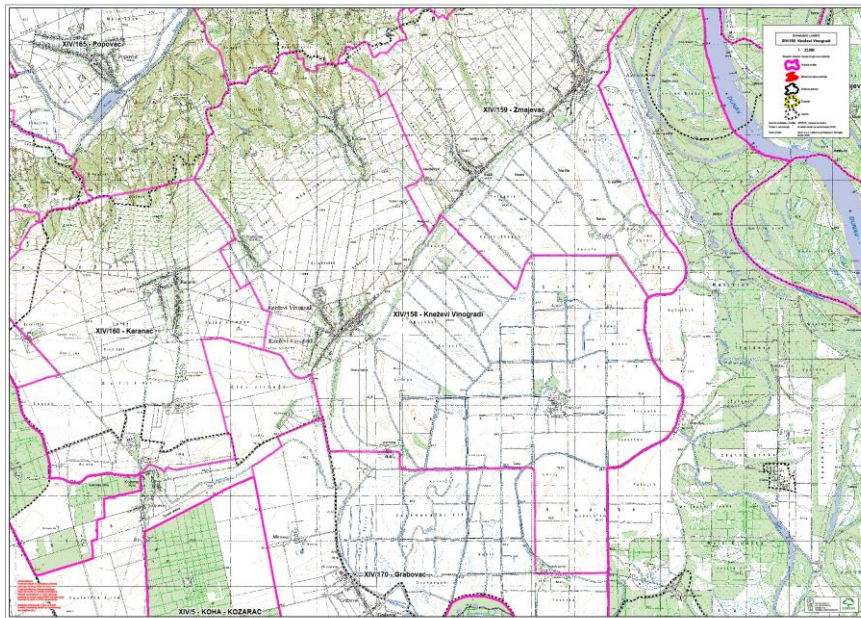
**Slika 4. Zemljovid zatvorenog lovišta i uzgajališta divljači XIV/6 „Kujnjak“ u sastavu državnog otvorenog lovišta „Breznica“ (Izvor: MPŠVG, Uprava za lovstvo, 2006.)**

Lovište „Kujnjak“ u sastavu je državnog lovišta „Breznica“, koji je otvorenog tipa i ukupne površine 8660 ha. „Kujnjak“ je uzgajalište divljači zatvorenog tipa, a poznato je po bogatstvu krupne i sitne divljači. Lov na divlju svinju, za potrebe našeg istraživanja, bio je na području Kondrića i Trnave kod Đakova.



**Slika 5. Zemljovid državnog otvorenog lovišta XVI/9 „Merolino“ (Izvor: MPŠVG, Uprava za lovstvo, 2006.)**

Državno lovište „Merolino“, proteže se na području Osječko-baranjske, Vukovarsko-srijemske i Brodsko-posavske županije, te je lovište otvorenog tipa ukupne površine 6342 ha.



**Slika 6. Zemljovid županijskog lovišta XIV/160 „Karanac“ sa prikazom lovišta „Ludoš“ u sastavu državnog lovišta „Podunavlje-Podravlje“ (Izvor: MPŠVG, Uprava za lovstvo, 2006.)**

„Ludoš“ je u sastavu državnog lovišta „Podunavlje – Podravlje“, ukupne površine 26810 ha. Državno lovište „Podunavlje – Podravlje“ predstavlja jedno od najvažnijih europskih lovišta i poznato je po ritskim šumama uz Dravu i Dunav te po bogatstvu krupne divljači, osobito divlje svinje. Lov na divlje svinje prigonom sa lovnim pasminama pasa jedan je velikih izazova lova zbog činjenice da je divlja svinja snažna i otporna životinja koja može ugroziti sigurnost čovjeka. Obučenosť pasa samo za lov divljih svinja nužna je kako oni ne bi uznemiravali druge vrste divljači.

### **2.3. Laboratorijska istraživanja**

U ovom istraživanju određivani su različiti pokazatelji oksidacijskog stanja tj. antioksidacijskog kapaciteta kao što su hematološka analiza krvi, biokemijska analiza krvi i proteini akutne faze. Sve biokemijske pretrage rađene su iz krvne plazme na biokemijskom analizatoru Abbott Architect c8000, SAD. Hematološka analiza krvi uključivala je kompletnu krvnu sliku (KKS) koja je rađena automatskim brojačem Sysmex 100 Pochi-Vet, Japan, te diferencijalnu krvnu sliku (DKS) određenu pomoću svjetlosnog mikroskopa (Olympus BX40, Njemačka), na uzorcima obojanim po Pappenheimu pri povećanju od 1000x puta uz korištenje imerzionog objektiva povećanja 100x.

Biokemijska analiza krvi napravljena je pomoću automatskog biokemijskog analizatora (Beckman Coulter AU 400, Njemačka), a uključivala je određivanje preventivnih neenzimskih antioksidansa i nekih metabolita kao što su glukoza, ureja, bilirubin, ukupni proteini, globulini, albumini, kolesterol, HDL kolesterol (lipoproteini visoke gustoće; HDL, engl. *high density lipoproteins*), LDL kolesterol (lipoproteini niske gustoće (LDL; engl. *low density lipoproteins*), trigliceridi, natrij, kalij, kloridi, kalcij, željezo, TIBC, UIBC, feritin i C-reaktivni protein (CRP) te enzima AST (aspartat- aminotransferaza; EC 2.6.1.1), ALT (alanin-aminotransferaza; EC 2.6.1.2), GGT ( $\gamma$ -glutamilttransferaza; EC 2.3.2.2), ALP (alkalna fosfataza; EC 3.1.3.1) i CK-MB (kreatin- kinaza- izoenzim MB; EC 2.7.3.2.). Biokemijska analiza krvi uključivala je i određivanje enzimskih antioksidansa kao što su GPx (glutation peroksidaza; EC 1.11.1.9), SOD (superoksid dismutaza; EC 1.15.1.1) kinetičkom metodom korištenjem komercijalnih kitova (Randox Laboratories, Crumlin, UK) prema uputama proizvođača, na biokemijskom analizatoru (Beckman Coulter AU 400, Njemačka). Katalaza (CAT; 1.11.1.6) je određivana pomoću UV-1280 spektrofotometra (Shimadzu, Njemačka) prema Hadwan (2018.)

Postupak bojanja po Pappenheimu pomoću boja May-Grunwald i Giemsa bio je takav da su krvni razmazi bili prelivevi May- Grünwald otopinom u trajanju od 5 minuta, a zatim isprani destiliranom vodom. Nakon toga je napravljena otopina Giemsa-e sa destiliranom vodom u omjeru 1:10. Potom su krvni razmazi prelivevi pripremljenom otopinom u trajanju od 15 minuta, a zatim isprani destiliranom vodom. Obojani razmazi su sušeni na zraku te dodatno (s donje strane) posušeni staničevinom.

#### **2.4. Statistička obrada podataka**

Rezultati su obrađeni pomoću statističkog programskog paketa Statistica, verzija 13, TIBCO Software Inc. (2018.). Razlike između skupina testirane su GLM procedurom za ponavljana mjerenja (*repeated measures*). Kod utvrđenog postojanja interakcije korišten je Fisherov-post-hock test.

### 3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

#### 3.1. Hematološki pokazatelji

Nakon intenzivne fizičke aktivnosti bio je povećan broj leukocita, vrijednost MCHC, kao i udio segmentiranih i neselementiranih neutrofila u krvi pasa u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 1, Grafikon 1, 2, 3, 4). U mirovanju je bio povećan udio limfocita i eozinofila u krvi pasa u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 1, Grafikon 5, 6). U ovih pokazatelja nije utvrđen utjecaj treniranosti. Hematološkom pretragom utvrdili smo da trenirani psi nakon intenzivne fizičke aktivnosti imaju značajno ( $P < 0,05$ ) veću vrijednost MCHC u odnosu na trenirane pse u mirovanju. Vrijednost MCHC nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na pse u mirovanju, neovisno o utreniranosti (Tablica 1).

**Tablica 1. Prosječne vrijednosti kompletne krvne slike u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost**

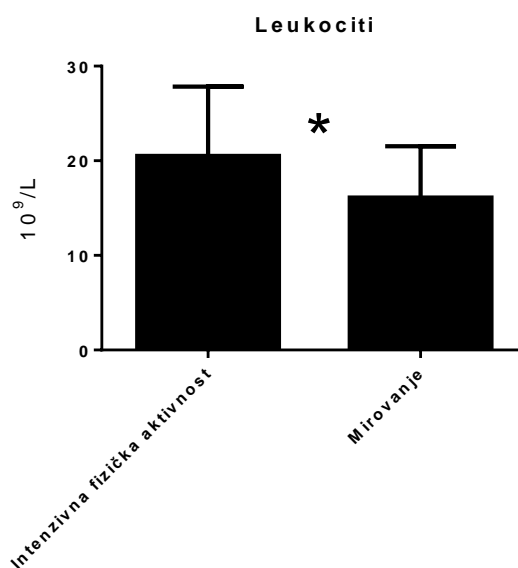
Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	Trenirani $\bar{x}$	Netrenirani $\bar{x}$	Trenirani $\bar{x}$	Netrenirani $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P treniranost	P interakcija AXT
Leukociti x $10^9/L$	16,46	15,14	21,13	19,25	0,84	0,01	0,36	0,49
Eritrociti x $10^{12}/L$	7,66	7,46	7,49	8,38	0,15	0,74	0,46	0,17
Hemoglobin, g/L	169,59	167,60	168,04	190,70	3,45	0,92	0,29	0,19
Hematokrit, L/L	0,49	0,49	0,47	0,53	0,01	0,48	0,24	0,13
MCV, fL	64,26	65,86	63,81	64,01	0,41	0,17	0,51	0,37
MCH, pg	22,18	22,46	22,46	22,74	0,16	0,08	0,47	0,55
MCHC, g/L	345,27 <sup>b</sup>	341,00 <sup>b</sup>	352,13 <sup>a</sup>	355,30 <sup>a</sup>	1,28	0,001	0,61	0,03
Trombociti x $10^9/L$	304,86	327,10	332,22	258,70	14,28	0,43	0,64	0,17
Neutrofili, seg, %	52,77	49,3	68,59	70,3	1,60	0,001	0,53	0,63
Neutrofili, neseg, %	5,82	6,2	10,73	8,7	0,65	0,001	0,96	0,22
Limfociti, %	22,23	24,5	11,59	11,4	1,12	0,001	0,71	0,92
Monociti, %	6,55	6,3	5,59	4,5	0,36	0,08	0,68	0,55
Eozinofili, %	12,14	13,2	3,5	4,6	0,90	0,001	0,61	0,70
Bazofili, %	0,5	0,5	0,01	0,4	0,08	0,08	0,52	0,37

MCV - prosječni volumen eritrocita; MCH - prosječna količina hemoglobina u eritrocitu; MCHC - prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu; Neutrofili, seg - segmentirani neutrofili;

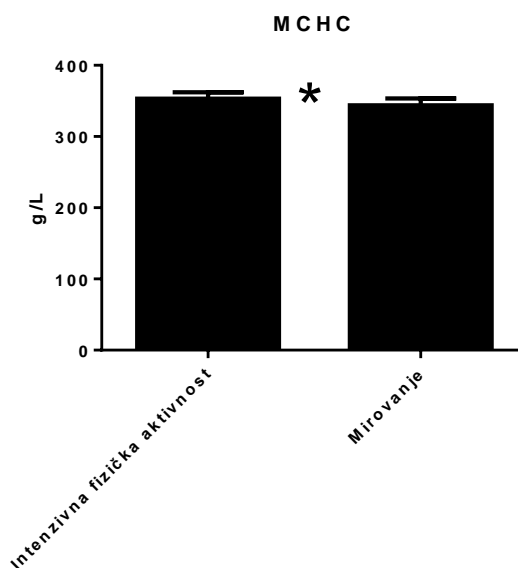
Neutrofili, neseg - neselementirani neutrofili

\*P interakcija AXT /aktivnost x treniranost/

<sup>a, b</sup> različiti znakovi znače statistički značajno različito ( $P < 0,05$ )

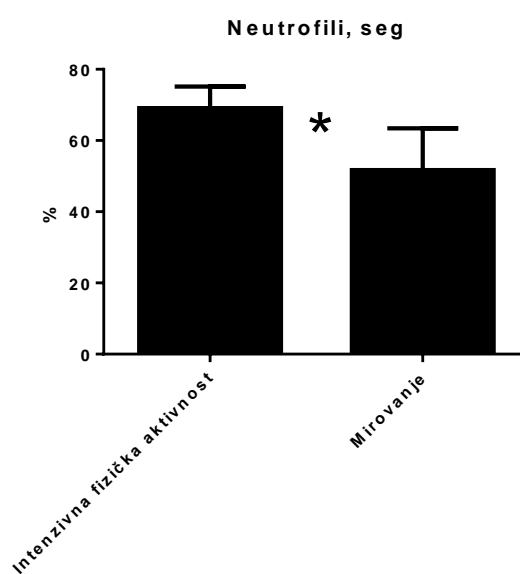


**Grafikon 1. Broj leukocita u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**

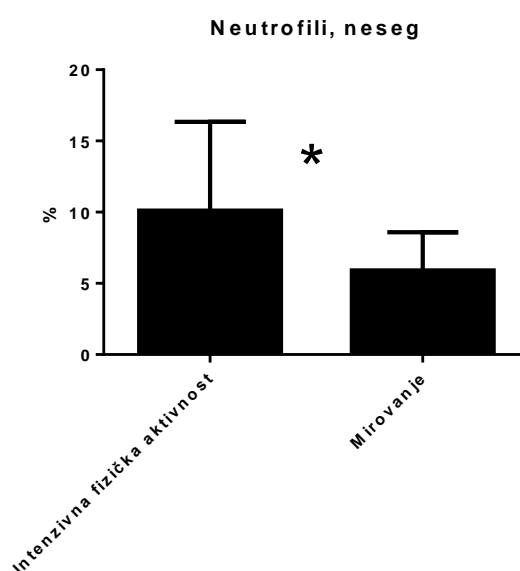


**Grafikon 2. Vrijednost prosječne koncentracije hemoglobina u eritocitu (MCHC) u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**

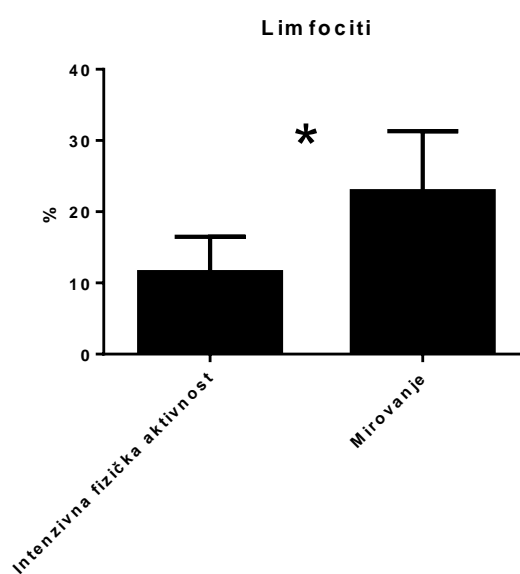




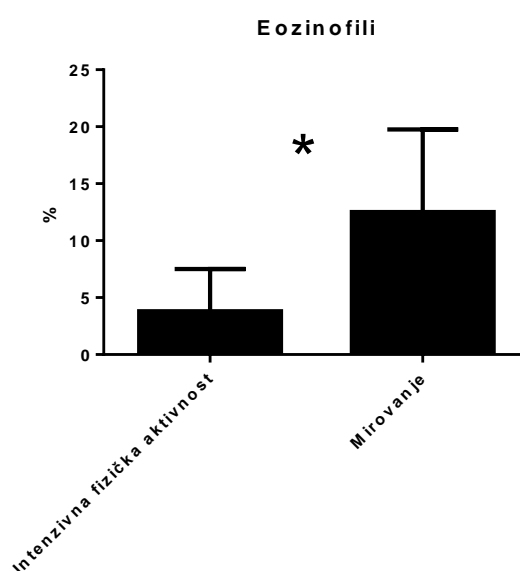
**Grafikon 3. Udio segmentiranih neutrofila u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**



**Grafikon 4. Udio nesegmentiranih neutrofila u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**



**Grafikon 5. Udio limfocita u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti**



**Grafikon 6. Udio eozinofila u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti**

**Tablica 2. Prosječne vrijednosti kompletne krvne slike u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na dob**

Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	Mladi $\bar{x}$	Odrasli $\bar{x}$	Mladi $\bar{x}$	Odrasli $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P dob	P interakcija AXD
Leukociti x 10 <sup>9</sup> /L	16,06	16,03	24,15	18,07	0,849	0,0112	0,07	0,08
Eritrociti x 10 <sup>12</sup> /L	7,68	7,54	7,97	7,63	0,152	0,74	0,83	0,77
Hemoglobin, g/L	171,30	167,36	177,30	173,63	3,45	0,92	0,83	0,98
Hematokrit, L/L	0,49	0,48	0,50	0,48	0,01	0,48	0,53	0,87
MCV, fL	65,10	64,53	63,61	64,05	0,412	0,17	0,97	0,16
MCH, pg	22,30	22,24 <sup>b</sup>	22,20	22,79 <sup>a</sup>	0,16	0,08	0,43	0,0202
MCHC, g/L	342,53	344,89	349,00	355,97	1,285	0,0001	0,0484	0,15
Trombociti x 10 <sup>9</sup> /L	284,46	330,52	292,69	320,57	14,282	0,43	0,62	0,29
Neutrofili, seg, %	46,62	55,16	68,46	69,58	1,60	0,0001	0,28	0,31
Neutrofili, neseg, %	5,15	6,47	9,46	10,53	0,65	0,0001	0,20	0,85
Limfociti, %	26,85	20,26	11,69	11,42	1,12	0,0001	0,19	0,43
Monociti, %	6,31	6,58	4,77	5,58	0,36	0,08	0,25	0,96
Eozinofili, %	14,77	10,89	5,38	2,79	0,90	0,0001	0,0336	0,44
Bazofili, %	0,31	0,63	0,15	0,11	0,08	0,08	0,49	0,51

MCV - prosječni volumen eritrocita; MCH - prosječna količina hemoglobina u eritrocitu; MCHC - prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu; Neutrofili, seg - segmentirani neutrofili; Neutrofili, neseg - neselementirani neutrofili

\*P interakcija AXD /aktivnost x dob/

<sup>a, b</sup> različiti znakovi znače statistički značajno različito ( $P < 0,05$ )

Utvrđene su razlike u broju leukocita nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju. Odmah nakon intenzivne fizičke aktivnosti mladi psi imali su veći broj leukocita, ali razlike nisu bile značajne. Prosječna količina hemoglobina u eritrocitu (MCH) odraslih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na odrasle pse u mirovanju (Tablica 2), dok u mladim pasa nisu utvrđene razlike.

Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC) u krvi odraslih pasa bila je veća u odnosu na mlade pse. Udio eozinofila u krvi mladih pasa veći je u odnosu na odrasle pse nakon aktivnosti i u mirovanju (Tablica 2)

**Tablica 3. Prosječne vrijednosti kompletne krvne slike u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na spol**

Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	Mužjaci $\bar{x}$	Ženke $\bar{x}$	Mužjaci $\bar{x}$	Ženke $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P spol	P interakcija AXS
Leukociti x 10 <sup>9</sup> /L	15,18	17,70	19,46	22,60	0,849	0,0112	0,16	0,88
Eritrociti x 10 <sup>12</sup> /L	7,71	7,37	8,02	7,30	0,152	0,74	0,15	0,65
Hemoglobin, g/L	171,14	164,81	179,47	166,81	3,45	0,92	0,25	0,86
Hematokrit, L/L	0,49	0,47	0,50	0,47	0,01	0,48	0,26	0,86
MCV, fL	64,63	65,01	63,17	65,21	0,412	0,17	0,49	0,19
MCH, pg	22,22	22,36	22,41	22,82	0,16	0,08	0,60	0,35
MCHC, g/L	343,85	344,09	354,57	350,36	1,285	0,0001	0,96	0,51
Trombociti x 10 <sup>9</sup> /L	299,81	334,72	313,81	300,54	14,282	0,43	0,78	0,52
Neutrofili, seg, %	53,14	48,91	68,48	70,36	1,60	0,0001	0,85	0,36
Neutrofili, neseg, %	5,67	6,45	9,33	11,58	0,65	0,0001	0,34	0,97
Limfociti, %	22,00	24,73	12,62	9,45	1,12	0,0001	0,67	0,10
Monociti, %	6,52	6,36	5,19	5,36	0,36	0,08	0,78	0,65
Eozinofili, %	12,14	13,09	4,14	3,27	0,90	0,0001	0,44	0,99
Bazofili, %	0,52	0,45	0,19	0,01	0,08	0,08	0,23	0,87

MCV - prosječni volumen eritrocita; MCH - prosječna količina hemoglobina u eritocitu; MCHC - prosječna koncentracija hemoglobina u eritocitu; Neutrofili, seg - segmentirani neutrofili; Neutrofili, neseg - nesegmentirani neutrofili

\*P interakcija AXS /aktivnost x spol/

Kod prosječnih vrijednosti kompletne krvne slike u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na spol nisu uočene statistički značajne razlike (Tablica 3). Broj leukocita u krvi ženki nakon intenzivne fizičke aktivnosti bio je veći u odnosu na ženke i mužjake u mirovanju, kao i mužjake nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Udio segmentiranih neutrofila u krvi ženki nakon intenzivne fizičke aktivnosti veći je u odnosu na ženke i mužjake u mirovanju, kao i mužjake nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Udio nesegmentiranih neutrofila u krvi ženki nakon intenzivne fizičke aktivnosti veći je u odnosu na ženke i mužjake u mirovanju, kao i mužjake nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Udio limfocita u krvi mužjaka u mirovanju veći je u odnosu na mužjake i ženke nakon intenzivne fizičke aktivnosti.

Udio eozinofila u krvi mužjaka u mirovanju veći je u odnosu na mužjake i ženke nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Udio eozinofila u krvi ženki u mirovanju veći je u odnosu na ženke i mužjake nakon intenzivne fizičke aktivnosti.

Koncentracija hemoglobina u krvi mužjaka nakon intenzivne fizičke aktivnosti i mužjaka u mirovanju veća je u odnosu na koncentraciju u ženki nakon intenzivne fizičke aktivnosti i ženki u mirovanju (Tablica 3).

