

**Állatorvostudományi Egyetem  
Állatorvostudományi Doktori Iskola**

**A stressz hatása a versenylovak teljesítményére nyugalmi  
állapotban és terhelés során**

PhD értekezés

dr. Nyerges-Bohák Zsófia

2017.

Témavezetők és témabizottsági tagok:

.....

Prof. Dr. Szenci Ottó

egyetemi tanár

Állatorvostudományi Egyetem, Haszonállat-gyógyászati Tanszék és Klinika

témavezető

.....

dr. Kovács Levente

tudományos munkatárs

MTA-SZIE Nagyállatklinikai Kutatócsoport

társtémavezető

.....

dr. Hevesi Tibor Ákos

lőegészségügyi szakállatorvos

Pannon Lógyógyászati és Rehabilitációs Szolgálat

témabizottság tagja

.....

dr. Veresegyházi Tamás

egyetemi docens

Állatorvostudományi Egyetem, Élettani és Biokémiai Tanszék

témabizottság tagja

Készült 8 példányban. Ez a(z) ..... sz. példány.

.....

dr. Nyerges-Bohák Zsófia

# TARTALOM

<b>Rövidítések jegyzéke .....</b>	<b>6</b>
<b>Összefoglalás.....</b>	<b>8</b>
<b>1. Bevezetés és irodalmi áttekintés .....</b>	<b>10</b>
<b>1.1. A stressz szerepe a ló- és lovas-sportokban .....</b>	<b>10</b>
<b>1.2. A stressz élettana .....</b>	<b>12</b>
<b