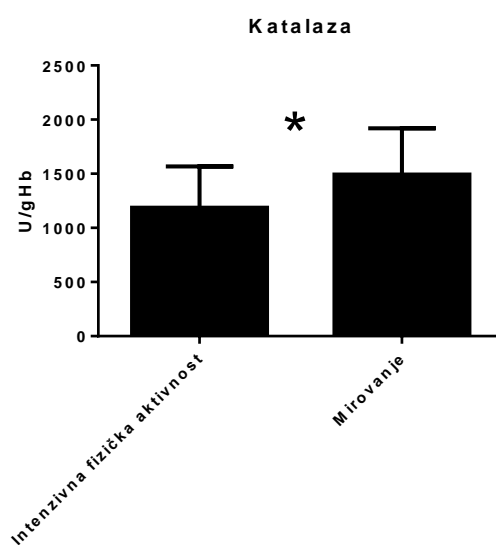
**Tablica 4. Prosječne vrijednosti enzimskih biomarkera prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost**

Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	T $\bar{x}$	N $\bar{x}$	T $\bar{x}$	N $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P treniranost	P interakcija AXT
CAT, U/gHb	1482,76	1514,75	1212,23	1129,60	53,75	0,001	0,43	0,95
SOD, U/gHb	0,0031	0,0032	0,0031	0,0028	22,60	0,77	0,97	0,18
GpX, U/gHb	675,28	681,44	637,32	571,10	22,91	0,38	0,73	0,28
AST, U/L	38,54	19,80	84,50	82,10	6,84	0,001	0,98	0,10
ALT, U/L	84,72 <sup>b</sup>	30,00 <sup>b</sup>	103,59 <sup>a</sup>	52,10 <sup>a</sup>	3,15	0,003	0,91	0,047
GGT, U/L	5,13	2,80	6,36	3,10	0,718	0,25	0,46	0,98
ALP, U/L	110,36 <sup>b</sup>	77,10	123,63 <sup>a</sup>	65,90 <sup>b</sup>	17,86	0,21	0,72	0,0237
CK - MB izoenzim, µg/L	216,79	153,20	106,01	97,67	11,72	0,001	0,23	0,35

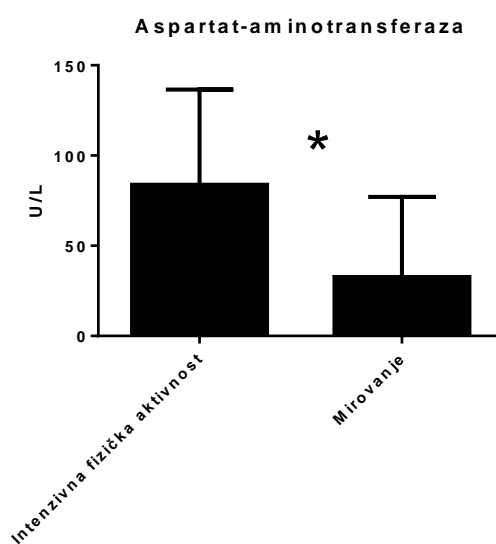
CAT – katalaza; SOD – superoksid dismutaza; GPx – glutation peroksidaza; AST – aspartat – aminotransferaza; ALT – alanin – aminotransferaza; GGT – gama – glutamiltransferaza; ALP – alkalna fosfataza; CK - MB izoenzim – kreatin – kinaza - MB izoenzim

\*P interakcija AXT /aktivnost x treniranost/

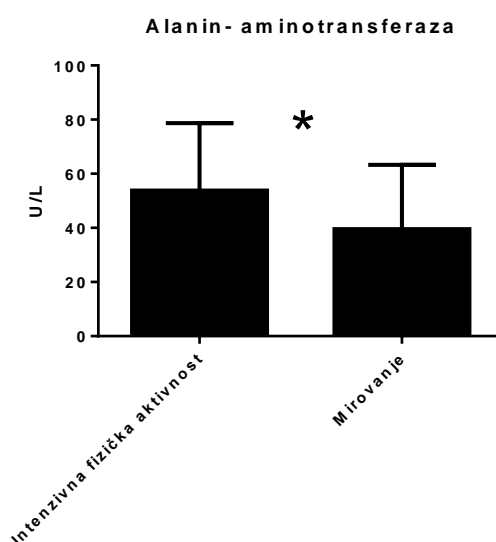
<sup>a,b</sup> različita slova znače statistički značajno različito ( $P < 0,05$ )



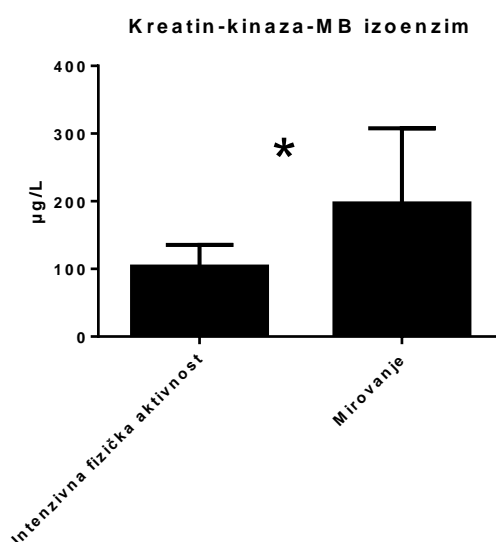
**Grafikon 7. Aktivnost katalaze u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti**



**Grafikon 8. Aktivnost aspartat – aminotransferaze u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**



**Grafikon 9. Aktivnost alanin - aminotransferaze u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**



**Grafikon 10. Aktivnost kreatin – kinaze - MB izoenzima u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti**

Prosječne vrijednosti aktivnosti biomarkera enzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost ukazuju da je aktivnost alanin - aminotransferaze u krvi treniranih i netreniranih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na trenirane pse u mirovanju.

Aktivnost alkalne fosfataze u krvi treniranih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na trenirane pse u mirovanju i netrenirane pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 4). Aktivnost katalaze u krvi pasa u mirovanju je veća u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 4, Grafikon 7). Aktivnost aspartat - aminotransferaze u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti veća je u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 4, Grafikon 8). Aktivnost alanin - aminotransferaze u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti veća je u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 4, Grafikon 9). Aktivnost kreatin – kinaze - MB izoenzima u krvi pasa u mirovanju veća je u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 4, Grafikon 10).

**Tablica 5. Prosječne vrijednosti biomarkera enzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na dob**

Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	Mladi $\bar{x}$	Odrasli $\bar{x}$	Mladi $\bar{x}$	Odrasli $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P dob	P interakcija AXD
CAT, U/gHb	1575,13	1436,39	1235,24	1152,99	53,75	0,0010	0,26	0,31
SOD, U/gHb	0,00271	0,0034	0,00308	0,00307	0,001	0,77	0,75	0,14
GPx, U/gHb	596,23	732,61	618,15	615,58	22,91	0,38	0,72	0,22
AST, U/L	42,92 <sup>b</sup>	25,68 <sup>b</sup>	75,30 <sup>a</sup>	89,52 <sup>a</sup>	6,842	0,001	0,43	0,0449
ALT, U/L	38,92	87,26	46,84	115,31	3,15	0,003	0,13	0,13
GGT, U/L	3,61	4,94	3,53	6,57	0,71	0,25	0,67	0,38
ALP, U/L	69,69	120,68	76,76	125,31	17,86	0,21	0,60	0,06
CK - MB izoenzim, $\mu\text{g/L}$	192,70	199,80	107,79	100,41	11,72	0,0012	0,90	0,81

CAT – katalaza; SOD – superoksid dismutaza; GPx – glutation peroksidaza; AST – aspartat – aminotransferaza; ALT – alanin – aminotransferaza; GGT – gama – glutamiltransferaza; ALP – alkalna fosfataza; CK - MB izoenzim – kreatin – kinaza - MB izoenzim

\*P interakcija A X D /aktivnost x dob/

<sup>a,b</sup> različita slova znače statistički značajno različito ( $P < 0,05$ )

Prosječne vrijednosti aktivnosti biomarkera enzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na dob ukazuju da je aktivnost aspartat - aminotransferaze u krvi mladih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na mlade pse u mirovanju.



Aktivnost aspartat - aminotransferaze u krvi odraslih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na odrasle pse u mirovanju (Tablica 5).

**Tablica 6. Prosječne vrijednosti biomarkera enzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na spol**

Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	Mušjaci $\bar{x}$	Ženke $\bar{x}$	Mušjaci $\bar{x}$	Ženke $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P spol	P interakcija AXS
CAT, U/gHb	1432,49 <sup>b</sup>	1607,81 <sup>b</sup>	1069,90 <sup>a</sup>	1408,82 <sup>b</sup>	53,758	0,0010	0,43	0,0494
SOD, U/gHb	0,0031	0,0030	0,0030	0,0031	22,600	0,77	0,87	0,90
GPx U/gHb	700,58	632,59	624,04	602,47	22,916	0,38	0,36	0,79
AST, U/L	36,61	25,18	80,14	90,63	6,842	0,0001	0,49	0,07
ALT, U/L	86,38	31,81	110,38	43,81	3,15224	0,0033	0,75	0,39
GGT, U/L	4,76	3,72	5,76	4,54	0,718	0,25	0,91	0,58
ALP, U/L	106,04	88,36	120,23 <sup>a</sup>	77,63 <sup>b</sup>	17,869	0,21	0,95	0,0289
CK-MB izoenzim, $\mu\text{g/L}$	214,70	162,97	103,74	102,77	11,722	0,0012	0,49	0,46

CAT – katalaza; SOD – superoksid dismutaza; GPx – glutation peroksidaza; AST – aspartat – aminotransferaza; ALT – alanin – aminotransferaza; GGT – gama – glutamiltransferaza; ALP – alkalna fosfataza; CK - MB izoenzim – kreatin – kinaza - MB izoenzim

\*P interakcija AXS /aktivnost x spol/

<sup>a,b</sup> različita slova znače statistički značajno različito ( $P < 0,05$ )

Prosječne vrijednosti aktivnosti biomarkera enzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na spol ukazuju da je aktivnost katalaze u krvi mužjaka pasa u mirovanju statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na mužjake pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Veća je i numerička vrijednost aktivnosti katalaze u krvi ženki pasa u mirovanju u odnosu na ženke nakon intenzivne fizičke aktivnosti.

Aktivnost alkalne fosfataze u krvi mužjaka pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na ženke pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 6).

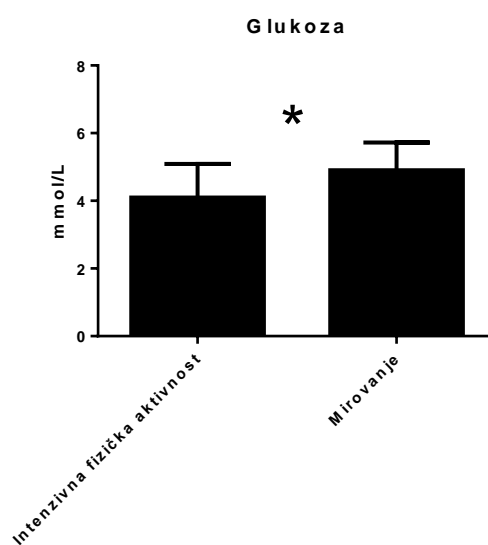
**Tablica 7. Prosječne vrijednosti biomarkera neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost**

Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	Trenirani $\bar{x}$	Netrenirani $\bar{x}$	Trenirani $\bar{x}$	Netrenirani $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P treniranost	P interakcija AXT
Glukoza, mmol/L	4,95	4,89	4,19	3,86	0,125	0,0009	0,29	0,143
Ureja, mmol/L	4,28	4,18	6,74	5,52	0,319	0,0003	0,63	0,51
Bilirubin, $\mu\text{mol/L}$	1,92	1,86	2,18	2,73	0,104	0,0002	0,36	0,08
Ukupni proteini, g/L	72,89	72,88	65,29	66,45	1,003	0,0001	0,48	0,27
Albumini, g/L	30,17	31,40	28,49	32,59	0,519	0,98	0,10	0,059
Globulini, g/L	45,46	41,18	36,80	33,96	1,205	0,0001	0,58	0,632
CRP, mg/L	0,12	0,10	0,12	0,11	0,005	0,89	0,59	0,70
Kolesterol, mmol/L	4,84	4,71	4,87	5,02	0,145	0,59	0,87	0,84
HDL kolesterol, mmol/L	3,27	3,28	2,71	2,87	0,082	0,0027	0,52	0,99
LDL kolesterol, mmol/L	1,20	1,06	1,83	1,86	0,079	0,0001	0,83	0,94
Trigliceridi, mmol/L	0,60	0,56	0,70	0,61	0,029	0,24	0,39	0,66
Natrij, mmol/L	145,09	143,30	142,13	149,40	2,35	0,60	0,82	0,67
Kalij, mmol/L	4,43	4,28	10,62	4,20	2,231	0,80	0,76	0,78
Kloridi, mmol/L	110,90	109,80	112,22	112,20	0,489	0,09	0,52	0,83
Kalcij, mmol/L	2,69	2,67	2,55	2,65	0,024	0,16	0,54	0,31
Željezo, $\mu\text{mol/L}$	35,66 <sup>B</sup>	29,68	28,76 <sup>A</sup>	37,76	1,559	0,77	0,58	0,0090
TIBC, $\mu\text{mol/L}$	66,30	65,87	64,34	71,42	1,25	0,42	0,76	0,19
UIBC, $\mu\text{mol/L}$	30,64	36,19	35,58	33,66	1,874	0,81	0,84	0,13
Feritin, $\mu\text{g/L}$	173,50	120,05	191,60	158,62	12,545	0,09	0,94	0,43

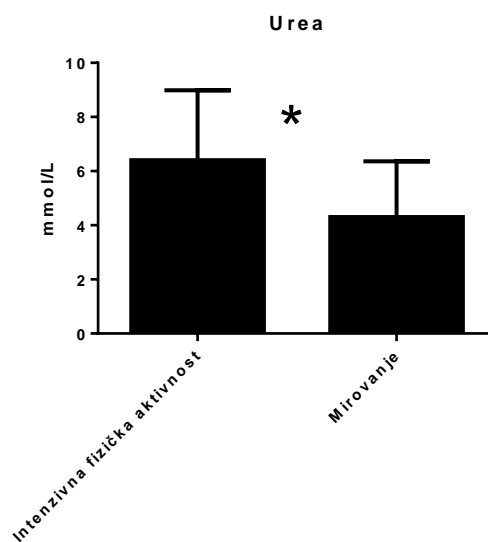
CRP – C - reaktivni protein; HDL kolesterol - lipoproteini visoke gustoće; LDL kolesterol - lipoproteini niske gustoće; TIBC - ukupni kapacitet vezanja željeza; UIBC - nezasićeni kapacitet vezanja željeza

\*P interakcija AXT /aktivnost x treniranost/

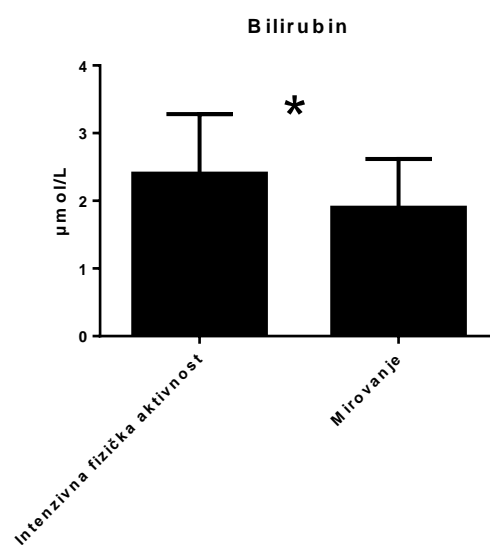
<sup>A, B</sup> različita slova znače statistički značajno različito ( $P < 0,01$ )



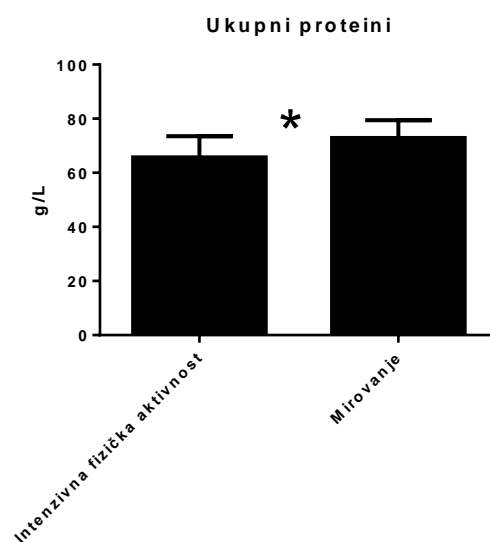
**Grafikon 11. Vrijednost glukoze u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti**



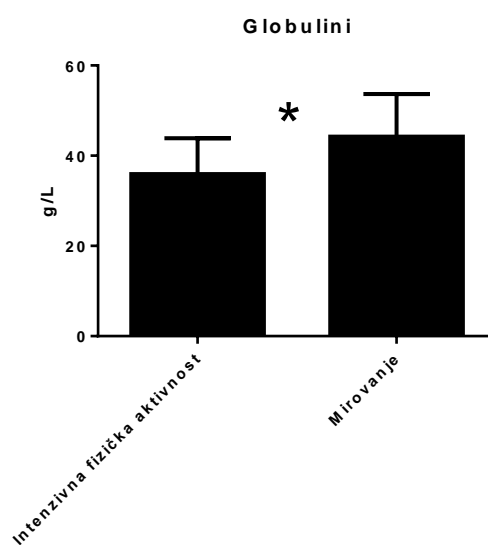
**Grafikon 12. Vrijednost ureje u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**



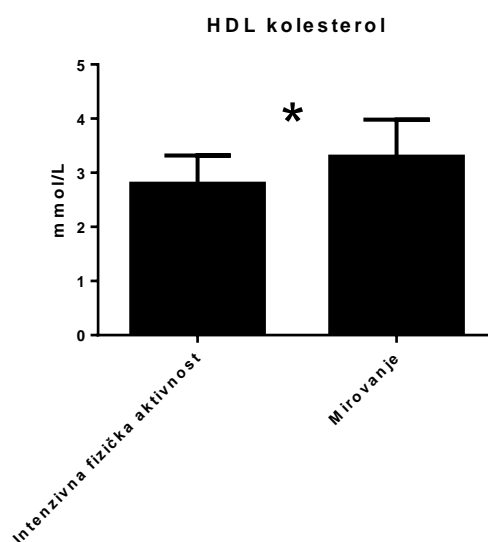
**Grafikon 13. Vrijednost bilirubina u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**



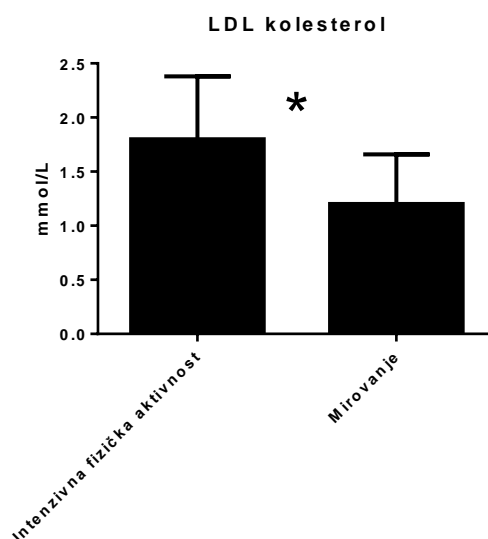
**Grafikon 14. Vrijednost ukupnih proteina u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti**



**Grafikon 15. Vrijednost globulina u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti**



**Grafikon 16. Vrijednost lipoproteina visoke gustoće (HDL kolesterola) u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti**



**Grafikon 17. Vrijednost lipoproteina niske gustoće (LDL kolesterola) u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju**

Prosječne vrijednosti biomarkera neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost ukazuju da je vrijednost željeza u krvi treniranih pasa u mirovanju statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na trenirane pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 7).

U krvi pasa u mirovanju povećana je koncentracija glukoze, ukupnih proteina, globulina i HDL kolesterola u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 7, Grafikon 11, 14, 15, 16). U krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti povećana je koncentracija ureje, bilirubina i LDL kolesterola u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 7, Grafikon 12, 13, 17).

**Tablica 8. Prosječne vrijednosti biomarkera neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na dob**

Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	Mladi $\bar{x}$	Odrasli $\bar{x}$	Mladi $\bar{x}$	Odrasli $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P dob	P interakcija AXD
Glukoza, mmol/L	4,77	5,04	4,26	3,97	0,125	0,0009	0,91	0,0521
Ureja, mmol/L	4,42	4,13	6,46	6,29	0,319	0,0003	0,89	0,57
Bilirubin, $\mu$ mol/L	1,90	1,90	2,46	2,28	0,104	0,0002	0,50	0,48
Ukupni proteini, g/L	71,83	73,61	61,83	68,26	1,003	0,0001	0,24	0,12
Albumini, g/L	30,45	30,67	30,00	29,56	0,519	0,98	0,27	0,85
Globulini, g/L	41,37	46,16	31,83	38,70	1,20	0,0001	0,39	0,52
CRP, mg/L	0,10	0,12	0,11	0,12	0,005	0,89	0,81	0,87
Kolesterol, mmol/L	4,86	4,76	5,25	4,69	0,145	0,59	0,12	0,40
HDL kolesterol, mmol/L	3,31	3,25	2,95	2,63	0,082	0,0027	0,096	0,48
LDL kolesterol, mmol/L	1,20	1,13	1,97	1,74	0,079	0,0001	0,15	0,74
Trigliceridi, mmol/L	0,62	0,57	0,66	0,68	0,029	0,24	0,96	0,34
Natrij, mmol/L	143,07	145,52	149,79	140,73	2,35	0,60	0,99	0,51
Kalij, mmol/L	4,33	4,41	4,13	11,67	2,231	0,80	0,75	0,77
Kloridi, mmol/L	109,46	111,31	112,69	111,89	0,489	0,09	0,27	0,22
Kalcij, mmol/L	2,72	2,66	2,70	2,50	0,024	0,16	0,052	0,13
Željezo, $\mu$ mol/L	32,91	34,39	29,39	33,06	1,559	0,77	0,0438	0,25
TIBC, $\mu$ mol/L	64,56	67,27	71,03	63,48	1,25	0,42	0,48	0,0508
UIBC, $\mu$ mol/L	31,64	32,87	41,64 <sup>a</sup>	30,42 <sup>b</sup>	1,874	0,81	0,0438	0,0364
Feritin, $\mu$ g/L	112,90	186,45	119,38	223,65	12,545	0,09	0,0004	0,14

CRP - C- reaktivni protein; HDL kolesterol - lipoproteini visoke gustoće; LDL kolesterol - lipoproteini niske gustoće; TIBC - ukupni kapacitet vezanja željeza; UIBC - nezasićeni kapacitet vezanja željeza

\*P interakcija AXD /aktivnost x dob/

<sup>a, b</sup> različita slova znače statistički značajno različito ( $P < 0,05$ )

Prosječne vrijednosti biomarkera neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na dob ukazuju da je vrijednost nezasićenog kapaciteta vezanja željeza (UIBC) u krvi mladih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na odrasle pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 8).

Koncentracija željeza u krvi odraslih pasa bila je veća u odnosu na mlade pse. Utvrđena je veća vrijednost UIBC u krvi mladih pasa u odnosu na odrasle pse. Koncentracija feritina u krvi odraslih pasa bila je veća u odnosu na mlade pse (Tablica 8). Nakon fizičke aktivnosti utvrđena je veća koncentracija feritina nego u mirovanju ( $P = 0,09$ ) (Tablica 8).



**Tablica 9. Prosječne vrijednosti biomarkera neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na spol**

Pokazatelj	Mirovanje		Intenzivna fizička aktivnost		Statistički pokazatelji			
	Mušjaci $\bar{x}$	Ženke $\bar{x}$	Mušjaci $\bar{x}$	Ženke $\bar{x}$	SEM	P aktivnost	P spol	P interakcija AXS
Glukoza, mmol/L	4,97	4,85	4,24	3,79	0,125	0,0009	0,19	0,14
Ureja, mmol/L	4,58 <sup>b</sup>	3,62 <sup>b</sup>	6,02 <sup>ac</sup>	7,00 <sup>bc</sup>	0,319	0,0003	0,75	0,0479
Bilirubin, $\mu$ mol/L	1,86	1,98	2,30	2,46	0,104	0,0002	0,43	0,51
Ukupni proteini, g/L	73,52	71,67	66,28	64,45	1,003	0,0001	0,79	0,54
Albumini, g/L	30,46	30,81	29,78	29,67	0,519	0,98	0,98	0,61
Globulini, g/L	44,51	43,66	36,50	34,78	1,20	0,0001	0,98	0,97
CRP, mg/L	0,12	0,11	0,12	0,11	0,005	0,89	0,86	0,74
Kolesterol, mmol/L	4,51	5,35	4,69	5,35	0,145	0,59	0,07	0,62
HDL kolesterol, mmol/L	3,13	3,55	2,64	2,99	0,082	0,0027	0,0453	0,52
LDL kolesterol, mmol/L	1,12	1,23	1,73	2,03	0,079	0,0001	0,37	0,99
Trigliceridi, mmol/L	0,57	0,63	0,66	0,70	0,029	0,24	0,63	0,41
Natrij, mmol/L	144,42	144,72	141,61	149,72	2,35	0,60	0,74	0,70
Kalij, mmol/L	4,20	4,60	10,92	4,20	2,231	0,80	0,78	0,75
Kloridi, mmol/L	110,7	110,36	112,0	112,6	0,489	0,09	0,62	0,65
Kalcij, mmol/L	2,66	2,74	2,56	2,63	0,024	0,16	0,09	0,79
Željezo, $\mu$ mol/L	32,00	37,21	30,73	33,18	1,559	0,77	0,41	0,91
TIBC, $\mu$ mol/L	63,74	70,80	65,88	67,84	1,25	0,42	0,53	0,39
UIBC, $\mu$ mol/L	31,74	33,58	35,14	34,66	1,874	0,81	0,85	0,54
Feritin, $\mu$ g/L	171,58	133,26	170,23	202,40	12,545	0,09	0,22	0,14

CRP – C - reaktivni protein; HDL kolesterol - lipoproteini visoke gustoće; LDL kolesterol - lipoproteini niske gustoće; TIBC - ukupni kapacitet vezanja željeza; UIBC - nezasićeni kapacitet vezanja željeza

\*P interakcija AXS /aktivnost x spol/

<sup>a, b</sup> različita slova znače statistički značajno različito ( $P < 0,05$ )

Prosječne vrijednosti biomarkera neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na spol ukazuju da je koncentracija ureje u krvi mužjaka pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na mužjake pasa u mirovanju.

Koncentracija ureje u krvi mužjaka pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na ženke pasa u mirovanju (Tablica 9). Koncentracija HDL kolesterola u krvi ženki pasa bila je veća u odnosu na mužjake pasa (Tablica 9).

#### 4. RASPRAVA

U ovom smo istraživanju određivali biomarkere antioksidacijske obrane kako bismo utvrdili sposobnost odgovora životinjskog organizma na uvjete intenzivne fizičke aktivnosti. Vrijednosti kompletne krvne slike određujemo kako bismo potvrdili zdravstveno stanje organizma i utvrdili fiziološke granice u kojima se nalazi koštana srž i organizam u cjelini.

U našem istraživanju broj leukocita (WBC) u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bio je veći u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 1, Grafikon 1), a također je i broj leukocita u krvi ženki nakon intenzivne fizičke aktivnosti bio veći u odnosu na ženke i mužjake u mirovanju, kao i mužjake nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 3). Ovi rezultati su u skladu s rezultatima Margonis i sur. (2007.), koji su utvrdili povećanje broja leukocita u plazmi atletičara na početku i 96 sati nakon intenzivnog vježbanja koje je trajalo ukupno 12 tjedana. Slično navode Speranza i sur. (2007.) i Moore i sur. (1993.) na ljudima različitog stupnja utreniranosti. Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećanje broja leukocita u plazmi hrtova neposredno nakon trke, a povećan broj utvrđen je i nakon utrke, što je u skladu s rezultatima Rose i Bloomberg (1989.), Rovira i sur. (2008.) i Davis i sur. (2008.).

Suprotno tome, Robson-Ansley i sur. (2007.) utvrdili su nepromijenjen broj leukocita u plazmi atletičara nakon pojačane vježbe visoke izdržljivosti (trčanje) u razdoblju od 4 tjedna. To su objasnili tako da akutno razdoblje pojačanog vježbanja može uzrokovati nedostatan odgovor urođenog imunog sustava što može biti uzrokom povećanja umora i nastankom opće slabosti, te uzrokovati tzv. neobjašnjeni sindrom slabijih sportskih rezultata. Autori su zaključili da povećanje broja leukocita ukazuje na prisutnost stresa u mišićnom tkivu. Baltzer i sur. (2012.) su također utvrdili nepromijenjen broj leukocita u plazmi pasa nakon agility natjecanja, kao i 4 sata nakon vježbe. Gledajući diferencijalnu krvnu sliku u našem istraživanju, udio segmentiranih i neselementiranih neutrofila u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bio je veći u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 1, Grafikon 3, Grafikon 4), a udio segmentiranih neutrofila u krvi ženki nakon intenzivne fizičke aktivnosti veći u odnosu na ženke i mužjake u mirovanju, kao i mužjake nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 3). Sukladno našem istraživanju, Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećan udio segmentiranih neutrofila u plazmi hrtova neposredno nakon trke.

Baltzer i sur. (2012.) utvrdili su nepromijenjen udio segmentiranih neutrofila u plazmi pasa nakon agility natjecanja, a Robson-Ansley i sur. (2007.) su utvrdili slično nepromijenjen ukupan broj segmentiranih neutrofila u plazmi atletičara nakon pojačane vježbe visoke izdržljivosti. U mlađim stanicama granulocita jezgra je nesegmentirana, pa se, stoga, nazivaju nesegmentirani granulociti, a njihov veći udio označava veću potrebu za ubacivanjem nezrelih stanica u cirkulaciju (Desai, 2004.). Sukladno našem istraživanju, Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećan udio nesegmentiranih neutrofila u plazmi hrtova neposredno nakon trke, dok su Baltzer i sur. (2012.) navode nepromijenjen udio nesegmentiranih neutrofila u plazmi pasa nakon agility natjecanja. Slično su objasnili Robson-Ansley i sur. (2007.). Eozinofila normalno ima u krvi 2–10% i manje su pokretni od neutrofila. Sadržavaju histamin te sudjeluju u alergijskim reakcijama. Modulatori su imunoloških reakcija i važni su u borbi protiv parazita (Desai, 2004.).

U našem istraživanju udio eozinofila u krvi pasa u mirovanju veći je u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 1, Grafikon 6), a udio eozinofila u krvi mladih pasa veći je u odnosu na odrasle pse (Tablica 2). Udio eozinofila u krvi mužjaka i ženki u mirovanju bio je veći u odnosu na mužjake i ženke nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 3). Baltzer i sur. (2012.) i Ilkiw i sur. (1989.) navode nepromijenjen udio eozinofila u plazmi pasa nakon agility natjecanja. Bazofili su rijetki u krvi pasa, a jezgra ima izgled modrih zrnca nejednake veličine. U zrcima je pohranjen heparin koji sprječava proces zgrušavanja krvi u krvotoku. Bazofili imaju ulogu u otpuštanju histamina (Desai, 2004.). U našem istraživanju, nepromijenjen je bio udio bazofila u plazmi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 1, Tablica 2, Tablica 3), što je sukladno rezultatima Baltzer i sur. (2012.). Limfocita u krvi ima 12-30% (Jain, 1993.), a promjer im je 8 – 12  $\mu\text{m}$ . Imaju veliku okruglu jezgru i oskudnu citoplazmu i pokretne stanice. Funkcija limfocita je specifična obrana organizma. Stvaranje i propadanje limfocita događa se veoma brzo, te se čitava populacija može izmijeniti u roku 24 sata (Desai, 2004.). U našem istraživanju, udio limfocita u krvi pasa u mirovanju bio je veći u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 1, Grafikon 5), a udio limfocita u krvi mužjaka u mirovanju veći je u odnosu na mužjake i ženke nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 3), što je u skladu sa Sureda i sur. (2005.). Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećanje udjela limfocita u plazmi hrtova neposredno nakon trke. Zaključeno je da intenzivna vježba inducira oksidacijsko oštećenje u krvnim stanicama kao što su limfociti.

Speranza i sur. (2007.) utvrdili su smanjeni udio limfocita u plazmi neutreniranih muških ispitanika nakon izvođenja dugotrajnih izokinetičkih vježbi, u ciklusima fleksije i ekstenzije koljena, kao i nakon vježbanja u fazi oporavka mišića. Baltzer i sur. (2012.) navode nepromijenjen udio limfocita u plazmi pasa nakon agility natjecanja. Monocita u krvi ima oko 3-10%, promjera su 10 – 24  $\mu\text{m}$ , te imaju veliku, najčešće reznjastu jezgru bubrežasta oblika. Oni su pokretne stanice, a glavna funkcija im je fagocitoza (Desai, 2004.). U našem istraživanju, udio monocita u plazmi pasa je nepromijenjen nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 1, Tablica 2, Tablica 3) što je sukladno istraživanju Baltzer i sur. (2012.) koji navode nepromijenjen udio monocita u plazmi pasa nakon agility natjecanja i Ilkiw i sur. (1989.).

Eritrociti (RBC) su crvene krvne stanice koje nastaju u koštanoj srži, a razgrađuju se u stanicama koštane srži, jetri i slezeni (Desai, 2004.). Baltzer i sur. (2012.) utvrdili su povećanje broja eritrocita u plazmi pasa nakon agility natjecanja. Promjene volumena plazme nakon vježbe vjerojatno su izazvane hemokoncentracijom zbog gubitka vode, kontrakcije slezene i simpatičke stimulacije, dok je 4 sata nakon vježbe automatsko razrjeđivanje krvi smanjilo broj eritrocita. Tijekom agility vježbe psi imaju anaeroban metabolizam koji se očituje povećanjem broja eritrocita u krvi. Slično prethodnim izvješćima o brzim psima, povećanje broja eritrocita zabilježeno je u svim skupinama pasa odmah nakon vježbe. To povećanje broja eritrocita, sukladno je s kontrakcijama slezene kod trkaćih pasa nakon trke. Broj eritrocita smanjen je 4 sata nakon vježbe. Kod ljudi nakon vježbanja dolazi do povećanja volumena plazme koje se naziva „autohemodilucija“ koje rezultira smanjenom koncentracijom eritrocita i ostalih pokazatelja crvene krvne slike. Taj fenomen može objasniti smanjenje broja eritrocita kod pasa 4 sata nakon vježbanja, bez promjene koncentracija proteina ili albumina, stoga jer se tekućina pomiče iz intersticijskog prostora u vaskularni prostor.

O pojavi „autohemodilucije“ kod pasa malo je podataka, pa je potrebno provesti dodatna istraživanja. Slično prethodnim autorima, Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećanje broja eritrocita u plazmi hrtova neposredno nakon trke, a 3 sata nakon trke uočeno je sniženje broja eritrocita u plazmi, a slične rezultate dobili su Rovira i sur. (2007.b) i Muñoz i sur. (1999.).

Suprotno prethodnim autorima, Moore i sur. (1993.) utvrdili su nepromijenjen broj eritrocita u serumu utreniranih vojnika nakon 2 tjedna intenzivne fizičke aktivnosti i stresa te manjka sna, dok su Rovira i sur. (2008.) utvrdili nepromijenjen broj eritrocita u plazmi pasa obučanih za traganje i spašavanje neposredno nakon vježbe treninga traganja i spašavanja u trajanju od 20 minuta, i povratak na vrijednosti u mirovanju. Ti rezultati su u skladu sa našim istraživanjem u kojem je utvrđen nepromijenjen broj eritrocita u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 1, Tablica 2, Tablica 3). Burr i sur. (1997.) utvrdili su smanjeni broj eritrocita nakon trke u odnosu na vrijednosti u mirovanju. Hemoglobin je krvni pigment, metaloprotein, koji u strukturi sadrži željezo te služi za prijenos kisika. Nalazi se u eritrocitima svih kralježnjaka i ostalih sisavaca (Desai, 2004.). Baltzer i sur. (2012.) utvrdili su povećanje broja eritrocita u plazmi pasa nakon agility natjecanja kao i Rovira i sur. (2007.b), a slično su utvrdili i Ilkiw i sur. (1989.). Robbins i sur. (2017.) utvrdili su povećanje koncentracije hemoglobina u krvi pasa nakon napornog vježbanja. Dokazano je povećanje pulsa i smanjenje tekućine u odjeljku izvanstanične tekućine nakon napornog vježbanja. Zaključuje se da su utjecaj vanjske temperature, aktivnosti prije i poslije vježbanja i metabolički pokazatelji važni čimbenici izdržljivosti pasa kod napornog vježbanja. Muñoz i sur. (1999.) pokazali su značajno povećanje koncentracije hemoglobina u plazmi trkaćih konja neposredno nakon obje trke kros trčanja. Za razliku od prethodnih autora, Reynolds i sur. (1999.) proučavali su kako unos proteina u hranidbi vučnih pasa tijekom vježbanja utječe na hematološke serumske pokazatelje. Za intenzivan fizički napor (vježbu), hrana sa 35% proteina kao izvor energije (6,0 g proteina/kg) ima prednost u odnosu na ostale hrane za pse jer dovodi do povećanja volumena plazme. Moore i sur. (1993.) i Rovira i sur. (2008.) utvrdili su nepromijenjenu koncentraciju hemoglobina u serumu utreniranih vojnika, odnosno pasa nakon vježbe treninga traganja i spašavanja u trajanju od 20 minuta. To je u skladu s rezultatima našeg istraživanja u kojem je utvrđena nepromijenjena koncentracija hemoglobina u plazmi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost i dob (Tablica 1, Tablica 2). Koncentracija hemoglobina u krvi mužjaka nakon intenzivne fizičke aktivnosti i mužjaka u mirovanju bila je veća u odnosu na koncentraciju u ženki nakon intenzivne fizičke aktivnosti i ženki u mirovanju (Tablica 3). Suprotno prethodnim istraživanjima, Burr i sur. (1997.) i Davis i sur. (2008.) utvrdili su kod pasa za vuču saonica nakon utrke nižu koncentraciju hemoglobina u serumu u odnosu na vrijednosti u mirovanju.

Davis i sur. (2008.) utvrdili su značajno smanjenje koncentracije hemoglobina u krvi pasa za vuču saonica nakon 7-mjesečnog treninga i nakon završetka utrke izdržljivosti od 1770 km. Hematokrit (HCT) je postotak krvi koji otpada na eritrocite (Desai, 2004.). Baltzer i sur. (2012.) utvrdili su povećanje vrijednosti hematokrita u plazmi pasa nakon agility natjecanja, a smanjenje 4 sata nakon vježbe. Tijekom natjecanja psi imaju anaerobni metabolizam koji se očituje povećanjem vrijednosti hematokrita u krvi. Prethodno istraživanje sukladno je rezultatima Huntingforda i sur. (2014.) koji su također utvrdili povećanje vrijednosti hematokrita u serumu neutreniranih pasa prije i poslije 2 dana uzastopne vježbe niskog intenziteta izdržljivosti na pokretnoj traci za trčanje, a vratili su se na početnu razinu 20 sati poslije vježbanja. Autori navode da je broj natjecateljskih pasa znatno porastao, osobito u fizičkim aktivnostima niskog intenziteta izdržljivosti.

Zaključeno je da neutrenirani sportski psi imaju fiziološke promjene slične psima koji vježbaju. Umjerenom vježbanje, kao i kod ljudi, u pasa dovodi do dobre kondicije i poboljšane sposobnosti za odgovor na oksidacijski stres. Nadalje, netrenirani psi pokazuju blagu hemokoncentraciju i fiziološke promjene sklonije oksidaciji masti nego glikolizi.

Sukladno prethodnim autorima, Rovira i sur. (2007.b) utvrdili su značajno povećanje vrijednosti hematokrita u krvi pasa nakon agility natjecanja. Slično navode Robbins i sur. (2017.) koji su utvrdili povećanje vrijednosti hematokrita u krvi pasa nakon napornog vježbanja. Suprotno prethodnim istraživanjima, u našem istraživanju u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol nepromijenjena je vrijednost hematokrita u plazmi pasa (Tablica 1, Tablica 2, Tablica 3). Moore i sur. (1993.) utvrdili su nepromijenjenu vrijednost hematokrita u serumu utreniranih vojnika nakon 2 tjedna intenzivne fizičke aktivnosti i stresa te manjka sna. Suprotno prethodnim autorima, Burr i sur. (1997.) utvrdili su kod pasa za vuču saonica značajno smanjenje vrijednosti hematokrita u serumu nakon utrke, u odnosu na vrijednosti u mirovanju. Vrijednosti prosječnog volumena eritrocita (MCV, engl. *Mean Corpuscular Volume*), prosječne količina hemoglobina u eritrocitu (MCH, engl. *Mean Corpuscular Hemoglobin*) i prosječne koncentracije hemoglobina u eritrocitu (MCHC, engl. *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*) su eritrocitne konstante koji su korisni parametri za otkrivanje uzroka anemije. Prosječni volumen eritrocita (MCV) je mjera obujma ili veličine prosječnog eritrocita (Desai, 2004.).

Muñoz i sur. (1999.) utvrdili su značajno povećanje vrijednosti MCV u plazmi trkaćih konja neposredno nakon obje trke kros trčanja. Suprotno prethodnim autorima, Baltzer i sur. (2012.) navode nepromijenjenu vrijednost MCV u plazmi pasa nakon savladavanja agility staze, kao i 4 sata nakon vježbe. To je u skladu s istraživanjem Moore i sur. (1993.) koji su utvrdili također nepromijenjenu vrijednost MCV u serumu utreniranih vojnika nakon 2 tjedna intenzivne fizičke aktivnosti i stresa te manjka sna, što je u skladu s našim istraživanjem (Tablica 1, Tablica 2, Tablica 3). Prosječna količina hemoglobina u eritrocitu (MCH) označava težinu hemoglobina u prosječnom eritrocitu. Općenito, povećanje ili sniženje vrijednosti MCH istodobno prati promjenu vrijednosti MCV (Desai, 2004.). Moore i sur. (1993.) su utvrdili nepromijenjenu vrijednost MCH u serumu utreniranih vojnika nakon 2 tjedna intenzivne fizičke aktivnosti i stresa te manjka sna. U našem istraživanju vrijednost MCH u krvi odraslih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti statistički je bila značajno veća u ( $P < 0,05$ ) u odnosu na odrasle pse u mirovanju (Tablica 2). Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC) predstavlja mjeru količine hemoglobina koji se nalazi u prosječnom eritrocitu s obzirom na njegovu veličinu (Desai, 2004.). U našem istraživanju vrijednost prosječne koncentracije hemoglobina u eritrocitu (MCHC) u krvi treniranih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na trenirane pse u mirovanju (Tablica 1). Vrijednost MCHC u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti je veća u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 1, Grafikon 2). Vrijednost MCHC u krvi u netreniranih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na netrenirane pse u mirovanju (Tablica 1), a vrijednost MCHC u krvi odraslih pasa je veća u odnosu na mlade pse (Tablica 2). To je u skladu s rezultatima Moore i sur. (1993.), dok su Baltzer i sur. (2012.) utvrdili nepromijenjenu vrijednost MCHC u plazmi pasa nakon savladavanja agility staze, kao i 4 sata nakon vježbe.

Trombociti su krvne pločice koje izgledaju kao malena loptasta ili ovalna bezbojna tjelešca bez jezgre. Nastaju u koštanoj srži iz dijelova megakariocita (stanice s velikom jezgrom). Vrlo brzo se raspadaju, te imaju kratak životni vijek, svega 3- 5 dana (Desai, 2004.). Baltzer i sur. (2012.) izvijestili su o povećanju broja trombocita u plazmi pasa nakon agility natjecanja, a 4 sata nakon vježbe povratak na vrijednost u mirovanju, dok je u našem istraživanju nepromijenjen broj trombocita u plazmi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 1, Tablica 2, Tablica 3).



Enzimski antioksidacijska aktivnost (SOD, CAT, GP<sub>X</sub>) često se ispituje u cilju vrednovanja kvalitete antioksidacijske zaštite organizma u mirovanju, ali može pokazivati i razinu oksidacijskog stresa, posebice nakon fizičke aktivnosti. Antioksidacijski enzimi su endogeni i njihovo nastajanje može biti izmijenjeno određenim čimbenicima. Poznati potencijalni čimbenici povećane produkcije enzimskih antioksidansa su fizička aktivnost i vježbanje (Stanković i Radovanović, 2012.). Poznato je da je katalaza (CAT) važan čimbenik u antioksidacijskoj zaštiti organizma. Enzim katalaza katalizira kemijsku reakciju razgradnje vodikovog peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) na molekule kisika i vode. Katalaza je građena od četiri podjedinice (tetramer), pri čemu svaka podjedinica sadrži jednu molekulu hema. Biološka uloga katalaze je, dakle, zaštita organizma od štetnog djelovanja H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, kad njegova koncentracija dosegne neuobičajeno visoku razinu. Stanković i Radovanović (2012.) utvrdili su povećanje aktivnosti i koncentracije CAT u plazmi kod džudaša za vrijeme 12 tjedana vježbanja. U tom istraživanju utvrđena je promjena pokazatelja anaerobnog i aerobnog kapaciteta, kao i biomarkera oksidacijskog stresa u sportaša. Ovo istraživanje pokazalo je da je povećanje pokazatelja anaerobnog kapaciteta bilo praćeno poremećajem ravnoteže između ROS-a i antioksidacijskog sustava u organizmu. Isti autori pratili su promjene određenih biomarkera oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane u krvi u ispitanica tijekom vježbanja tea-boa i vježbi pilatesa. Utvrđeno je povećanje aktivnosti CAT u plazmi ispitanica nakon vježbi pilatesa. Zbog različitih metaboličkih zahtjeva tijekom ovih dviju vrsta vježbanja, povećana potrošnja kisika nije jedini mehanizam koji uzrokuje oksidacijski stres tijekom fizičke aktivnosti. Slične rezultate navode Margonis i sur. (2007.) koji su utvrdili povećanje koncentracije CAT u plazmi atletičara na početku i 96 sati nakon intenzivnog vježbanja koje je trajalo ukupno 12 tjedana. Slično navode Sureda i sur. (2005.) koji su utvrdili povećanu koncentraciju i aktivnost CAT u plazmi biciklista 3 sata nakon natjecanja u brdskoj vožnji bicikla. U našem istraživanju aktivnost katalaze bila je značajno (P<0,05) niža nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 4, Grafikon 7). Aktivnost CAT u krvi mužjaka nakon aktivnosti bila je značajno (P<0,05) niža u odnosu na mužjake u mirovanju, dok kod ženki ta razlika nije bila statistički značajna (Tablica 6). Veća je i numerička vrijednost aktivnosti CAT u krvi ženki pasa u mirovanju u odnosu na ženke nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 6). Suprotno rezultatima prethodnih autora, Stanković i Radovanović (2012.) utvrdili su smanjenje aktivnosti CAT u plazmi mladih rukometaša, a nepromijenjenu u džudaša. Sureda i sur. (2005.) utvrdili su smanjenje aktivnosti i sniženje koncentracije CAT u neutrofilima biciklista 3 sata nakon natjecanja u brdskoj vožnji bicikla.

Zaključeno je da je antioksidacijska obrana u organizmu utreniranih sportaša nakon intenzivnog vježbanja dovoljna da se izbori sa nastalim oksidacijskim stresom. Rush i sur. (2000.) utvrdili su nepromijenjenu aktivnost i koncentraciju CAT u koronarnim arteriolama svinja nakon vježbanja na traci za trčanje, u usporedbi s kontrolnom skupinom koja nije vježbala, u razdoblju od 16 do 20 tjedana. To se može objasniti supresivnim djelovanjem supstrata na aktivnost katalaze. Naime, u slučaju povećanog nakupljanja  $H_2O_2$  aktivnost katalaze je blokirana. Poznato je da superoksidni ion ( $O_2^-$ ), nastaje u biološkim sustavima redukcijom molekularnog kisika. On ima nesparene elektrone, te se ponaša kao slobodni radikal. On je moćan oksidirajući čimbenik.

Ova svojstva čine  $O_2^-$  vrlo toksičnim spojem koji usmjerava fagocite da ubiju invadirane mikroorganizame. Inače,  $O_2^-$  mora biti uništen prije nego što to učini neželjene učinke u stanici. Enzim superoksid dismutaza (SOD) vrlo efikasno obavlja ovu funkciju. Ove vrste kemijskih reakcija nastaju u organizmu i nazivaju se dismutaza reakcije, što uključuje i oksidaciju i redukciju  $O_2^-$ . Okidač za aktivaciju SOD je metalni ion sa varijabilnim oksidacijskim stanjem, pa navedeni enzim može djelovati kao oksidirajuća ili kao redukcijska tvar. Šurina (2018.) opisuje SOD kao enzim koji katalizira dismutaciju (disproporcionaciju) superoksidnog aniona ( $O_2^-$ ) u molekularni kisik ( $O_2$ ) i vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ). Njezina aktivnost se može mjeriti kolorimetrijski koristeći tetrazolijeve soli kao supstrat. Stanković i Radovanović (2012.) ispitali su kako dužina sportskog staža utječe na mogućnost prilagodbe organizma na oksidacijski stres, te su uvdili povećanje aktivnosti superoksid dismutaze (SOD) u plazmi odbojkašica nakon dugogodišnjeg vježbanja (>10,5 godina). Zaključeno je da odbojkašice s dužim sportskim stažom imaju više vrijednosti biomarkera antioksidacijske obrane u krvi tj. bolju prilagodbu na oksidacijski stres kod dugogodišnjeg vježbanja. Još uvijek je malo dostupnih podataka o adaptaciji sustava antioksidacijske obrane uslijed dugogodišnje fizičke aktivnosti kod adolescenata (16 -19 godina) i mladih sportaša. Isti autori utvrdili su povećanje aktivnosti SOD u plazmi mladih rukometaša koji imaju nisku ili prosječnu aerobnu moć nakon maksimalnog progresivnog fizičkog opterećenja nakon dugogodišnjeg vježbanja. Rush i sur. (2000.) Utvrdili su da se koncentracija i aktivnost citosolne SOD-1 kao i mitohondrijske SOD-1 u koronarnim arteriolama svinja povećala nakon vježbanja. Zaključeno je da su se koronarne arteriole svinja koje su vježbale dilatirale zbog povećane koncentracije i aktivnosti SOD-1 ovisno o dušikovom oksidu (NO), a dokazano je da biološki polужivot NO ovisi djelomično o upravljanju anionima superoksida.

To znači da povišene vrijednosti i aktivnost SOD-1 doprinosi dilataciji koronarnih arteriola nakon vježbanja svinja ovisno o NO, uz poboljšanje upravljanja anionima superoksida u blizini vaskularnih stanica, čime se produžuje biološki poluživot NO. Hinchcliff i sur. (2003.) su proučavali natjecanje pasa u dugim utrkama saonicama na 1600 km koje je trajalo 11 dana, utvrdili smanjenu aktivnost SOD u eritrocitima trkaćih pasa nakon trke. Normalan oksidacijski metabolizam uključuje proizvodnju slobodnih radikala, a što je veći omjer oksidacijskog metabolizma, veća je razina proizvodnje slobodnih radikala. Trčanje značajno povećava potrošnju kisika, a time i proizvodnju slobodnih radikala kod trkaćih pasa zbog njihovog pojačanog metabolizma, što se očituje u velikoj potrošnji energije i oštećenja mišića izazvanih vježbanjem (rabdomiolizu). Zaključuje se da natjecanje pasa u dugim utrkama, uključujući produljenu i ponovljenu submaksimalnu vježbu, rezultira smanjenjem enzimске antioksidacijske aktivnosti u krvi trkaćih pasa i povećanjem stupnja oštećenja mišićnog tkiva skeletnih mišića. Rush i sur. (2000.) utvrdili su nepromijenjenu koncentraciju i aktivnost mitohondrijske SOD-2 u koronarnim arteriolama svinja nakon vježbanja na traci za trčanje. Sukladno prethodnom autoru, u našem istraživanju utvrđena je nepromijenjena aktivnost SOD u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 4, Tablica 5, Tablica 6). Može se pretpostaviti da nije došlo do značajnijeg porasta  $O_2^-$  pa aktivnost SOD nije bila povećana.

Poznato je da je glutathion peroksidaza (GPx) enzim koji katalizira redukciju  $H_2O_2$  u vodu ( $H_2O$ ) i kisik ( $O_2$ ) na račun oksidacije glutathiona. Aktivira se već i kod nazočnosti manje koncentracije vodikova peroksida u organizmu. Ovaj enzim je tetrameran i sadrži selenocistein, odnosno cistein na aktivnom mjestu. Postoji nekoliko tkivnospecifičnih izoformi u organizmu sisavaca. Dok je GPx poglavito citosolni enzim, u mitohondrijima se nalazi približno 10% toga enzima (Štefan i sur., 2007.).

Margonis i sur. (2007.) utvrdili su povećanje koncentracije glutathion peroksidaze (GPx) u plazmi atletičara na početku i 96 sati nakon intenzivnog vježbanja koje je trajalo ukupno 12 tjedana. Slično rezultatima prethodnog autora, Sureda i sur. (2005.) utvrdili su povećanje aktivnosti GPx u limfocitima biciklista 3 sata nakon natjecanja u brdskoj vožnji bicikla. Zaključeno je da intenzivna vježba inducira oksidacijsko oštećenje u krvnim stanicama kao što su limfociti.

Sukladno prethodnim rezultatima istraživanja, Sen i sur. (1992.) uočili su povećanje aktivnosti GPx u svim mišićima nogu pasa, kao i u štakora tijekom napornog vježbanja. Zaključuje se da su vježbe izdržljivosti povisile antioksidacijski i detoksikacijski status mišića i jetre kod štakora. U našem istraživanju utvrđena je nepromijenjena aktivnost GPx u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 4, Tablica 5, Tablica 6). Suprotno istraživanjima prethodnih autora, Sureda i sur. (2005.) utvrdili su smanjenje aktivnosti GPx u neutrofilima biciklista 3 sata nakon natjecanja u brdskoj vožnji bicikla. Slično su utvrdili Hinchcliff i sur. (2003.) u eritrocitima trkaćih pasa nakon utrke u dugim utrkama saonicama. Smanjenje aktivnosti GPx eritrocita pasa tijekom utrke, ukazuje na smanjenje enzimske antioksidacijske aktivnosti u eritrocitima te povezanost sa oštećenjem stanica skeletnih mišića. Ipak, uzročna povezanost između smanjenja aktivnosti antioksidacijskih enzima i oštećenja mišića uzrokovanih vježbanjem nije pronađena u ovoj studiji. Također, mehanizam odgovoran za smanjenje aktivnosti GPx u eritrocitima pasa nije poznat. Moguće je da je smanjenje koncentracije selen u krvi pasa tijekom utrke bio mehanizam koji je izazvao smanjenje GPx, s obzirom da je selen sastavni dio ovog enzima. Autori opisuju da normalan oksidacijski metabolizam uključuje proizvodnju slobodnih radikala, a što je veći omjer oksidacijskog metabolizma, veća je razina proizvodnje slobodnih radikala. Normalan oksidacijski metabolizam uključuje proizvodnju slobodnih radikala, a što je veći omjer oksidacijskog metabolizma, veća je razina proizvodnje slobodnih radikala. Trčanje značajno povećava potrošnju kisika, a time i proizvodnju slobodnih radikala kod trkaćih pasa zbog njihovog pojačanog metabolizma, što se očituje u velikoj potrošnji energije i oštećenja mišića izazvanih vježbanjem (rabdmiolizu). Zaključuje se da natjecanje pasa u dugim utrkama saonicama, uključujući produljenu i ponovljenu submaksimalnu vježbu, rezultira smanjenjem enzimske antioksidacijske aktivnosti u krvi trkaćih pasa i povećanjem stupnja oštećenja mišićnog tkiva skeletnih mišića.

Aspartat-aminotransferaza (AST) je enzim iz skupine transaminaza koje kataliziraju kemijsku reakciju u stanicama organizma, u kojoj iz aspartata i  $\alpha$ -ketoglutarata, nastaje oksalacetat i glutamat i obrnuto. AST je enzim koji je najzastupljeniji u jetrenim stanicama, ali nije specifičan za jetru jer se još nalazi i u bubregu, srcu te u manjoj koncentraciji u skeletnim mišićima.

Huntingford i sur. (2014.) navode povećanje koncentracije AST u serumu neutreniranih pasa prije i poslije 2 dana uzastopne vježbe niskog intenziteta izdržljivosti, što ukazuje da je došlo do vježbom potaknutog oštećenja stanične membrane mišića.

Chevion i sur. (2003.) također su utvrdili povećanje koncentracije AST u plazmi mladih ispitanika poslije napornog vježbanja tijekom 2 tjedna opterećenje teretom kao i Marin i sur (2013.).

U našem istraživanju aktivnost AST u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je veća u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 4, Grafikon 8). Vrijednost AST u krvi mladih i odraslih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti statistički značajno je veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na mlade i odrasle pse u mirovanju (Tablica 5). Slične rezultate dobio je Shadia (2009.) koji je također utvrdio povećanu aktivnost AST u serumu policijskih pasa, njemačkih ovčara u Sudanu, dok spol nije imao značajan učinak na proučavane pokazatelje. Sukladno prethodnim autorima, Hinchcliff i sur. (2003.) i Frank i sur. (2015.) utvrdili su značajno povećanje aktivnosti AST u plazmi pasa nakon utrke. Pozitivna korelacija između aktivnosti CK i AST u plazmi pasa ukazuje na to da je AST biomarker ozljede mišićnih stanica, a ne biomarker oštećenja jetre. Dokazano je ovim istraživanjem da su aktivnosti CK i AST u plazmi bolji pokazatelji oštećenja mišića od koncentracije mioglobina u plazmi pasa, te AST može biti koristan biomarker mišićnog oštećenja. Frye i sur. (2018.) utvrdili su povišenu aktivnost AST u serumu vučnih pasa koji su uspješno završili prvu dionicu utrke ( $P < 0,01$ ), sa značajnim povećanjem koncentracije i aktivnosti AST kod pasa koji su nakon prve dionice razvili kliničku sliku rabdomiolize ( $P < 0,01$ ). Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećanje koncentracije AST u plazmi hrtova neposredno nakon trke, a to povećanje ostaje i 3 sata nakon trke. Hinchcliff i sur. (1993.), Burr i sur. (1997.) i McKenzie i sur. (2007.) utvrdili su značajno povećanje aktivnosti AST u serumu svih pasa nakon utrke. Suprotno prethodnim autorima, Leschnik i sur. (2007.) pokazali su smanjenje aktivnosti AST u krvi policijskih pasa nakon testa vježbanja. Zaključuje se da fiziološki pokazatelji, kao što su rektalna temperatura, te aktivnosti AST u krvi, mogu biti korisni u tumačenju pojedinačnih referentnih vrijednosti vezanih za trening policijskih pasa, a koje su dobivene prije i nakon programa osnovne obuke. Suprotno prethodnim autorima, Rovira i sur. (2008.) utvrdili su nepromjenjenu aktivnost AST u plazmi pasa obučanih za traganje i spašavanje neposredno nakon vježbe treninga traganja i spašavanja u trajanju od 20 minuta.

Alanin-aminotransferaza (ALT) je enzim iz skupine transaminaza koji katalizira jednake kemijske reakcije u stanicama organizma kao i AST. Ovaj enzim je najzastupljeniji u jetrenim stanicama, ali za njih nije specifičan (Desai, 2004.).

U našem istraživanju aktivnost ALT u krvi treniranih i netreniranih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na trenirane i netrenirane pse u mirovanju (Tablica 4, Grafikon 9). Slične rezultate dobili su Ilkiw i sur. (1989.), Burr i sur. (1997.), McKenzie i sur. (2007.), Frank i sur. (2015.) i Frye i sur. (2018.). Suprotno prethodnim autorima, Huntingford i sur. (2014.) utvrdili su nepromijenjenu koncentraciju ALT u serumu neutreniranih pasa prije i poslije 2 dana uzastopne vježbe niskog intenziteta.

Enzim  $\gamma$ -glutamilttransferaza (GGT) je membranski enzim iz grupe peptidaza koji katalizira prijenos hidrolizom oslobođenog ostatka glutaminske kiseline na neku aminokiselinu ili peptid. GGT je također uključen u metabolizam glutaciona. U organizmu se GGT javlja uglavnom vezan na staničnu membranu stanice. Najviše je ima u bubrezima, prostati, jetri, epitelu tankog crijeva i mozgu. GGT se nalazi na mjestima intenzivne apsorpcije aminokiselina. On je veoma osjetljiv indikator za bolesti jetre, mada je nazočan i u gušterači i bubrezima. Porast katalitičke aktivnosti GGT u serumu je najosjetljiviji pokazatelj oštećenja jetre (Desai, 2004.). Sen i sur. (1992.) izvijestili su o povećanju aktivnosti GGT u mišićima nogu štakora koji su trčali na pokretnoj traci. Marin i sur (2013.) utvrdili su da dolazi do značajnog smanjenja aktivnosti GGT u plazmi vrhunskih rukometaša tijekom razdoblja intenzivnog treninga, u periodu svakih šest tjedana tijekom 6 mjeseci sezone treninga.

Iz tog istraživanja autori su zaključili da se oksidacijski stres i antioksidacijski biomarkeri mogu mijenjati tijekom sezone natjecanja sportaša. U našem istraživanju utvrđena je nepromijenjena aktivnost GGT u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 4, Tablica 5, Tablica 6).

Alkalna fosfataza (ALP) je enzim iz skupine hidrolaza koji sudjeluje u kemijskim reakcijama uklanjanja fosfatne skupine s različitih vrsta molekula kao što su npr. nukleotidi, proteini i alkaloidi. ALP je najaktivnija u alkalnom mediju, od čega dolazi i naziv tog enzima. Kod sisavaca ALP je prisutna u svim tkivima u cijelom organizmu, a najviše u jetri, žučovodu, bubregu, kostima i posteljici (Desai, 2004.).

Huntingford i sur. (2014.) navode da se koncentracija ALP u serumu neutreniranih pasa povećala poslije 2 dana uzastopne vježbe niskog intenziteta izdržljivosti na pokretnoj traci za trčanje, i kao i 20 sati poslije vježbanja, a slično su utvrdili Ilkiw i sur. (1989.), Burr i sur. (1997.), Shadia (2009.) i Frank i sur. (2015.). Slično prethodnim autorima, u našem istraživanju aktivnost ALP u krvi treniranih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na trenirane pse u mirovanju (Tablica 4), bez obzira na utreniranost. Aktivnost ALP u krvi mužjaka pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na ženke pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 6).

Kreatin-kinaza-MB izoenzim (CK-MB izoenzim) je enzim koji katalizira reakciju kreatin i adenzin trifosfata (ATP) pri čemu nastaje kreatin-fosfat i adenzin difosfat (ADP). U tkivima koja brzo troše energiju kao što su poprečnoprugasti mišići, mozak i glatki mišići, kreatin-fosfat služi kao brzi izvor za regeneraciju ATP-a, pa je kreatin-kinaza (CK) vrlo važan enzim za to tkivo. Ako je povećana koncentracija ili aktivnost CK u krvi, tada CK služi kao biomarker oštećenja srčanog mišića i poprečnoprugastih mišića i služi za rano otkrivanje infarkta miokarda, rbdomiolize, mišićne distrofije ili akutnog zatajenja bubrega. U većini stanica enzim CK se sastoji od dvije podjedinice, a to su podjedinica B (engl. *brain*) i podjedinica M (engl. *muscle*). CK ima svoja tri izoenzima, a to su CK-MM, CK-BB i CK-MB (Desai, 2004.).

Speranza i sur. (2007.) su utvrdili nepromijenjenu koncentraciju CK-MB izoenzima u plazmi neutreniranih muških ispitanika u ciklusima fleksije i ekstenzije koljena, pri maksimalnom naporu u koncentrično-koncentričnom modalitetu, pri maksimalnom opterećenju na kraju vježbanja, kao i nakon 45 minuta vježbanja u fazi oporavka mišića. Za razliku od prethodnog autora, u našem istraživanju aktivnost CK-MB izoenzima u krvi pasa u mirovanju veća je u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti što znači da tijekom fizičke aktivnosti nije došlo do oštećenja mišića (Tablica 4, Grafikon 10). Marin i sur. (2013.) utvrdili su da dolazi do značajnog povećanja koncentracije kreatin-kinaze (CK), jednog od biomarkera oštećenja skeletnih mišića, u krvi vrhunskih rukometaša tijekom razdoblja intenzivnog treninga.

Hinchcliff i sur. (2003.) utvrdili su značajno povećanje aktivnosti CK u plazmi trkaćih pasa nakon duge utrke saonicama, a dokazano je da je povećanje CK u korelaciji s povećanjem serumske koncentracije izoprostana, biomarkera lipidne peroksidacije, što ukazuje da slobodni radikali koji nastaju tijekom vježbe doprinose oštećivanju mišića. Slično su utvrdili Hinchcliff i sur. (2000). Autori su dokazali su da je ponovljena vježba izdržljivosti u vučnih pasa povezana s lipidnom peroksidacijom, smanjenjem koncentracije antioksidansa u plazmi i oštećenjem skeletnih mišića. Ova studija ukazuje da antioksidacijski mehanizmi u minimalno treniranih pasa, u nekim slučajevima, mogu biti neodgovarajući za ispunjavanje zahtjeva ponovljenih vježbi izdržljivosti.

Sukladno prethodnim istraživanjima, Sacheck i sur. (2003.) su utvrdili povećanje aktivnosti CK u serumu mladih i starijih ispitanika nakon vježbanja, a koji su nasumce odabrani i koji su trčali nizbrdo. Sukladno prethodnim istraživanjima, White i sur. (2001.) utvrdili su povećanje aktivnosti CK u krvi trkaćih konja u obje skupine, prije i nakon trke, pri čemu je jedna skupina konja primila prije utrke 5 g C vitamina intravenozno, a kontrolna skupina konja nije primila C vitamin prije trke.

Rezultati ovog istraživanja ukazuju da je primjena C vitamina smanjila oksidacijski stres izazvan vježbanjem kod trkaćih konja, ali nije mogla spriječiti oštećenje mišića. Slično rezultatima prethodnih autora, Hinchcliff i sur. (1993.) utvrdili su značajno povećanje serumske aktivnosti ( $P < 0,05$ ) CK u serumu pasa tijekom utrke. Huntingford i sur. (2014.) navode također povećanje koncentracije CK u serumu neutreniranih pasa poslije 2 dana uzastopne vježbe niskog intenziteta izdržljivosti na pokretnoj traci za trčanje, kao i 20 sati poslije vježbanja. Neposredno nakon vježbe izdržljivosti niskog intenziteta, serumski enzim CK znatno se povećao ukazujući na to da se pojavilo vježbom potaknuto oštećenje stanične membrane mišića. CK se nije vratio na početnu vrijednost unutar 20 sati, vjerojatno zbog kontinuiranog podizanja koje se pojavljuje nakon prestanka vježbanja sve do 12 sati. Sukladno prethodnim autorima, Chevion i sur. (2003.) utvrdili su desetostruko povećanje koncentracije CK u plazmi nakon oba naporna vježbanja. Koncentracija CK u plazmi ispitanika nije se vratila na svoje početne vrijednosti prije drugog napornog vježbanja. Slične rezultate navode i Robson-Ansley i sur. (2007.).



Sukladno prethodnim rezultatima, Speranza i sur. (2007.) dokazali su povećanje koncentracije CK u plazmi neutreniranih muških ispitanika na kraju vježbe, u fazama fleksije i ekstenzije koljena dolazi do blagog postupnog smanjenja vrijednosti CK nakon 45 minuta poslije vježbanja, u fazi oporavka mišića.

Dokazano je da je povećanje koncentracije CK u plazmi ispitanika i sam CK zapravo indikator strukturalnog oštećenja mišića. Stoga se pretpostavlja da je u tom stanju značajno niža razina metaboličkog stresa, ali mišićne stanice su jače oštećene. Slično prethodnim autorima, Baltzer i sur. (2012.) su utvrdili neznatno povećanje aktivnosti CK u plazmi odraslih pasa odmah nakon agility natjecanja, a aktivnost ostaje povećana i 4 sata nakon trke. Također su uočili da je CK bio pod utjecajem razine vještine, a najveću vrijednost imali su psi iz početničke skupine ( $P < 0,05$ ). Autori su utvrdili da su agility vježbe, kako su ih izveli psi u ovom istraživanju, dovoljnog intenziteta da izazovu blagi oksidacijski stres i peroksidaciju lipida. Intenzitet kontrakcije mišića povezan s agility vježbama, povećava proizvodnju reaktivnog kisika zbog povećane potrošnje kisika, što dovodi do povišene proizvodnje aniona superoksida u mišićnim mitohondrijima. Studije trkaćih pasa ukazuju da te pasmine imaju više koncentracije brzih mišićnih vlakana tipa II. Ta vlakna možda imaju najveći glikolitičko/anaerobni kapacitet tijekom intenzivnih vježbi. Autori navode da vrhunski sportaši (ljudi i konji) imaju veći udio vlakana tipa II, no potrebno je dodatno istraživanje kako bi se odredili tipovi mišićnih vlakana kod vrhunskih sportskih pasa i odgovara li činjenica da tijekom agility natjecanja pasa, povećanje laktata u plazmi, dovodi do češćih ozljeda kod pasa. Piercy i sur. (2000.) utvrdili su znatno povećanje aktivnosti CK u plazmi pasa za vuču saonica nakon vježbe izdržljivosti ukupnog trajanja 3 dana, u obje skupine pasa, dakle, i u skupini koja je imala dodatak antioksidansa u hrani (vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten) i u skupini koja je imala minimalan dodatak antioksidansa u hrani. Oštećenje mišića kod pasa, mjereno aktivnošću plazmatskog CK, nastaje, dakle, uz pomoć nekog mehanizma koji nije oksidacijski stres. Slično prethodnim autorima, Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećanje koncentracije CK u plazmi hrtova neposredno nakon trke i 3 sata nakon trke.

Slično prethodnim autorima, Frank i sur. (2015.) proučavali su pse za vuču saonica koji su se natjecali u utrci pasa na udaljenosti od 563 km koje je trajalo 2 dana, te utvrdili značajno povećanje aktivnosti CK ( $P < 0,001$ ), u plazmi pasa 2 dana poslije utrke.

Smatra se da povećana aktivnost biomarkera mišićnog oštećenja izazvana vježbanjem, utvrđena kod pasa, konja i ljudi, normalan fiziološki odgovor organizma na vježbanje. U literaturi se navodi da povećanje aktivnosti serumskog CK > 5 ili 10 puta iznad gornje granice referentnih vrijednosti, govori u prilog rabdomiolize.

Međutim, novije smjernice kod ljudi upućuju da je prisutna dijagnoza rabdomiolize kada je aktivnost serumskog CK > 50 puta veća od gornje granice referentnih vrijednosti. Normalno fiziološko povećanje aktivnosti CK nakon vježbanja, bilo je blago do umjereno, općenito su bila ispod 4000 U/L kod ljudi i konja, a što kod pasa znači približno oko 10 puta povećanje iznad gornje granice referentnih vrijednosti. U literaturi se navodi da najčešće dolazi do rabdomiolize kod vježbi izdržljivosti pasa za vuču saonica kada aktivnost CK poraste iznad 10.000 U/L što znači povećanje od 30 puta iznad gornje granice referentnih vrijednosti, što nije bilo uočeno ni kod jednog psa u ovom istraživanju. Autori su utvrdili očekivano značajnu pozitivnu korelaciju između aktivnosti CK i AST u plazmi pasa i nisku korelaciju između aktivnosti CK i koncentracije mioglobina. Uočeno je da porast koncentracije mioglobina umjereno korelira s porastom aktivnosti CK u plazmi pasa. Pozitivna korelacija između aktivnosti CK i AST u plazmi pasa ukazuje na to da je AST biomarker ozljede mišićnih stanica, a ne biomarker oštećenja jetre. Dokazano je ovim istraživanjem da su aktivnosti CK i AST u plazmi bolji pokazatelji oštećenja mišića od koncentracije mioglobina u plazmi pasa. Jedna od najznačajnijih korelacija ovom istraživanju bila je negativna povezanost između promjena koncentracije kalija i aktivnosti CK u plazmi pasa. Došlo je do blagog, ali značajnog smanjenja koncentracije kalija u plazmi pasa nakon utrke, što je sukladno ostalim istraživanjima vučnih pasa. Zaključuje se da 2 uzastopna dana umjerene fizičke aktivnosti u utrci izdržljivosti dovode do značajnih promjena biokemijskih pokazatelja plazme slično kao i u utrkama izdržljivosti na velikim udaljenostima. Nakon utrke pasa najveće promjene nastaju u enzimima povezanim s oštećenjem mišića čije su koncentracije bile slične onima kod dugogodišnje treniranih i izdržljivih pasa. Zanimljivo je da je, dvodnevna utrka pasa pokazala veliku varijabilnost koncentracije serumskog CK pasa od malog povećanja iznad referentne vrijednosti do 40-strukog povećanja. Ova varijacija u CK u plazmi pasa omogućila je procjenu odnosa prema elektrolitima u serumu, uz aktivnost CK koja pokazuje negativnu korelaciju i smanjenje koncentracije kalija u plazmi i zahtijeva daljnja istraživanja. Slično prethodnim autorima Frye i sur. (2018.) su utvrdili da aktivnost CK u serumu utreniranih pasa za vuču saonica, koji su uspješno završili prvu dionicu utrke, pokazuje značajno povećanje ( $P < 0,01$ ).

Utvrđeno je, također, da psi koji su uspješno završili prvu dionicu utrke imaju povećanje aktivnosti CK u serumu iznad 10.000 U/L, a psi s rabdomiolizom iznad 30.000 U/L. Zaključuje se da rezultati ovog istraživanja mogu pomoći u postavljanju novih smjernica za vrijednosti serumskog CK u potvrđivanju dijagnoze rabdomiolize.

Slično su utvrdili Burr i sur. (1997.) i McKenzie i sur. (2007.) Suprotno prethodnim autorima, Leschnik i sur. (2007.) utvrdili su smanjenje aktivnosti CK u krvi pasa nakon testa vježbanja u policijskih pasa. Autori navode da je fizička spremnost policijskih pasa osnova za njihovu učinkovitost. Fizikalni pregled, elektrokardiogram i analiza krvi u pasa učinjeni su prije, neposredno nakon testa vježbanja i 30 minuta nakon vježbanja. Suprotno prethodnim autorima, Dunlap i sur. (2006.) utvrdili su nepromijenjenu aktivnost i koncentraciju CK u plazmi pasa za vuču saonica 48 sati nakon vježbanja, što znači da protokol vježbanja nije uzrokovao veće oštećenje mišića pasa.

Glukoza je najrasprostranjeniji monosaharid u prirodi. Može se naći u krvi i tkivu svih sisavaca (Desai, 2004.). Ilkiw i sur. (1989.), Robbins i sur. (2017.), Rose i Bloomberg (1989.) utvrdili su povećanje koncentracije glukoze u plazmi hrtova neposredno nakon trke. Chevion i sur. (2003.) utvrdili su povećanje koncentracije glukoze u plazmi mladih ispitanika poslije dva naporna vježbanja uz opterećenje teretom. Shadia (2009.) je utvrdio povećanje koncentracije glukoze u serumu policijskih pasa što je posljedicom stresa izazvanog uzimanjem uzoraka krvi. Zaključuje se da spol nije imao značajan učinak na proučavane pokazatelje u krvi njemačkih ovčara u Sudanu.

Clero i sur. (2015.) zaključili su da dodaci hrani mogu povećati izdržljivost i oporavak radnih pasa tragača koji su podložni razdobljima rada, vježbanja i ponavljanjima vježbi u izrazito stresnim situacijama. Korištenje kratkolančanih i srednjelančanih masnih kiselina odabranih antioksidata, prije i tijekom vježbanja, čini se da može imati pozitivan učinak na radne pse. Slično su utvrdili Baltzer i sur. (2012.) i Frye i sur. (2018.). Suprotno tome, Huntingford i sur. (2014.) utvrdili su smanjenje koncentracije glukoze u serumu u neutreniranih pasa prije i poslije vježbe niskog intenziteta izdržljivosti. Smatra se da to smanjenje glukoze u krvi pasa može biti odraz hranidbe i/ili korištenja energetske izvora hrane u neutreniranih pasa.

U našem istraživanju koncentracija glukoze u krvi pasa nakon fizičke aktivnosti bila je značajno niža ( $P < 0,05$ ) u odnosu na one u mirovanju (Tablica 7, Grafikon 11.). Rovira i sur. (2008.) i Frank i sur. (2015.) utvrdili su nepromjenjenju koncentraciju glukoze u plazmi pasa nakon fizičke aktivnosti.

Ureja je konačni dušični proizvod metabolizma bjelančevina u čovjeka i mnogih životinja. Nastaje u jetri iz amonijaka, produkta razgradnje bjelančevina, i ugljikova dioksida u ciklusu ureje, a iz tijela se izlučuje putem bubrega urinom (Desai, 2004.).

Huntingford i sur. (2014.) navode povišenu koncentraciju ureje u serumu u neutreniranih pasa prije i poslije 2 dana uzastopne vježbe. Smatra se da navedeno povećanje ureje u krvi pasa može biti uslijed hemokoncentracije izazvane vježbanjem, što je očekivana pojava kod neutreniranih pasa. Sukladno prethodnom autoru, Frank i sur. (2015.) su utvrdili značajno povećanje koncentracije ureje u plazmi pasa za vuču saonica 2 dana poslije utrke ( $P < 0,001$ ), slično kao i Burr i sur. (1997.), Chevion i sur. (2003.), McKenzie i sur. (2007.) i Frye i sur. (2018.). Frank i sur. (2015.) navode da povećanje koncentracije ureje u plazmi pasa nastaje zbog katabolizma proteina i smanjenja protoka krvi kroz bubrege kod pasa i konja koji vježbaju, Poznato je da vježbanje smanjuje protok krvi kroz bubrege i brzinu glomerularne filtracije, što dovodi do povećanja kreatinina u plazmi pasa. Međutim, autori navode da bez odgovarajućih podataka o hranidbi i hidrataciji pasa, unosu elektrolita i brzini bubrežne glomerularne filtracije, mehanizam povećanja ureje u plazmi ostaje nejasan. U našem istraživanju vrijednost ureje u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je veća u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 7, Grafikon 12). Vrijednost ureje u krvi mužjaka pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na mužjake i ženke pasa u mirovanju (Tablica 9). Baltzer i sur. (2012.) i Ilkiw i sur. (1989.) navode nepromijenjenu vrijednost koncentracije ureje u plazmi odraslih pasa nakon agility vježbe i 4 sata nakon vježbe. To je sukladno rezultatima Shadia (2009.) koji je također utvrdio nepromijenjenu vrijednost koncentracije ureje u serumu policijskih pasa, njemačkih ovčara iz Sudana. Slične rezultate navode Rovira i sur. (2007.a) koji su proučavali promjene tjelesnih tekućina i elektrolita tijekom i poslije agility natjecanja u pasa. Utvrđeno je da su se tijekom trke volumen krvi, ukupni volumen eritrocita i volumen plazme povećali, što ukazuje da je kontrakcija slezene glavni čimbenik povećanja volumena krvi.

Zaključuje se da je kontrakcija slezene i pomak tekućina iz vaskularnog odjeljka djeluje na povećanje volumena krvi, eritrocita i plazme, kao i povećanje volumena stanica povezanih s agility natjecanjem u pasa. Sukladno prethodnim autorima, Steiss i sur. (2004.) i Frye i sur. (2018.) utvrdili značajno smanjenje koncentracije ureje u krvi labrador retrievera pasa nakon nakon treninga. Utvrđeno je također da trening retrievera dovodi do hipertermije, respiratorne alkaloze, hipokapnije i blage metaboličke acidoze koji se javljaju 5 minuta nakon treninga i 2 uzastopna dana tijekom treninga kao i 2 uzastopna dana na natjecanju na terenu, što predstavlja fiziološki odgovor u zdravih pasa na povećanu fizičku aktivnost tijekom vježbanja.

Bilirubin je kemijski spoj koji se sastoji od tetrapirolnog prstena. U organizmu sisavaca nastaje razgradnjom molekule hema, te čini zelenkastožuti pigment. Molekula hema sastavni je dio molekule hemoglobina, jednog od najvažnijih spojeva u eritrocitima. Bilirubin se izlučuje putem žuči. (Desai, 2004.). U našem istraživanju utvrđena je veća koncentracija bilirubina u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 7, Grafikon 13). Ovi rezultati sukladni su rezultatima Chevion i sur. (2003.) koji su utvrdili povećanje koncentracije bilirubina u plazmi mladih ispitanika poslije dva naporna vježbanja uz opterećenje teretom. To se može objasniti većom hemolizom eritrocita koja može nastati uslijed naporne fizičke aktivnosti.

Proteini u krvi imaju mnoge funkcije kao što su zaštitna uloga od infekcije, održavanje koloidno – osmotskog tlaka, djelovanje kao pufera te ulogu u održavanju acido – bazne ravnoteže i transportna funkcija. Pojedini proteini imaju specifične funkcije, pa tako obnašaju funkciju enzima, hormona, inhibitora komplementa, faktora koagulacije i hemoglobina. Mjerenje ukupnih proteina koristi se u dijagnostici i terapiji raznih bolesti jetre, bubrega i koštane srži, kao i ostalih metaboličkih i poremećaja prehrane u organizmu (Desai, 2004.). White i sur. (2001.) utvrdili su povećanje koncentracije ukupnih proteina plazme u trkaćih konja nakon trke, Slično su izvijestili Huntingford i sur. (2014.) i Shadia (2009.) koji su utvrdili povećanu koncentraciju ukupnih proteina u serumu pasa nakon vježbanja. Ilkiw i sur. (1989.) i Rose i Bloomberg (1989.) utvrdili su povećanje koncentracije ukupnih proteina u plazmi hrtova neposredno nakon trke, a slične rezultate dobili su Muñoz i sur. (1999.) kod trkaćih konja nakon dvije trke kros trčanja. Smatra se da biokemijske promjene u serumu pasa nastaju zbog povećanja osmolalnosti i ukupnih proteina.

Suprotno tome, u našem istraživanju koncentracija ukupnih proteina u krvi pasa u mirovanju bila je veća u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 7, Grafikon 14). To je u suglasnosti sa Hinchcliff i sur. (2003.) koji su utvrdili smanjenje koncentracije ukupnih proteina u plazmi trkaćih pasa unutar 1 sata nakon utrke. Ta pojava ukazuje na promjene u volumenu plazme. Ovo smanjenje koncentracije ukupnih proteina u plazmi nastaje zbog širenja volumena plazme zbog dugog i ponavljajućeg vježbanja, gubitka proteina iz vaskularnog prostora ili kombinaciji tih dvaju čimbenika. Zaključuje se da natjecanje pasa u dugim utrkama saonicama, uključujući produljenu i ponovljenu submaksimalnu vježbu, rezultira smanjenjem enzimske antioksidacijske aktivnosti u krvi trkaćih pasa i povećanjem stupnja oštećenja mišićnog tkiva skeletnih mišića.

Burr i sur. (1997.) utvrdili su u pasa koji su se natjecali u simuliranoj utrci za pse značajno smanjenje koncentracije ukupnih proteina u serumu nakon utrke, u odnosu na vrijednosti u mirovanju. Slične rezultate navode McKenzie i sur. (2007.) koji su utvrdili da u serumu pasa za vuču saonica, nakon dugotrajne vježbe izdržljivosti, dolazi do smanjenja koncentracija ukupnih proteina. Slične rezultate navode Hinchcliff i sur. (1997.a), Kenyon i sur. (2011.), Frank i sur. (2015.) i Frye i sur. (2018.). Suprotno prethodnim autorima, Hinchcliff i sur. (1993.), Rovira i sur. (2007.b), Rovira i sur. (2008.) i Baltzer i sur. (2012.) navode nepromijenjenu vrijednost koncentracije ukupnih proteina u plazmi pasa nakon vježbe.

Albumini su proteini krvne plazme koji se sintetiziraju u jetri, a čine oko polovice proteina krvnog seruma u organizmu sisavaca. Albumina ima 29-36 g/L u plazmi pasa. Uloga albumina u organizmu je u održavanju osmotskog tlaka, prijenosu hormona, masnih kiselina, nekonjugiranog bilirubina, lijekova, kompetitivnom vezanju kalcijevih iona te utjecanje na adidobaznu ravnotežu (Desai, 2004.) Huntingford i sur. (2014.) navode povišenu koncentraciju albumina u serumu neutreniranih pasa prije i poslije 2 dana uzastopne vježbe.

Slične rezultate dobili su Baltzer i sur. (2012.) koji su utvrdili povećanu koncentraciju albumina u plazmi odraslih pasa nakon agility vježbe koja se vraća na početnu vrijednost 4 sata nakon vježbe, a slično je utvrdio Shadia (2009.).

Smanjenu koncentraciju albumina u serumu pasa nakon pojačanog vježbanja ili utrke utvrdili su i Burr i sur. (1997.), Hinchcliff i sur. (1997. a), McKenzie i sur. (2007.), Rovira i sur. (2007. a), Wakshlag i sur. (2010.), Frank i sur. (2015.) i Frye i sur. (2018.). Hinchcliff i sur. (2003.) utvrdili su smanjenje koncentracije albumina u plazmi trkaćih pasa unutar 1 sata nakon utrke. Smanjenje koncentracije albumina u plazmi pasa koje su uočene u ovoj studiji, ukazuju na promjene u volumenu plazme. Ovo smanjenje koncentracije albumina u plazmi nastaje uslijed širenja volumena plazme zbog dugog i ponavljajućeg vježbanja, gubitka proteina iz vaskularnog prostora ili kombinaciji tih dvaju čimbenika. Suprotno prethodnim autorima, u našem istraživanju utvrđena je nepromijenjena koncentracija albumina u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9).

Globulina ima 28-42 g/L u plazmi pasa i služe za transport iona, hormona i masti važnih za imunološki sustav. Globulini se stvaraju u jetri, a stvara ih i imunološki sustav sisavaca. (Desai, 2004.). U našem istraživanju vrijednost globulina u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti bila je niža u odnosu na one u mirovanju (Tablica 7, Grafikon 15). Slično su utvrdili McKenzie i sur. (2007.) i zaključili se da hipoglobulinemija kod vučnih pasa nakon vježbanja nastaje zbog imunosupresivnog ili kataboličkog učinka napornih vježbi izdržljivosti. To potvrđuju istraživanja Hinchcliff i sur. (1997.a) i Frank i sur. (2015.) koji su utvrdili smanjenje koncentracije globulina u serumu pasa za vuču saonica tijekom i nakon utrke na velikim udaljenostima.

C-reaktivni protein (CRP) je protein u krvi sisavaca iz obitelji pentraksina, ima mnoge važne fiziološke uloge u imunološkom sustavu u organizmu kao što su vezivanje na fosfokolin izražen na površini mrtvih ili umirućih stanica oštećenih infekcijom, upalom ili traumom, kao i vezivanje na nuklearne antigene i određene patogene organizme. Tako vezan aktivira sustav komplementa koji uništava stanicu ili aktivira Fc-receptor kojega sadrže određene stanice imunološkog sustava kao što su npr. makrofagi, ili tako vezan na stancima služi kao opsonin. CRP je jedan od proteina akutne faze upale. Mjerenje njegove koncentracije u krvi koristi se u dijagnostičke svrhe jer služi kao pokazatelj upalne reakcije u organizmu (Desai, 2004.). Stanković i Radovanović (2012.) utvrdili su povećanje CRP u plazmi koje je povezano sa smanjenjem količine biomarkera oksidacijskog stresa u krvi kod sportaša obaju spolova.

Njihova studija zaključuje da su sportašice podložnije oksidacijskom stresu. Sukladno prethodnim autorima, Frye i sur. (2018.) utvrdili su da je CRP u serumu bio značajno povećan u obje skupine pasa, a statistički značajno veći u pasa za vuču saonica koji su nakon prve dionice razvili kliničku sliku rabdomiolize ( $P < 0.01$ ). Utvrđeno je da povećanje CRP u serumu pasa može biti odraz normalnog fiziološkog odgovora organizma na vježbanje u pasa koji su uspješno završili prvu dionicu utrke, a povećanje CRP u serumu pasa koji su nakon prve dionice razvili kliničku sliku rabdomiolize može biti rani odgovor akutne faze. Zaključuje se da upalni proces vjerojatno doprinosi razvoju rabdomiolize i različitoj vrijednosti CRP-a u pasa sa rabdomiolizom i pasa koji su uspješno završili prvu dionicu utrke, te odražavaju rani odgovor akutne faze na oštećenje mišića, a koje može biti povezano s vremenom prikupljanja uzoraka.

Sukladno prethodnim autorima, Wakshlag i sur. (2010.) istraživali su dovodi li vježba izdržljivosti u pasa za vuču saonica do povećanje serumskih koncentracija CRP. Utvrđeno je da kod vučnih pasa dolazi do povećanja koncentracije CRP neposredno nakon utrke.

Autori su zaključili da koncentracija CRP-a u krvi pasa može poslužiti kao biomarker sustavne upale izazvane fizičkom aktivnošću, odnosno, vježbanjem. Količina vježbi potrebnih za poticanje odgovora akutne faze u pasa nije poznata. Kenyon i sur. (2011.) utvrdili su povećanje koncentracije CRP u serumu pasa za vuču saonica nakon utrke i zaključili da to povećanje serumske koncentracije CRP-a nakon utrke ukazuju na nedostatak željeza, a koje može biti prikriveno upalom. Moguće je, stoga, da promjene koncentracije CRP-a mogu odražavati fiziološki odgovor na vježbu izdržljivosti u pasa. U našem istraživanju je utvrđena nepromijenjena koncentracija CRP-a u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9).

Kolesterol je normalni sastojak krvi odnosno tijela sisavaca. On je glavni sastojak spolnih hormona, žučnih soli koje pomažu u probavi masnoća, staničnih membrana, kao i moždanih ovojnica (Desai, 2004.). U literaturi je poznato da veću sklonost za povećanje koncentracije kolesterola u krvi imaju muškarci i žene kod kojih je nastala preuranjena menopauza (Anonimus, 2017.). Slično prethodnim autorima, Pasquini i sur. (2008.) istraživali su zdrave pse kojima su određivane laboratorijske vrijednosti kolesterola u krvi pomoću enzimatskih metoda i elektroforetskom tehnikom.



Utvrđeno je povećanje koncentracije kolesterola u plazmi rotvajlera i pirinejskog planinskog psa. Sukladno prethodnim autorima, Nazifi i sur. (2005.) istraživali su laboratorijske pokazatelje lipida u krvi kaspjskih minijaturnih konja prema njihovoj dobi (1,5-3, 3-5 i >5 godina) i spolu. Rezultati istraživanja ukazuju da je s porastom životne dobi konja došlo do povećanja koncentracije kolesterola ( $P < 0,05$ ) u krvi konja. Spol nije imao značajnog utjecaja na koncentraciju kolesterola u krvi konja, ondok, spol nije pokazao značajne razlike u koncentraciji tog pokazatelja. Autori navode da i kod ljudi također postoji statistički značajno povećanje koncentracija kolesterola u serumu u starijoj dobi. Slično prethodnom autoru, Pasquini i sur. (2008.) utvrdili su da je hranidba kod istraživanih pasa imala veliki utjecaj na metabolizam lipida, pa stoga, kod pasa koji su hranjenih hranom koja je obilovala ribom i ribljim proizvodima, dolazi do značajnog smanjenja koncentracije kolesterola u krvi pasa.

Slično prethodnim autorima, Frank i sur. (2015.), Piercy i sur. (2000.) i Knežević i sur. (2015.) utvrdili su da dolazi do značajnog smanjenja koncentracije kolesterola u plazmi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Smanjenje koncentracije kolesterola u serumu pasa ukazuje na ubrzani metabolizam zbog povećane fizičke aktivnosti i povećanog iskorištavanje masti kao alternativnog izvora energije.

Metabolička prilagodba tijekom vježbanja pruža mogućnost praćenja koncentracije kolesterola u serumu pasa za procjenjivanje intenziteta vježbe i njenoga učinka na opće zdravstveno stanje pasa. Slično prethodnim autorima, Osorio (2006.) je dokazao da skupina pasa starijih od 7 godina pokazuje statistički značajno smanjenje koncentracije kolesterola u krvi u skupini pasa starijih od 7 godina. U ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika u odnosu na spol. Zaključuje se da promjene načina života u pasa, uključujući prehrambene navike, odnosno, više unosa životinjskih masti i proteina i manje unosa ugljikohidrata u hranidbu, ne uzrokuju negativne promjene u lipidnom profilu ispitivanih pasa, kao što je to uočeno kod ljudi. Sukladno prethodnim autorima, a u literaturi je poznata činjenica da estrogen smanjuje koncentraciju kolesterola u krvi žena i muškaraca (Anonimus, 2017.). Poznato je da koncentracija kolesterola u krvi žena ovisi o razdoblju menstrualnog ciklusa, odnosno o promjenama u količini estrogena u krvi. Ove promjene koncentracije kolesterola znatno su veće kod pretilih žena starijih od 40 godina.

Koncentracija kolesterola u krvi žena najveća je u prvoj polovici ciklusa i nakon ovulacije, a nakon toga dolazi do njegovog postupnog smanjenja. Utvrđeno je da se koncentracija kolesterola smanjila kako se povećala koncentracija estrogena u krvi žena (Anonimus, 2010.a). Huntingford i sur. (2014.), Hinchcliff i sur. (2003.) i Shadia (2009.) utvrdili su da je koncentracija kolesterola serumu neutreniranih pasa ostala nepromijenjena prije i poslije 2 dana uzastopne vježbe niskog intenziteta izdržljivosti. Pretpostavlja se da je ovo smanjenje vrijednosti kolesterola u krvi pasa povezano sa hranidbom, jer su psi, u navedenom istraživanju, imali hranu bogatu povrćem, a samim tim i niže razine kolesterola od pasa koji se hrane mesom, ali vrijednosti se ipak nisu smanjile ispod donje razine. Stoga je kod tumačenja vrijednosti kolesterola u krvi pasa potrebno uzeti u obzir pasminu, dob i spol pasa. Leschnik i sur. (2007.) također su utvrdili nepromijenjenu koncentraciju kolesterola u krvi pasa neposredno nakon vježbe i 30 minuta nakon vježbanja.

Slični rezultati dobiveni su u našem istraživanju gdje je utvrđena nepromijenjena koncentracija kolesterola u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9). U krvotoku se kolesterol veže s molekulama proteina, te nastaju različite vrste lipoproteina. Lipoprotein visoke gustoće (HDL) je gusta, kompaktna mikročestica koja prenosi suvišni kolesterol u jetru, gdje se on mijenja i izbacuje kroz žuč. Lipoprotein niske gustoće (LDL) je veća, manje zgusnuta čestica koja obično ostaje u organizmu. Lipoproteini vrlo niske gustoće (VLDL) su molekule koje prenose trigliceride, kemijske spojeve koji pohranjuju masne kiseline, bitan izvor energije za organizam (Anonimus, 2010.b). Poznato je da osobe koje intenzivno vježbaju, poput trkača na duge staze, imaju veliku koncentraciju HDL kolesterola u krvi (Anonimus, 2010.b). U našem istraživanju koncentracija HDL kolesterola u krvi pasa u mirovanju je veća u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 7, Grafikon 16). Koncentracija HDL kolesterola u krvi ženki pasa je veća u odnosu na mužjake (Tablica 9). To je u skladu sa činjenicom da žene prije menopauze imaju veću koncentraciju HDL kolesterola u krvi od muškaraca iste dobi, zato jer estrogen u žena povećava koncentraciju HDL kolesterola i VLDL kolesterola u krvi (Anonimus, 2010.b). Osorio (2006.) je dokazao da je skupina pasa starijih od 7 godina imala statistički značajno nižu koncentraciju HDL kolesterola u usporedbi sa skupinom pasa u dobi od 1-7 godina. U ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika u odnosu na spol.

U našem istraživanju koncentracije HDL kolesterola bile su niže nakon intenzivne aktivnosti i s obzirom na dob i spol. Lipoproteini niske gustoće (LDL kolesterol, engl. *Low Density Lipoprotein*) je kolesterol kojeg sadrže LDL čestice koje se deponiraju u tkiva i stijenke krvnih žila sisavaca (Desai, 2004.). U literaturi se navodi da je koncentracija LDL kolesterola u krvi žena najniža neposredno prije početka menstruacije (Anonimus, 2010.a). Poznata je činjenica da u žena prije menopauze hormon estrogen smanjuje LDL kolesterol u krvi (Anonimus, 2010.b). Poznato je da je redovita tjelesna aktivnost važan čimbenik u snižavanju LDL kolesterola u krvi. Istraživanja su potvrdila da aerobna sportska aktivnost, poput trčanja, plivanja, vožnje bicikla ili brzog hodanja, u trajanju minimalno pola sata dnevno, može sniziti LDL kolesterol u krvi za oko 5-10% (Anonimus, 2017.). Sukladno prethodnim istraživanjima, Pasquini i sur. (2008.) utvrdili su da je hranidba kod istraživanih pasa imala veliki utjecaj na metabolizam lipida, pa stoga, kod pasa koji su hranjeni hranom koja je obilovala ribom i ribljim proizvodima, dolazi do značajnog smanjenja koncentracije LDL kolesterola u plazmi pasa.

Slično prethodnim autorima, Wahl i sur. (1981.) utvrdili su da muškarci imaju najveću prosječnu vrijednost VLDL kolesterola, ali njihove prosječne koncentracije LDL kolesterola su niže u odnosu na žene koje uzimaju spolne hormone, tj. jednake onima ženama koje ne uzimaju hormone. To je suprotno rezultatim našeg istraživanja u kojem je koncentracija LDL kolesterola u krvi pasa nakon fizičke aktivnosti veća u odnosu na pse u mirovanju (Tablica 7, Grafikon 17). Pasquini i sur. (2008.) su utvrdili povećanje koncentracije LDL kolesterola u štenadi mlađih od 1 godine. Utvrđeno je također i povećanje koncentracije LDL kolesterola u plazmi pasa labradora. Nazifi i sur. (2005.) utvrdili su da je s porastom životne dobi konja došlo do povećanja koncentracije LDL kolesterola ( $P < 0,05$ ) u krvi konja. Spol nije imao značajnog utjecaja na koncentraciju LDL kolesterola u krvi konja, odnosno, spol nije pokazao značajne razlike u koncentraciji tog pokazatelja. Autori navode da se koncentracija LDL kolesterola u krvi ljudi smanjuje s povećanjem dobi.

Trigliceridi su esteri glicerola i masnih kiselina. Oni se u organizam sisavaca unose hranom, a nalaze u masnom tkivu i u masnim kapljicama ostalih stanica (Desai, 2004.). Baltzer i sur. (2012.) navode povećanje koncentracija triglicerida u plazmi pasa, nakon agility vježbe. Clero i sur. (2015.) utvrdili supovećanje koncentracije triglicerida u krvi utreniranih pasa.

U skupini pasa koji nisu koristili dodatke u svojoj hrani (kontrolna skupina), tijekom vježbe se povećala koncentracija triglicerida u krvi, a nakon 24 sata se ta vrijednost vratila na početnu vrijednost. Rovira i sur. (2007.b) utvrdili su povećanje koncentracije triglicerida u serumu pasa koji su se natjecali na agility natjecanju poslije agility vježbe, a Nazifi i sur. (2005.) su utvrdili da je s porastom životne dobi konja došlo do povećanja koncentracije triglicerida ( $P < 0,05$ ) u krvi konja. Spol nije imao značajnog utjecaja na koncentraciju triglicerida u krvi konja. Autori navode da i kod ljudi također postoji statistički značajno povećanje koncentracije triglicerida u serumu u starijoj dobi. Sukladno prethodnom autoru, Piercy i sur. (2000.) utvrdili su povećanje koncentracije triglicerida u plazmi pasa za vuču saonica nakon vježbe izdržljivosti. Suprotno rezultatima prethodnih autora, Shadia (2009.) je utvrdio smanjenje koncentracije triglicerida u serumu policijskih pasa. Zaključuje se da smanjenje vrijednosti triglicerida u krvi pasa nije povezano sa hranidbom. Stoga se pasmina, spol i hranidba pasa nisu pokazali kao bitni pokazatelji tumačenja vrijednosti triglicerida u krvi pasa. Slično prethodnim autorima, Sechi i sur. (2017.) proveli su istraživanje u kojem su sudjelovali terapijski psi.

Nakon perioda od 18 tjedana došlo do značajnog smanjenja koncentracije triglicerida u krvi skupine pasa koji su hranjeni hranom s antioksidansima ( $P < 0,05$ ). Autori su smatrali da dugotrajna hranidba obogaćena dodatkom antioksidansa djeluje na sprječavanje oksidacijskog stresa i reguliranje općeg zdravstvenog stanja terapijskih pasa.

Oksidacijski stres izazvan tjelovježbom povećava umor mišića i dovodi do oštećenja mišićnih vlakana, te dovodi do oštećenja imunološkog sustava. Zaključeno je da kontrolirana, uravnotežena hrana obogaćena dodatkom antioksidansa, dovodi do obnavljanja staničnog metabolizma i neutraliziranja viška slobodnih radikala u terapijskih pasa. Sukladno prethodnim autorima, Hinchcliff i sur. (1993.) su kod pasa za utrke utvrdili značajno smanjenje koncentracije triglicerida u serumu pasa tijekom utrke. Sukladno prethodnim autorima, Knežević i sur. (2015.) utvrdili su da je prije početka treninga trčanja na pokretnoj traci koncentracija triglicerida u serumu pasa pasmine labrador retriever bila u granicama referentnih vrijednosti. Na kraju četveromjesečnog treninga uočeno je blago smanjenje koncentracije triglicerida u serumu pasa. Smanjenje koncentracije triglicerida u serumu pasa ukazuje na ubrzani metabolizam zbog povećane fizičke aktivnosti i povećanog iskorištavanje masti kao alternativnog izvora energije.

Metabolička prilagodba tijekom vježbanja pruža mogućnost praćenja koncentracije triglicerida u serumu pasa za procjenjivanje intenziteta vježbe i njenoga učinka na opće zdravstveno stanje pasa. Leschnik i sur. (2007.) i Pasquini i sur. (2008.) utvrdili su nepromijenjenu koncentraciju triglicerida u krvi pasa nakon testa vježbanja trčanja u policijskih pasa, što je u skladu s našim istraživanjem u kojem je također utvrđena nepromijenjena koncentracija triglicerida u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9).

Natrij je esencijalni makroelement za većinu vrsta, uključujući sisavce, prijeko potreban svim živim organizmima. U organizmu sisavaca on je sastojak izvanstanične tekućine. Prijenos kalijevih i natrijevih iona kroz staničnu membranu regulira K, Na pumpa čime se njihov omjer u organizmu održava stalnim. Manjak natrija u organizmu, npr. većim gubitkom tjelesne tekućine, može dovesti organizam u stanje opasno za život, dok suvišak natrija može uzrokovati povišeni krvni tlak (Desai, 2004.). Huntingford i sur. (2014.) su utvrdili povišenu koncentraciju natrija u serumu neutreniranih pasa prije i poslije uzastopne vježbe niskog intenziteta izdržljivosti.

Smatra se da se povećanje natrija u krvi pasa može djelomično objasniti dehidracijom i preraspodjelom tekućine među odjeljcima, što uzrokuje hemokoncentraciju. Slično prethodnim autorima, Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećanje koncentracije natrija u plazmi hrtova neposredno nakon trke. Reynolds i sur. (1999.) utvrdili su povećanje koncentracije natrija u serumu nakon 12 –tjednog treninga pasa. Zaključuje se da za intenzivan fizički napor uz hranu s 35% proteina kao izvorom energije (6,0 g proteina/kg) ima prednost u odnosu na ostale hrane za pse jer dovodi do povećanja volumena plazme. Suprotno prethodnim autorima, Rovira i sur. (2008.) utvrdili su smanjenje koncentracije natrija u plazmi pasa obučanih za traganje i spašavanje neposredno nakon vježbe treninga traganja i spašavanja u trajanju od 20 minuta, i povratak na vrijednosti u mirovanju. Sukladno prethodnom autoru, Frye i sur. (2018.) utvrdili su da se koncentracija natrija u serumu pasa značajno se smanjila u odnosu na vrijednosti prije utrke kod svih pasa ( $P < 0.01$ ). Ostaje nejasno treba li organizmu pasa dodati dopunu natrija u prehrani (da se smanji odgovor aldosterona za očuvanje natrija) za prevenciju rabdomiolize, pa su stoga potrebna daljnja istraživanja. Slično prethodnim autorima, Hinchcliff i sur. (1997.a) utvrdili su smanjenje koncentracije natrija u serumu vučnih pasa tijekom utrke.

Utvrđeno je da se acidobazni status tek minimalno izmijenio. Tjelesna masa u pasa značajno se smanjila tijekom utrke. Zaključuje se da je dugotrajno trčanje povezano sa smanjenjem koncentracije kationa u serumu kod pasa, slično kao i kod ljudi i konja. Međutim, mehanizam smanjenja koncentracije kationa u serumu vjerojatno se razlikuje među vrstama. Kliničke abnormalnosti povezane sa smanjenjem kationa u serumu nisu uočene u istraživanih pasa. Sukladno prethodnim autorima, Steiss i sur. (2004.) utvrdili su smanjenje koncentracije natrija u krvi labrador retrievera nakon vježbanja. Suprotno prethodnim autorima, Hinchcliff i sur. (1993.) i Frank i sur. (2015.) utvrdili su nepromijenjenu koncentraciju natrija u serumu pasa tijekom i nakon utrke. Frank i sur. (2015.) utvrdili su da koncentracija natrija u plazmi pasa za vuču saonica ostaje nepromijenjena 2 dana poslije utrke. Sukladno prethodnim autorima, Rovira i sur. (2007.a) utvrdili su nepromijenjenu koncentraciju natrija u plazmi pasa nakon agility natjecanja. Zaključuje se da je kontrakcija slezene glavni čimbenik povećanja volumena povezanih s agility natjecanjem u pasa. U našem istraživanju je utvrđena nepromijenjena koncentracija natrija u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na treniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9), što je u skladu sa istraživanjem Baltzer i sur. (2012.).

Kloridi su glavni izvanstanični anioni, čija je osnovna fiziološka funkcija reguliranje prometa vode u organizmu, osmotskog tlaka, te održavanje anionsko-kationske ravnoteže. Ioni klorida filtriraju se iz plazme kroz glomerularnu membranu i pasivno resorbiraju, zajedno s ionima natrija, u bubrežima. Određivanje klorida u krvi organizma ima najveću važnost kod bubrežnih poremećaja, kao i u praćenju acidobaznog statusa (Desai, 2004.). Huntingford i sur. (2014.) su utvrdili povišenu koncentraciju klorida u serumu neutreniranih pasa i poslije 2 dana uzastopne vježbe. Povećanje klorida u krvi pasa može se protumačiti kao reakcija organizma u svrhu nadomještanja intravaskularnih aniona zbog održavanja acidobazne ravnoteže. Slično prethodnim autorima, Ilkiw i sur. (1989.), Steiss i sur. (2004.) i McKenzie i sur. (2007.) utvrdili su povećanje koncentracije klorida u krvi pasa nakon vježbanja i sudjelovanja u utrkama. S tim je u skladu i istraživanje Rovira i sur. (2007.a) koji su utvrdili povećanje koncentracije klorida u plazmi pasa nakon agility natjecanja.

Zaključuje se da je kontrakcija slezene glavni čimbenik povećanja volumena krvi povezanih s s agility natjecanjem u pasa, ali, suprotno prethodnim autorima, Rovira i sur. (2008.) utvrdili su smanjenje koncentracije klorida u plazmi pasa obučanih za traganja i spašavanje neposredno nakon vježbe. U našem istraživanju utvrđena je nepromijenjena koncentracija klorida u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9), što je u skladu sa istraživanjem Baltzer i sur. (2012.) i Frank i sur. (2015.).

Kalij je esencijalni makroelement, prijeko potreban svim životinjskim organizmima. Razina kalija u krvi sisavaca je stalna, a regulira ju kora nadbubrežne žlijezde. Kalij se nalazi velikim dijelom unutar stanice, a samo manjim dijelom u izvanstaničnoj tekućini. (Desai, 2004.). Rose i Bloomberg (1989.) utvrdili su da dolazi do povećanja kalija u serumu hrtova 20 minuta nakon trke. Suprotno prethodnim autorima, Huntingford i sur. (2014.) su utvrdili smanjenu koncentraciju kalija u serumu neutreniranih pasa prije i poslije uzastopne vježbe niskog intenziteta. Frank i sur. (2015.) utvrdili su da je koncentracija kalija u plazmi pasa za vuču saonica bila značajno smanjena 2 dana poslije trke ( $P < 0,001$ ). Uočena je negativna korelacija koncentracije kalija i promjene aktivnosti CK ( $P < 0,001$ ). Došlo je do blagog, ali značajnog smanjenja koncentracije kalija u plazmi pasa nakon utrke, što je sukladno ostalim istraživanjima vučnih pasa.

Stvani unos minerala i opterećenje bubrežne funkcije u pasa, u ovom istraživanju nije poznat, stoga je povezanost između unosa kalija i natrija u hrani i klirensa kreatinina, koji služi za ispitivanje glomerularne funkcije bubrega, i/ili koncentracija tih elektrolita u plazmi, nejasna. Sukladno prethodnim autorima, Frye i sur. (2018.) utvrdili su da se koncentracija kalija u serumu vučnih pasa, koji su uspješno završili prvu dionicu, značajno smanjila u odnosu na vrijednosti prije utrke kod svih pasa ( $P < 0,01$ ), sa značajnim smanjenjem koncentracije kalija u serumu ( $P < 0,01$ ) kod pasa koji su nakon prve dionice razvili kliničku sliku rabdomiolize. Ostaje nejasno treba li organizmu pasa dodati dopunu kalija u prehrani, da bi se smanjio odgovor aldosterona za očuvanje natrija, za prevenciju rabdomiolize, pa su stoga potrebna daljnja istraživanja u tom smjeru. Smanjenje koncentracije kalija u serumu pasa nakon intenzivne fizičke vježbe utvrdili su Hinchcliff i sur. (1993.), Burr i sur. (1997.), Hinchcliff i sur. (1997.a), Steiss i sur. (2004.) i McKenzie i sur. (2007.).

Suprotno prethodnim istraživanjima, Rovira i sur. (2008.) utvrdili su nepromijenjenu koncentraciju kalija u plazmi pasa obučenih za traganja i spašavanje neposredno nakon vježbe. Slične rezultate dobili su Ilkiw i sur. (1989.), Rovira i sur. (2007. a) i Baltzer i sur. (2012.), što je u skladu sa našim istraživanjem u kojem je također utvrđena nepromijenjena koncentracija kalija u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9).

Kalcij je važan element za različite tjelesne funkcije koje uključuju kontrakciju mišića, provodljivost živaca i ispravno funkcioniranje mnogih enzima. Većina tjelesnog kalcija uskladištena je u kostima, ali se kalcij nalazi i u stanicama i u krvi. U organizmu sisavaca koncentracija kalcija strogo je regulirana i praćena i u stanicama i u krvi (Desai, 2004.). Ilkiw i sur. (1989.) utvrdili su povećanje koncentracije kalcija u plazmi hrtova neposredno nakon trke, a 3 sata nakon trke vrijednost se vratila na početnu u mirovanju. Suprotno prethodnim autorima, Huntingford i sur. (2014.) utvrdili su smanjenu koncentraciju kalcija u serumu neutreniranih. Burr i sur. (1997.) utvrdili su značajno smanjenje koncentracije kalcija u serumu pasa za vuču saonica nakon natjecanja u simuliranoj utrci za pse, u odnosu na vrijednosti u mirovanju, a slične rezultate navode i Rovira i sur. (2007.a) koji su utvrdili značajno smanjenje koncentracije kalcija u plazmi pasa nakon agility natjecanja. Uočeno je da smanjenje koncentracije albumina u plazmi pasa nakon vježbanja dovodi sekundarno do smanjenja koncentracije kalcija jer se albumin veže na kalcij u krvi. Frye i sur. (2018.) utvrdili su da je koncentracija kalcija u serumu vučnih pasa, koji su uspješno završili prvu dionicu, značajno smanjila u odnosu na vrijednosti prije utrke kod svih pasa ( $P < 0.01$ ).

Suprotno prethodnim istraživanjima, u našim istraživanju utvrđena je nepromijenjena koncentracija kalcija u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9), što je u skladu sa istraživanjem Baltzer i sur. (2012.).

Željezo je element neophodan za život svih živih bića. U organizam sisavaca željezo se unosi samo hranom. Stoga, smanjen unos, povećane potrebe ili pojačan gubitak vrlo brzo dovode do deficita željeza (Desai, 2004.). Huntingford i sur. (2014.) su utvrdili značajno povećanje koncentracije željeza u serumu neutreniranih pasa nakon vježbe niskog intenziteta.



Suprotno tome, u našem istraživanju koncentracija željeza u krvi treniranih pasa nakon aktivnosti bila je statistički značajno niža ( $P < 0,05$ ) u odnosu na trenirane pse u mirovanju (Tablica 7). Uočeno je da je vrijednost željeza u krvi odraslih pasa veća u odnosu na mlade pse (Tablica 8). Wakshlag i sur. (2010.) utvrdili su neznatno smanjenje koncentracije željeza u serumu pasa za vuču saonica neposredno nakon utrke. S obzirom da su prije utrke psi konzumirali hranu bogatu željezom, smanjenje je bilo neznatno. Slično prethodnim autorima, Moore i sur. (1993.) utvrdili su smanjenje koncentracije željeza u serumu utreniranih vojnika. Autori su istraživali i utvrdili da je manjak željeza relativno rijetka pojava u zdravih muškaraca, ali postoje izvješća da naporno vježbanje ili fizička aktivnost mogu imati negativan učinak na metabolizam željeza i doprinijeti stanju koje karakterizira smanjena koncentracija serumskog željeza i kod muškaraca i kod žena. Mehanizam kojim vježbanje proizvodi ovu vidljivu promjenu u statusu željeza nije poznat. Pretpostavlja se da je uzrok navedenog smanjenja serumskog željeza preraspodjela zalihe željeza u organizmu zbog vježbanja, povećani gubitak željeza putem urina, znoja i/ili izmeta, smanjena crijevna adsorpcija željeza, hemoliza ili veća potrošnja hemoglobina i eritrocita. Autori navode da promjene koncentracije serumskog željeza predstavljaju fiziološku reakciju na vježbanje sličnu dugotrajnoj prilagodbi stresu ili reakciji akutne faze. Ta reakcija akutne faze uključuje smanjenje željeza u serumu i povećanje koncentracija proteina akutne faze u krvi. Ovo istraživanje, provedeno na postrojbama američke vojske, pokazalo je da kratki periodi intenzivnog psihičkog i fizičkog stresa izazivaju reakcije nalik akutnoj fazi i smanjuju koncentraciju serumskog željeza kod vojnika. U ovom istraživanju unos željeza bio je u prosjeku 13 mg/dan, ali je bio samo 6 mg/dan tijekom 35 dana u kojima su vojnici dobili samo jedan obrok u danu.

Pretpostavljajući da je adsorpcija željeza iz hrane 20%, prehrana je osigurala između 1,2 i 2,6 mg željeza dnevno, što je dovoljno da se zadovolje metaboličke potrebe tijekom obuke za rendžere.

Kombinacija dovoljnog unosa željeza i dovoljnih zaliha željeza vjerojatno su značajno doprinijeli sposobnosti vojnika da održe razine željeza tijekom dužeg perioda napora u usporedbi s ispitanicima koji su opisani u drugim studijama i koji su se upustili u obuku ili vježbanje s niskim razinama zaliha i marginalnim unosom željeza putem prehrane.

Podaci u ovom istraživanju ukazuju da čak i dugotrajna fizička aktivnost i stres povećavaju potrošnju željeza, ali razina povećanja nije nadmašila količinu zamjenskog željeza koje je tijelo imalo na raspolaganju iz zaliha i prehrane. Neki oblici treninga izdržljivosti, kao trčanje maratona ili plivanje, izazivaju nagli pad željeza u krvi, što je pripisano povećanoj intramuskularnoj hemolizi eritrocita. Zaključeno je da intenzivni tjelesni napori tijekom dugog perioda ne moraju nužno dovesti do umanjenog metabolizma željeza. Sukladno prethodnim autorima, Kenyon i sur. (2011.) utvrdili su smanjenje koncentracije željeza u serumu pasa za vuču saonica nakon utrke. Zaključuje se da promjene koncentracije željeza u serumu mogu odražavati fiziološki odgovor na vježbu izdržljivosti u pasa. Ukupni kapacitet vezanja željeza (TIBC, engl. *Total Iron Binding Capacity*) je ukupna sposobnost vezivanja željeza i mjera je koncentracije transferina – proteina koji nosi željezo u serumu. Transferin u serumu nije kompletno zasićen željezom jer je samo 1/3 transferina zasićena željezom, pa razlikujemo ukupni kapacitet vezanja željeza (TIBC) i nezasićeni kapacitet vezanja željeza (UIBC, engl. *Unsaturated Iron Binding Capacity*). Povišene vrijednosti TIBC-a i UIBC-a imaju veliki značaj za diferencijalnu dijagnozu anemija uzrokovanih nedostatkom željeza, infekcijom ili tumorom (Desai, 2004.). Huntingford i sur. (2014.) su utvrdili značajno povećanje vrijednosti TIBC u serumu neutreniranih pasa poslije kontrolirane vježbe niskog intenziteta. Za razliku od prethodnog autora, Moore i sur. (1993.) utvrdili su smanjenje vrijednosti TIBC u serumu utreniranih vojnika nakon 2 tjedna intenzivne fizičke aktivnosti i stresa te manjka sna. U našem istraživanju nepromijenjena je vrijednost TIBC u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost, dob i spol (Tablica 7, Tablica 8, Tablica 9). U našem istraživanju vrijednost nezasićenog kapaciteta vezanja željeza (UIBC) u krvi mladih pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti statistički značajno je veća ( $P < 0,05$ ) u odnosu na odrasle pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti (Tablica 8). Vrijednost UIBC u krvi mladih pasa veća je u odnosu na odrasle pse (Tablica 8). Huntingford i sur. (2014.) su utvrdili značajno povećanje vrijednosti UIBC u serumu neutreniranih pasa.

Feritin je globularni protein koji je važan za unutarstanično pohranjivanje željeza ( $Fe^{3+}$ ), zato jer, vezivanjem željeza, održava željezo u topljivom i netoksičnom stanju. Feritin koji ne sadrži vezano željezo naziva se apoferitin. Feritin je protein akutne faze upale. Razine feritina u serumu, u stanju bez ostalih bolesti, odgovara razini željeza, te se koristi u laboratorijskoj obradi anemija (Desai, 2004.).

žMoore i sur. (1993.) utvrdili su povećanje koncentracije feritina u serumu utreniranih vojnika nakon 2 tjedna intenzivne fizičke aktivnosti i stresa te manjka sna. Autori navode da promjene koncentracija feritina u serumu predstavljaju fiziološku reakciju na vježbanje sličnu dugotrajnoj prilagodbi stresu ili reakciji akutne faze. Ta reakcija akutne faze uključuje povećanje koncentracija feritina i proteina akutne faze u krvi. Autori navode da koncentracija serumskog feritina  $< 60 \mu\text{g/l}$  odražava minimalne zalihe željeza u organizmu. Oni navode da su vojnici u ovoj studiji započeli obuku s dovoljnim zalihama željeza (koncentracija feritina  $> 100 \mu\text{g/l}$ ) i stoga su možda bolje mogli zadovoljiti povećanu potrebu za željezom i nisu razvili niže razine koncentracije serumskog feritina u usporedbi sa sportašima ili osobama s minimalnim tjelesnim zalihama željeza. Opisuje se da neki oblici treninga izdržljivosti, kao trčanje maratona ili plivanje, izazivaju naglo smanjenje koncentracija serumskog feritina, što je pripisano povećanoj intramuskularnoj hemolizi eritrocita.

Stanković i Radovanović (2012.) utvrdili su povećanje koncentracije feritina u serumu sportaša obaju spolova, a koje je povezano sa smanjenjem količine biomarkera oksidacijskog stresa u krvi sportaša. Zaključuje da su sportašice podložnije oksidacijskom stresu, kao i to da različite koncentracije feritina u krvi mogu doprinijeti različitoj razini oksidacijskog stresa kod sportaša obaju spolova. Slične rezultate navode Kenyon i sur. (2011.) koji su utvrdili povećanje koncentracija feritina u serumu pasa za vuču saonica koji nisu završili utrku. Također je utvrđeno da kod 4, od ukupno 59 pasa koji su završili utrku, došlo do smanjenja koncentracije feritina u serumu nakon utrke, što upućuje na mogući nedostatak željeza u krvi. U našem istraživanju koncentracija feritina u krvi pasa bila je veća nakon intenzivne fizičke aktivnosti u treniranih i netreniranih pasa (Tablica 7), a u krvi odraslih pasa bila je veća u odnosu na mlade pse (Tablica 8).

Suprotno prethodnim autorima, Schobersberger i sur. (1990.) navode da se koncentracija feritina u serumu muškaraca, koji nisu bili u dobroj tjelesnoj formi, smanjila tijekom 7 dana vježbanja s utezima tijekom 6 tjedana vježbanja. Smatra se da je navedeno smanjenje feritina u serumu odraz prikrivenog (latentnog) nedostatka željeza u organizmu. Slične rezultate opisuju Diehl i sur. (1986.) pri čemu su utvrdili da se koncentracija serumskog feritina postupno smanjila kod sportašica tijekom tri treninga.

Sukladno prethodnim autorima, Roberts i Smith (1992.) navode da se koncentracija serumskog feritina smanjila kod plivača tijekom 3 tjedna napornog vježbanja na visokim nadmorskim visinama, ali se vrijednost serumskog feritina vratila na početnu kada su se došli na nadmorsku visinu na kojoj su bili prije treninga, iako se nije promijenio režim i intenzitet treninga.

## 5. ZAKLJUČCI

Utvrđivanje oksidacijskog stresa važno je zbog mogućnosti pravovremenog uključivanja antioksidacijskih tvari koji povećavaju antioksidacijski kapacitet organizma sisavaca. Temeljem provedenih ispitivanja na skupini autohtonih pasmina lovačkih pasa, možemo zaključiti sljedeće:

- Nisu utvrđene razlike s obzirom na utreniranost lovačkih pasa. Moguće je da su životinje genski predisponirane za intenzivne fizičke napore i trčanje, jer potjera od 8 sati lova nije u pasa narušila antioksidacijski kapacitet.
- Intenzivna fizička aktivnost pasa potaknula je aktivnost nespecifičnog imunog sustava, što se očitovalo u povećanom broju leukocita, segmentiranih i neselementiranih neutrofila, a smanjenim udjelom limfocita u krvi. Broj eritrocita u krvi pasa nije se razlikovao, ali vrijednost MCHC bila je značajno veća ( $P < 0,05$ ) nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Koncentracija hemoglobina se povećala samo u krvi netreniranih pasa, ali bez značajnih razlika.
- Na većinu enzima antioksidacijske zaštite pojačana fizička aktivnost pasa nije utjecala, ali aktivnost katalaze i CK-MB izoenzima u krvi pasa bila je snižena.
- Neenzimski biokemijski pokazatelji u pasa ukazali su na veći utrošak energije, hemokoncentraciju i snažniju aktivnost transaminaza kao posljedicu veće aktivnosti mišića. Smanjenje koncentracije ukupnih proteina, glukoze, globulina, željeza, UIBC, te povećana koncentracija feritina u krvi pasa, odnosno, rastućih potreba za željezom, rezultat su pojačane mišićne aktivnosti.
- Mlađe životinje pokazale su veće znakove umora i potrošnje energije u odnosu na odrasle nakon fizičke aktivnosti, što se očitovalo značajnim smanjenjem koncentracije glukoze, ukupnih proteina, globulina, željeza, te značajnim povećanjem UIBC, a utvrđen je i povećan broj leukocita i feritina.
- Veće promjene nakon intenzivne fizičke aktivnosti utvrđene su u ženki: imale su značajno veći ukupni broj leukocita, udio segmentiranih i neselementiranih neutrofila i koncentraciju hemoglobina, dok na pokazatelje enzimske aktivnosti nije utvrđen utjecaj spola.

Ovim istraživanjem dobiveni su također i vrijedni podatci o fiziološkom stanju tri autohtone lovačke pasmine pasa, a to su istarski kratkodlaki gonič, istarski oštrodlaki gonič i posavski gonič.

Daljnja istraživanja trebala bi biti usmjerena na utvrđivanje potrebne količine antioksidacijskih dodataka organizmu koje je potrebno uključiti u prehranu kod lovačkih pasa.

## 6. LITERATURA

1. Ahlstrøm, Ø., Redman, P., Speakman, J. (2011.): Energy expenditure and water turnover in hunting dogs in winter conditions. *British Journal of Nutrition* 106 Suppl 1: 158-161.
2. Aktas, M., Auguste, D., Lefebvre, H. P., Toutain, P. L., Braun, J. P. (1993.): Creatine kinase in the dog: a review. *Veterinary Research Communications* 17 (5): 353-369.
3. Alves, J., Santos, A., Brites, P., Ferreira-Dias, G. (2012.): Evaluation of physical fitness in police dogs using an incremental exercise test. *Comparative Exercise Physiology* 8 (3-4): 219 – 226.
4. Anonimus (2010.a): Razina kolesterola ovisi i o menstrualnom ciklusu. <http://ordinacija.vecernji.hr/zdravlje/zdravlje-zene/razina-kolesterola-ovisi-i-o-menstrualnom-ciklusu/> (14.06.2019.)
5. Anonimus (2010.b): Sve o kolesterolu. <http://www.medikus.hr/medicina/845-sve-o-kolesterolu.html> (14.06.2019.)
6. Anonimus (2017.): Sve što biste trebali znati o kolesterolu (čak i ako vam nije povišen). <https://zivim.gloria.hr/ucim/sve-sto-biste-trebali-znati-o-kolesterolu-cak-i-ako-vam-nije-povisen/8621237/> (14.06.2019.)
7. Baltzer, W. I., Firshman, A. M., Stang, B., Warnock, J. J., Gorman, E., McKenzie, E. C. (2012.): The effect of agility exercise on eicosanoid excretion, oxidant status, and plasma lactate in dogs. *BMC Veterinary Research* 8: 249-259.
8. Banerjee, A. K., Mandal, A., Chanda, D., Chakraborti, S. (2003.): Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Molecular and Cellular Biochemistry* 253 (1-2): 307–312.
9. Banfi, G., Colombini, A., Lombardi, G., Lubkowska, A. (2012.): Metabolic markers in sports medicine. *Advances in Clinical Chemistry* 56: 1-54.
10. Baskin, C. R., Hinchcliff, K. W., DiSilvestro, R. A., Reinhart, G. A., Hayek, M. G., Chew, B. P., Burr, J. R., Swenson, R. A. (2000.): Effects of dietary antioxidant supplementation on oxidative damage and resistance to oxidative damage during prolonged exercise in sled dogs. *American Journal of Veterinary Research* 61 (8): 886-891.
11. Bauer, M. (1996.): *Kinologija: udžbenik za učenike veterinarske škole. Školska knjiga, Zagreb.*

12. Bell, M. A., Levine, C. B., Downey, R. L., Griffiths, C., Mann, S., Frye, C. W., Wakshlag, J. J. (2016.): Influence of endurance and sprinting exercise on plasma adiponectin, leptin and irisin concentrations in racing Greyhounds and sled dogs. *Australian Veterinary Journal* 94 (5): 154-159.
13. Bloomer, R. J. (2008.): Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. *Advances in Clinical Chemistry* 46: 1-50.
14. Bloomer, R. J., Goldfarb, A. H., Wideman, L., McKenzie, M. J., Consitt, L. A. (2005.): Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *Journal of Strength and Conditioning Research* 19 (2): 276-285
15. Bloomer, R. J., Smith, W. A. (2009.): Oxidative stress in response to aerobic and anaerobic power testing: influence of exercise training and carnitine supplementation. *Research Sports Medicine* 17 (1): 1-16.
16. Bošnjaković, A. (2017.): Antioksidansi i njihovi doprinosi zdravlju i ljepoti kože. Završni rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju, Preddiplomski studij kemije, Osijek.
17. Bradamante, V. (2002.): Mjesto i uloga vitamina u životu suvremenog čovjeka. *Medicus* 11: 101-111.
18. Brancaccio, P., Maffulli, N., Limongelli, F. M. (2007.): Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British Medical Bulletin* 81- 82: 209-230.
19. Burr, J. R., Reinhart, G. A., Swenson, R. A., Swaim, S. E., Vaughn, D. M., Bradley, D. M. (1997): Serum biochemical values in sled dogs before and after competing in long-distance races. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 211 (2): 175-179.
20. Chamizo, C, Rubio, J. M., Moreno, J. Alvar, J. (2001.): Semi-quantitative analysis of multiple cytokines in canine peripheral blood mononuclear cells by a single tube RT-PCR. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 83 (3-4): 191-202.
21. Chevion, S., Moran, D. S., Heled, Y., Shani, Y., Regev, G., Abbou, B., Berenshtein, E., Stadtman, E. R., Epstein, Y. (2003.): Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (9): 5119–5123.
22. Clero, D., Feugier, A., Driss, F., Grandjean, D. (2015.): Influence of Pre and Per-Exercise Nutritional Supplementation on Working Dogs Biological Markers Evolution during a Standardized Exercise. *ECronicon Open Access* 1(1): 10-25.



23. Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., Milzani, A. (2006.): Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry* 52 (4): 601–623.
24. Darabuš, S., Jakelić, I. Z. (2002.): *Osnove lovstva*. Hrvatski lovački savez, Zagreb.
25. Davis, M. S., Davis, W. C., Ensign, W. Y., Hinchcliff, K. W., Holbrook, T. C., Williamson, K. K. (2008.): Effects of training and strenuous exercise on hematologic values and peripheral blood leukocyte subsets in racing sled dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 232 (6): 873-878.
26. Diehl, D. M., Lohman, T. G., Smith, S. C., Kertzer, R. J. (1986.): Effects of physical training and competition on the iron status of female field hockey players. *International Journal of Sports Medicine* 7: 264-270.
27. Dunlap, K. L., Reynolds, A. J., Duffy, L. K. (2006.): Total antioxidant power in sled dogs supplemented with blueberries and the comparison of blood parameters associated with exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 143 (4): 429-434.
28. FCI (1996.): Alpine Dachsbracke (Alpenländische Dachsbracke).  
<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/254g06-en.pdf> (03.03.2019.)
29. FCI (2015. a): Istarski kratkodlaki gonič (Istrian short-haired hound).  
<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/151g06-en.pdf> (03.03.2019.)
30. FCI (2015. b): Posavatz hound (Posavski gonič).  
<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/154g06-en.pdf> (03.03.2019.)
31. Finsterer, J. (2012.): Biomarkers of peripheral muscle fatigue during exercise. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2012, 13 (1): 218.  
<http://www.biomedcentral.com/1471-2474/13/218> (21.02.2014.)
32. Fisher-Wellman, K., Bloomer, R. J. (2009.): Acute exercise and oxidative stress: a 30year history. *Dynamic Medicine* 8: 1-25.
33. Frank, L., Mann, S., Johnson, J., Levine, C., Downey, R., Griffiths, C., Wakshlag, J. (2015.): Plasma chemistry before and after two consecutive days of racing in sled dogs: associations between muscle damage and electrolyte status. *Comparative Exercise Physiology* 11(3): 151-158.
34. Frye, C. W., Mann, S., Joseph, J. L., Hansen, C., Sass, B., Wakshlag, J. J. (2018.): Serum Biochemistry and Inflammatory Cytokines in Racing Endurance Sled Dogs With and Without Rhabdomyolysis. *Frontiers in Veterinary Science* 5:145-153. doi: 10.3389/fvets.2018.00145

35. Gamulin, E., Samardžija, M., Butković, I., Pleadin., J. (2018.): Biokemijski mehanizmi sinteze spolnih hormona u domaćih sisavaca. *Veterinarska stanica* 49 (6).  
<http://veterina.com.hr/?p=73791> (14.06.2019.)
36. Garza, D., Shrier, I., Kohl, H. W., Ford, P., Brown, M., Matheson, G. O. (1997.): The clinical value of serum ferritin tests in endurance athletes. *Clinical Journal of Sport Medicine* 7 (1): 46-53.
37. Gomez-Cabrera, M. C., Domenech, E., Viña, J. (2008.): Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology Medicine* 44 (2): 126-131.
38. Hadwan, M. H. (2018.): Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC Biochemistry* 19: 7.  
<https://doi.org/10.1186/s12858-018-0097-5> (12.07.2019.)
39. Hinchcliff, K. W., Constable, P. D., DiSilvestro, R. A. (2003.): Muscle injury and antioxidant status in sled dogs competing in a long-distance sled dog race. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 1 (1): 81-85.
40. Hinchcliff, K. W., Olson, J., Crusberg, C., Kenyon, J., Long, R., Royle, W., Weber, W., Burr, J. (1993.): Serum biochemical changes in dogs competing in a long-distance sled race. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 202 (3): 401-405.
41. Hinchcliff, K. W., Reinhart, G. A., Burr, J. R., Schreier, C. J., Swenson, R. A. (1997. a): Effect of racing on serum sodium and potassium concentrations and acid-base status of Alaskan sled dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 210 (11): 1615-1618.
42. Hinchcliff, K. W., Reinhart, G. A., Burr, J. R., Schreier, C. J., Swenson, R. A. (1997. b): Metabolizable energy intake and sustained energy expenditure of Alaskan sled dogs during heavy exertion in the cold. *American Journal of Veterinary Research* 58 (12): 1457-1462.
43. Hinchcliff, K. W., Reinhart, G. A., DiSilvestro, R., Reynolds, A., Blostein-Fujii, A., Swenson, R. A. (2000.): Oxidant stress in sled dogs subjected to repetitive endurance exercise. *American Journal of Veterinary Research* 61 (5): 512-517.
44. Huntingford, J. L., Levine, C. B., Mustacich, D. J., Corrigan, D., Downey, R. L., Wakshlag, J. J. (2014.): The Effects of Low Intensity Endurance Activity on Various Physiological Parameters and Exercise Induced Oxidative Stress in Dogs. *Open Journal of Veterinary Medicine* 4: 134-144.

45. Ilkiw, J. E., Davis, P. E., Church, D. B. (1989.): Hematologic, biochemical, blood-gas, and acid-base values in greyhounds before and after exercise. *American Journal of Veterinary Research* 50 (4): 583-586.
46. Jain, N. C. (1993.): *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea and Febiger, Philadelphia, USA.
47. Jašić, M. (2013.): *Antioksidanti u voću i povrću*. Tehnologija hrane. Enciklopedija. Tehnologija voća i povrća.  
<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/antioksidanti-u-vocu-i-povrcu>  
(09.12.2018.)
48. Jewell, D. E., Toll, P. W., Wedekind, K. J., Zicker, S. C. (2000.): Effect of increasing dietary antioxidants on concentrations of vitamin E and total alkenals in serum of dogs and cats. *Veterinary Therapeutics* 1 (4): 264-272.
49. Ji, L. L., Leichtweis, S. (1997.): Exercise and oxidative stress: sources of free radicals and their impact on antioxidant systems. *Age* 20 (2): 91-106.
50. Kenyon, C. L., Basaraba, R. J., Bohn, A. A. (2011.): Influence of endurance exercise on serum concentrations of iron and acute phase proteins in racing sled dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 239 (9): 1201-1210.
51. Knežević, B., Belić, M., Vrbanac, Z. (2015.): Promjene koncentracije kolesterola i triglicerida u serumu pasa tijekom umjerenog treninga. *Veterinarska stanica* 46 (4): 265-272.  
<http://veterina.com.hr/?p=46217> (12.06.2019.)
52. Komnenović, J. (2014.): Oksidativni stres i antioksidansi. [www.yumama.com](http://www.yumama.com).  
<http://www.yumama.com/trudnoca/zdravlje-trudnica/1306-oksidativni-stres-i-antioksidansi.html> (21.06.2014.)
53. König, D., Wagner, K. H., Elmadfa, I., Berg, A. (2001.): Exercise and oxidative stress: significance of antioxidants with reference to inflammatory, muscular, and systemic stress. *Exercise Immunology Review* 7: 108-133.
54. Kostyuk, V. A., Potapovich, A. I. (2009.): Mechanisms of the suppression of free radical overproduction by antioxidants. *Frontiers in Bioscience (Elite edition)* 1: 179-188.
55. Kukovska, V., Celeska, I., Ruškavska, T., Valčić, O. (2015.): Effects Of Rose-Hip And Grapeseed Dietary Supplementation On Serum Oxidative Stress Parameters In Dogs Before And After Physical Exercise. *Acta Veterinaria-Beograd* 65 (3): 404-416.

56. Leschnik, M., Heidrich, C., Thalhammer, J. G., Bubna-Littitz, H. (2007.): Evaluation of physical fitness in Austrian police dogs. *Veterinary Medicine Austria / Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 94 (7): 175-179.
57. Levy, M., Hall, C., Trentacosta, N., Percival, M. (2009.): A preliminary retrospective survey of injuries occurring in dogs participating in canine agility. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 22 (4): 321-324.
58. LOVAC.info (2006.): Alpski brak jazavčar-Dachsbracke  
<http://www.lovac.info> (03.03.2019.)
59. LOVAC.info (2007.): Istarski kratkodlaki gonič  
<http://www.lovac.info> (03.03.2019.)
60. LOVAC.info (2007.): Posavski gonič  
<http://www.lovac.info> (03.03.2019.)
61. Lubrano, V., Vassalle, C., L'Abbate, A., Zucchelli, G. C. (2002.): A new method to evaluate oxidative stress in humans. *Immuno-analyse and Biologie Spécialisée* 17: 172-175.
62. Lundby, C., Jacobs, R. A. (2016.): Adaptations of skeletal muscle mitochondria to exercise training. *Experimental Physiology* 101 (1): 17-22.
63. Margaritis, I., Rousseau, A. S. (2008.): Does physical exercise modify antioxidant requirements? *Nutrition Research Reviews* 21 (1): 3-12.
64. Margonis, K., Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Douroudos, I., Chatzinikolaou, A., Mitrakou, A., Mastorakos, G., Papassotiriou, I., Taxildaris, K., Kouretas, D. (2007.): Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: Implications for diagnosis. *Free Radical Biology and Medicine* 43 (6): 901-910.
65. Marin, D. P., Bolin, A. P., Campoio, T. R., Guerra, B. A., Otton, R. (2013.): Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: implications for sport training monitoring. *International Immunopharmacology* 17 (2): 462-470.
66. Maršić, N. (2005): Imunološki sustav nije imun na stres. *Vaše zdravlje* 44(10/05).  
<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/749/> (21.06.2014.)
67. Mastaloudis, A., Leonard, S. W., Traber, M. G. (2001.): Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology and Medicine* 31 (7): 911-922.

68. Matković, B., Ružić, L. (2014.): Skripta- radni materijal: Fiziologija sporta - za V stupanj osposobljavanja kadrova u sportu.  
[http://www.skijaskouciliste.hr/repozitorij/2014/09/skijasko\\_uciliste\\_predavanja-skripta\\_materijal\\_fiziologija.pdf](http://www.skijaskouciliste.hr/repozitorij/2014/09/skijasko_uciliste_predavanja-skripta_materijal_fiziologija.pdf) (24.10.2018.)
69. Maughan, R. J. (1999.): Role of micronutrients in sport and physical activity. *British Medical Bulletin* 55 (3): 683-690.
70. McAnulty, S. R., Hosick, P. A., McAnulty, L. S., Quindry, J. C., Still, L., Hudson M. B., Dibarnardi, A. N., Milne, G. L., Morrow, J. D., Austin, M. D. (2007.): Effect of pharmacological lowering of plasma urate on exercise-induced oxidative stress. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 32 (6): 1148-1155.
71. McKenzie, E. C., Jose-Cunilleras, E., Hinchcliff, K. W., Holbrook, T. C., Royer, C., Payton, M. E., Williamson, K., Nelson, S., Willard, M. D., Davis, M. S. (2007.): Serum chemistry alterations in Alaskan sled dogs during five successive days of prolonged endurance exercise. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 230 (10): 1486-1492.
72. Mesarić Bačić, M., Ivković, S. (2015.): Oksidativni stres – kisik nam daje život, ali nas i ubija. Poliklinika Svečnjak. Poliklinika za ginekologiju i opstetriciju, internu medicinu i radiologiju-mamografiju.  
<http://poliklinikasvecnjak.com/oksidativni-stres/> (09.12.2018.)
73. Mikulić, A. (2015.): Fiziologija sporta i vježbanja-tjelesna i zdravstvena kultura. Odjel za matematiku.  
[http://www.mathos.unios.hr/tzk/seminari/Fiziologija\\_sporta\\_i\\_vjezbanja.doc](http://www.mathos.unios.hr/tzk/seminari/Fiziologija_sporta_i_vjezbanja.doc) (15.12.2018.)
74. Miller, B. F., Ehrlicher, S. E., Drake, J. C., Peelor, F.F., Biela, L. M., Pratt-Phillips, S., Davis, M., Hamilton, K. L. (2015.): Assessment of protein synthesis in highly aerobic canine species at the onset and during exercise training. *Journal of Applied Physiology* (1985) 118 (7): 811-817.
75. Moore, R. J., Friedl, K. E., Tulley, R. T., Askew, E. W. (1993.): Maintenance of iron status in healthy men during an extended period of stress and physical activity. *American Journal of Clinical Nutrition* 58 (6): 923-927.

76. Moraes, V. S., Soares, J. K. I., Cabidelli, J. F., Fadini, A. N. B., Ribeiro, P. A., Pinheiro, R. M., Conti, L. M. C., Souza, V. R. C., Coelho, C. S. (2017.): Effects of resistance training on electrocardiographic and blood parameters of police dogs. *Comparative Exercise Physiology* 13 (4): 217 – 226.
77. MPŠVG, Uprava za lovstvo (2006.): Zemljovid državnog otvorenog lovišta XVI/9 „Merolino“
78. MPŠVG, Uprava za lovstvo (2006.): Zemljovid zatvorenog lovišta i uzgajališta divljači XIV/6 „Kujnjak“ u sastavu državnog otvorenog lovišta „Breznica“
79. MPŠVG, Uprava za lovstvo (2006.): Zemljovid županijskog lovišta XIV/160 „Karanac“ sa prikazom lovišta „Ludoš“ u sastavu državnog lovišta „Podunavlje-Podravlje“
80. Muñoz, A., Riber, C., Santisteban, R., Rubio, M. D., Agüera, E. I., Castejón, F. M. (1999.): Cardiovascular and metabolic adaptations in horses competing in cross- country events. *Journal of Veterinary Medical Science* 61 (1): 13-20.
81. Nazifi., S., Saeb, M., Rategh, S., Khojandi, A. (2005.): Serum lipids and lipoproteins in clinically healthy Caspian miniature horses. *Veterinarski arhiv* 75 (2): 175-182.
82. Osorio, J. H. (2006.): Total cholesterol and hdl-cholesterol in aging dogs. *Biosalud* 5: 19-24.
83. Pasarić, O. (2018.): Obilježja uzgoja pasa hrvatskih lovačkih pasmina na području Hrvatske. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Osijek.
84. Pasquini A., Luchetti, E., Cardini G. (2010.): Evaluation of oxidative stress in hunting dogs during exercise. *Research in Veterinary Science* 89 (1): 120-123.
85. Pasquini A., Luchetti, E., Cardini G. (2008.): Plasma lipoprotein concentrations in the dog: the effects of gender, age, breed and diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berlin)* 92 (6): 718-722.
86. Pastore, A., Federici, G., Bertini, E., Piemonte, F. (2003.): Analysis of glutathione: Implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta* 333 (1): 19–39.
87. Pellegrino, F. J., Risso, A., Vaquero, P. G., Corrada, Y. A. (2018.): Physiological parameter values in greyhounds before and after high-intensity exercise. *Open Veterinary Journal* 8 (1): 64-67.
88. Peternelj, T. T., Coombes, J. S. (2011.): Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? *Sports Medicine* 41 (12): 1043-1069.

- 
89. Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. (2008.): Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science* 4 (2): 89-96.
90. Piercy, R. J., Hinchcliff, K. W., DiSilvestro, R. A., Reinhart, G. A., Baskin, C. R., Hayek, M. G., Burr, J. R., Swenson, R. A. (2000.): Effect of dietary supplements containing antioxidants on attenuation of muscle damage in exercising sled dogs. *American Journal of Veterinary Research* 61 (11): 1438-1445.
91. Pikec, J. (2017.): Uzgoj i korištenje pasa goniča u istočnoj Hrvatskoj. Završni rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
92. Pingitore, A., Lima, G. P., Mastorci, F., Quinones, A., Iervasi, G., Vassalle, C. (2015.): Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition* 31 (7-8): 916-922.
93. Powers, S. K., DeRuisseau, K. C., Quindry, J. , Hamilton, K. L. (2004.): Dietary antioxidants and exercise. *Journal of Sports Sciences* 22 (1): 81-94.
94. Pryor, W. A., Godber, S. S. (1991.): Noninvasive measures of oxidative stress status in humans. *Free Radical Biology and Medicine* 10 (3-4): 177–184.
95. Radak, Z., Chung, H. Y., Koltai, E., Taylor, A. W., Goto, S. (2008.): Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Reviews* 7 (1): 34-42.
96. Radak, Z., Taylor A. W., Ohno, H., Goto, S. (2001.): Adaptation to Exercise-Induced Oxidative Stress: From Muscle to Brain. *Exercise immunology Review* 7: 90-107.
97. Reynolds, A. J., Reinhart, G. A., Carey, D. P., Simmerman, D. A., Frank, D. A., Kallfetz, F. A. (1999.): Effect of protein intake during training on biochemical and performance variables in sled dogs. *American Journal Veterinary Research* 60 (7): 789-795.
98. Robbins, P. J., Ramos, M. T., Zanghi, B. M., Otto, C. M. (2017.): Environmental and Physiological Factors Associated With Stamina in Dogs Exercising in High Ambient Temperatures. *Frontiers in Veterinary Science* 4: 144. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00144> (08.03.2019.)
99. Robson-Ansley, P., Blannin, A., Gleeson, M. (2007.): Elevated plasma interleukin-6 levels in trained male triathletes following an acute period of intense interval training. *European Journal of Applied Physiology* 99 (4): 353-360.
100. Roberts, D., Smith, D. J. (1992.): Training at moderate altitude: Iron status of elite male swimmers. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 120 (3): 387-391.

101. Rose, R. J., Bloomberg, M. S. (1989.): Responses to sprint exercise in the greyhound: effects on haematology, serum biochemistry and muscle metabolites. *Research in Veterinary Science* 47 (2): 212-218.
102. Rovira, S., Muñoz, A., Benito, M. (2008.): Effect of exercise on physiological, blood and endocrine parameters in search and rescue-trained dogs. *Veterinarni Medicina* 53 (6): 333–346.
103. Rovira, S., Muñoz, A., Benito, M. (2007. a): Fluid and electrolyte shifts during and after agility competitions in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* 69 (1): 31- 35.
104. Rovira, S., Muñoz, A., Benito, M. (2007. b): Hematologic and biochemical changes during canine agility competitions. *Veterinary Clinical Pathology* 36 (1): 30-35.
105. Rush, J. W. E., Laughlin, M. H., Woodman, C. R., Price, E. M. (2000.): SOD-1 expression in pig coronary arterioles is increased by exercise training. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 279: 2068–2076.
106. Satchek, J. M., Blumberg, J. B. (2001.): Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition* 17 (10): 809-814.
107. Satchek, J. M., Milbury, P. E., Cannon, J. G., Roubenoff, R., Blumberg, J. B. (2003.): Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radical Biology and Medicine* 34 (12): 1575–1588.
108. Sakač, M., Šperanda, M., Baban, M., Mijić, P., Đidara, M., Bobić, T. (2011.): Oksidacijski stres u sportskih konja. *Stočarstvo* 65 (4): 271-282.
109. Schobersberger, W., Tschann, M., Hasibeder, W., Steidl, M., Herold, M., Nachbauer, W., Koller, A. (1990.): Consequences of 6 weeks of strength training on red cell oxygen transport and iron status. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 60 (3): 163-168.
110. Sechi, S., Fiore, F., Chiavolelli, F., Dimauro, C., Nudda, A., Cocco, R. (2017.): Oxidative stress and food supplementation with antioxidants in therapy dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 81 (3): 206-216.
111. Sen, C. K., Atalay, M., Hanninen, O. (1994.): Exercise-induced oxidative stress: glutathione supplementation and deficiency. *Journal of Applied Physiology* 77 (5): 2177-2187.
112. Sen, C. K., Marin, E., Kretzschmar, M., Hänninen, O. (1992.): Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization. *Journal of Applied Physiology* 73 (4): 1265-1272.



113. Shadia, A. O. (2009.): Normal values of some serochemical parameters in male and female German shepherd dogs in Sudan. *Assiut Veterinary Medical Journal* 55 (120): 110-115.
114. Sies, H. (1997.): Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 82 (2): 291–295.
115. Soffler, C. (2007.): Oxidative stress. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 23 (1): 135-157.
116. Speranza, L., Grilli, A., Patruno, A., Franceschelli, S., Felzani, G., Pesce, M., Vinciguerra, I., DéLutiis, M. A., Felaco, M. (2007.): Plasmatic markers of muscular stress in isokinetic exercise. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents* 21 (1-2): 21-29.
117. Stanković, M., Radovanović, D. (2012.): Oksidativni stres i fizička aktivnost. *SportLogia* 8 (1): 1-20.
118. Steinberg, J. G., Delliaux, S., Jammes, Y. (2006.): Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clinical Physiology and Functional Imaging* 26 (2): 106-112.
119. Steiss, J., Ahmad, H. A., Cooper, P., Ledford, C. (2004.): Physiologic responses in healthy Labrador Retrievers during field trial training and competition. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18 (2): 147-151.
120. Stephens-Brown, L., Davis, M. (2018.): Water requirements of canine athletes during multi-day exercise. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32 (3): 1149-1154.
121. Stevanović, J., Borozan, S., Jović, S., Ignjatović, I. (2011.): Fiziologija slobodnih radikala. *Veterinarski glasnik* 65 (1-2): 95-107.
122. Sureda, A., Tauler, P., Aguiló, A., Cases, N., Fuentespina, E., Córdova, A., Tur, J.A., Pons, A. (2005.): Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defenses during exhaustive exercise. *Free Radical Research* 39 (12): 1317-1324.
123. Štefan, L., Tepšić, T., Zavidčić, T., Urukalo, M., Tota, D., Domitrović, R. (2007.): Lipidna peroksidacija - uzroci i posljedice. *Medicina Fluminensis* 43 (2): 84-93.
124. Šurina, M. (2018.): Antioksidacijski enzimi kao biomarkeri oksidacijskog stresa. SeminarSKI rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
125. TIBCO Software Inc. (2018.): Statistica (data analysis software system) version 13. Palo Alto, CA, USA. <http://tibco.com> (19.06.2019.)

126. Tucak, Z., Wikerhauser, T., Cvetnić, S., Bošković, I., Tomašković, A., Alegro, A., Bedrica, Lj., Cesar, V., Baban, M., Lepeduš, H. (2003.): Lovna kinologija. Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
127. Urso, M. L., Clarkson, P. M. (2003.): Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 189 (1-2): 41-54.
128. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J.(2007.): Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39 (1): 44–84.
129. Vidnes, A., Opstad, P. K. (1981.): Serum ferritin in young men during prolonged heavy physical exercise. *Scandinavian Journal of Haematology* 27 (3): 165-170.
130. Wahl, P. W., Warnick, G. R., Albers, J. J., Hoover, J. J., Walden, C. E., Bergelin, R. O., Ogilvie, J. T., Hazzard, W. R., Knopp, R. H. (1981.): Distribution of lipoproteins triglyceride and lipoprotein cholesterol in an adult population by age, sex, and hormone use- The Pacific Northwest Bell Telephone Company health survey. *Atherosclerosis* 39 (1): 111-124.
131. Wakshlag, J. J., Stokol, T., Geske, S. M., Greger, C. E., Angle, C. T., Gillette, R. L. (2010.): Evaluation of exercise-induced changes in concentrations of C-reactive protein and serum biochemical values in sled dogs completing a long-distance endurance race. *American Journal of Veterinary Research* 71 (10): 1207-1213.
132. White, A., Estrada, M., Walker, K., Wisnia, P., Filgueira, G., Valdés, F., Araneda, O., Behn, C., Martínez, R. (2001.): Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred racehorses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 128 (1): 99-104.

## 7. SAŽETAK

Oksidacijski stres je poremećaj ravnoteže prooksidacijskog i antioksidacijskog sustava. Antioksidansi su one tvari koje u maloj količini u kratkome vremenu neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala i drugih oksidansa. Cilj istraživanja bio je utvrditi učinke intenzivne fizičke aktivnosti i pojačanih stresnih prilika nakon intenzivnog fizičkog napora na antioksidacijski kapacitet u lovačkih pasmina pasa. Istraživanje je provedeno na skupini lovačkih pasmina goniča. Psi su bili podijeljeni u dvije skupine prema učestalosti sudjelovanja u lovu (kao mjera utreniranosti pasa), a uzorci krvi uzeti su 24 sata prije i 5 minuta nakon intenzivnog fizičkog napora tj. sudjelovanja u višesatnom skupnom lovu na divlje svinje. Određeni su sljedeći pokazatelji oksidacijskog stanja tj. odnosno antioksidacijskog kapaciteta prije i nakon intenzivnog fizičkog napora: 1. kompletna krvna slika (KKS) i diferencijalna krvna slika (DKS); 2. preventivni neenzimski antioksidansi i neki metaboliti; 3. enzimski antioksidansi i 4. proteini akutne faze. Utvrđen je značajno ( $P < 0,01$ ) veći broj leukocita, veći udio segmentiranih i nesegmentiranih neutrofila, a snižen udio limfocita i eozinofila u pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti. Smanjena je bila aktivnost katalaze i kretin kinaze nakon fizičke aktivnosti, te koncentracije glukoze, ukupnih proteina, globulina i HDL kolesterola. Utvrđene su povećana aktivnosti aspartat aminotransferaze i koncentracije ureje, bilirubina, LDL kolesterola. U mladih pasa utvrđeni su znakovi umora i potrošnje energije, što se očitovalo značajnim smanjenjem koncentracije glukoze, ukupnih proteina, globulina, željeza i feritina, te značajnim povećanjem UIBC. Nismo utvrdili razlike s obzirom na utreniranost pasa. Daljnja istraživanja trebala bi biti usmjerena na utvrđivanje potrebne količine antioksidacijskih dodataka organizmu koje je potrebno uključiti u prehranu kod utreniranih i netreniranih sisavaca.

**KLJUČNE RIJEČI:** oksidacijski stres, antioksidansi, biomarkeri, fizička aktivnost, mišićni umor, lovački pas

## 8. SUMMARY

### **The level of oxidative stress in conditions of intense physical effort in hunting dog breeds**

Oxidation stress is a disorder of the balance of the prooxidation and antioxidant system. Antioxidants are substances that in a small amount in a short time neutralize the action of free radicals and other oxidants. The aim of the research was to determine the effects of intense physical activity and increased stress conditions after intensive physical effort on antioxidative capacity in hunting dogs. The research was conducted in two groups of hunting dogs breeds (goat and goat). Dogs were divided into two groups according to the frequency of participation in hunting (as a measure of dog-eating), and blood samples were taken 24 hours before and 5 minutes after intense physical effort or participation in multiple-time wildlife hunting. The following indicators of oxidative status ie antioxidative capacity were determined before and after intense physical effort: 1. Complete Blood Image (KKS) and Differential Blood Image (DKS); 2. preventative non-enzymatic antioxidants and certain metabolites; 3. Enzyme Antioxidants and 4. Acute Phase Proteins. Significantly higher ( $P < 0.05$ ) total number of leucocytes and share of neutrophyls, but loer share of lymphocytes and eosinophyls in dogs after intesive physical activity were found. Decreased activity of catalase and cretine kinase after physical activity as well as lower concentration of glucose, total protein, glubuline and HDL kolesterol were determined. In the same time, after physical activity increased activity of AST and higher concentration of ureja, bilirubin and LDL kolesterol were found. We have no prove that trained hunting dogs after intense physical activity show signs of lower oxidative stress under satisfactory nutrition. Further research should be directed to determining the required amount of antioxidant supplements to be included in the diet in untreated and untreated mammals.

**KEY WORDS:** oxidative stress, antioxidants, biomarkers, physical activity, muscular fatigue, hunting dog

## 9. PRILOG

<b>Popis tablica</b>	<b>Stranica</b>
Tablica 1. Prosječne vrijednosti kompletne krvne slike u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost .....	95
Tablica 2. Prosječne vrijednosti kompletne krvne slike u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na dob .....	99
Tablica 3. Prosječne vrijednosti kompletne krvne slike u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na spol.....	100
Tablica 4. Prosječne vrijednosti enzimskih biomarkera prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost ...	101
Tablica 5. Prosječne vrijednosti biomarkera enzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na dob .	104
Tablica 6. Prosječne vrijednosti biomarkera enzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na spol.	105
Tablica 7. Prosječne vrijednosti biomarkera neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na utreniranost .....	106
Tablica 8. Prosječne vrijednosti biomarkera neenzimskog dijela prirodne antioksidacijske obrane u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti i u mirovanju s obzirom na dob .	111

<b>Popis slika</b>	<b>Stranica</b>
Slika 1. Alpski brak jazavčar-Dachsbracke (Izvor: <a href="http://www.lovac.info">http://www.lovac.info</a> , 2006.) .....	81
Slika 2. Istarski kratkodlaki gonič (Izvor: <a href="http://www.lovac.info">http://www.lovac.info</a> , 2007.).....	84
Slika 3. Posavski gonič (Izvor: <a href="http://www.lovac.info">http://www.lovac.info</a> , 2007.) .....	87
Slika 4. Zemljovid zatvorenog lovišta i uzgajališta divljači XIV/6 „Kujnjak“ u sastavu državnog otvorenog lovišta „Breznica“ (Izvor: MPŠVG, Uprava za lovstvo, 2006.).....	92
Slika 5. Zemljovid državnog otvorenog lovišta XVI/9 „Merolino“ (Izvor: MPŠVG, Uprava za lovstvo, 2006.) .....	92
Slika 6. Zemljovid županijskog lovišta XIV/160 „Karanac“ sa prikazom lovišta .....	93

**Popis grafikona****Stranica**

Grafikon 1. Broj leukocita u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju.....	96
Grafikon 2. Vrijednost prosječne koncentracije hemoglobina u eritrocitu (MCHC) u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju.....	96
Grafikon 3. Udio segmentiranih neutrofila u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju .....	97
Grafikon 4. Udio nesegmentiranih neutrofila u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju .....	97
Grafikon 5. Udio limfocita u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti .....	98
Grafikon 6. Udio eozinofila u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti .....	98
Grafikon 7. Aktivnost katalaze u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti .....	102
Grafikon 8. Aktivnost aspartat – aminotransferaze u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju .....	102
Grafikon 9. Aktivnost alanin - aminotransferaze u krvi pasa nakon intenzivne fizičke ...	103
Grafikon 10. Aktivnost kreatin – kinaze - MB izoenzima u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti.....	103
Grafikon 11. Vrijednost glukoze u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti .....	107
Grafikon 12. Vrijednost ureje u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju .....	107
Grafikon 13. Vrijednost bilirubina u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju.....	108
Grafikon 14. Vrijednost ukupnih proteina u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti.....	108
Grafikon 15. Vrijednost globulina u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti .....	109
Grafikon 16. Vrijednost lipoproteina visoke gustoće (HDL kolesterola) u krvi pasa u mirovanju u odnosu na pse nakon intenzivne fizičke aktivnosti.....	109

Grafikon 17. Vrijednost lipoproteina niske gustoće (LDL kolesterola) u krvi pasa nakon intenzivne fizičke aktivnosti u odnosu na pse u mirovanju..... 110

## ŽIVOTOPIS

Mr. Ida Parčetić-Kostelac, doktor medicine, stručna magistra infektologije, rođena je 27. studenog 1967. godine u Šibeniku. Završila je osnovnu školu u Osijeku, a pohađala je i završila Opću gimnaziju Centra za usmjereno obrazovanje u Osijeku 1987. godine stekavši zvanje suradnika u kulturno-znanstvenim ustanovama. Iste godine upisala je Pedagoški fakultet Sveučilišta u Osijeku smjer biologija i kemija, te završila prvu akademsku godinu tog studija. 1989. godine upisala je Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, te je tijekom dodiplomskog studija obavljala dužnost demonstratora iz predmeta Histologija i embriologija. Diplomirala je 27. lipnja 1996. godine sa temom diplomskog rada „Histološka građa sakrokocigealnih teratoma“, te stekla zvanje doktora medicine.

Pohađala je poslijediplomski stručni studij iz infektologije na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu koji je uspješno završila 21. prosinca 2007. godine izradom i obranom magistarskog rada pod nazivom „Povezanost visine eozinofilije i kliničke slike trihineloze“, te stekla stručni naziv magistre infektologije.

Poslijediplomski sveučilišni doktorski studij: Poljoprivredne znanosti, smjer: Lovstvo i kinologija, upisala je akademske godine 2010./2011. na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

Pripravnički staž obavljala je od 1996. do 1998. godine u Kliničkog bolnici Osijek. Položila je državni ispit 18. siječnja 1998. godine i stekla pravo samostalnog obavljanja poslova liječnika opće medicine.

Radila je u Klinici za infektologiju Kliničke bolnice Osijek od 1998. do 2005. godine kao specijalizant infektologije. U Zavodu za hitnu medicinu Osječko-baranjske županije u Osijeku radila je od travnja 2005. godine do siječnja 2019. godine kao liječnica opće medicine. Od 2005. do 2016. godine u Zavodu za hitnu medicinu Osječko-baranjske županije, obavljala je, kao liječnica u timu hitne medicinske pomoći, poslove iz djelatnosti hitne medicine službe na području Osječko-baranjske županije. Od 2010. godine radila je na radnom mjestu dispečera medicinske prijavno-dojavne jedinice Zavoda.



Od 2015. do 2016. godine bila je voditeljica Odjela Donji Miholjac Zavoda za hitnu medicinu Osječko-baranjske županije, a od prosinca 2016. godine do siječnja 2019. godine bila je Zamjenica ravnateljice i voditeljica medicinske službe. Od 2017. godine do siječnja 2019. godine bila je predsjednica Stručnog vijeća i član Upravnog vijeća Zavoda za hitnu medicinu Osječko-baranjske županije. Od siječnja 2019. radi u Hrvatskom zavodu za zdravstveno osiguranje u Regionalnom uredu Osijek na mjestu liječnika kontrolora za medicinske poslove.

Nakon završetka fakulteta pa sve do današnjih dana dodatno se obrazuje i usavršava pohađajući razne seminare i tečajeve, pa je uspješno završila tečaj informatike, tečaj engleskog jezika, tečaj kardiopulmonalne reanimacije, trening osoblja izvanbolničke hitne medicinske službe (tečaj osnovnog održavanja života u odraslih i u djece, tečaj zbrinjavanja traumatiziranog bolesnika u odraslih i tečaj naprednog održavanja života u odraslih), trening za dispečere medicinske prijavno-dojavne jedinice i tečaj o osnovnim mjerama održavanja života uz upotrebu automatskog vanjskog defibrilatora.

Samostalno i u koautorstvu objavila je tri znanstvena rada i devet stručnih radova. Sudjelovala je u radu i objavi stručnih radova na više stručnih i znanstvenih skupova održanih u Republici Hrvatskoj: Kongresima Hrvatske udruge djelatnika hitne medicinske pomoći sa međunarodnim sudjelovanjem, Međunarodnom znanstveno-stručnom skupu: Hranom do zdravlja i Okruglim stolovima iz područja prevencije prekomjerne težine.

Članica je Hrvatske liječničke komore.

Udata je i majka sina Ivana

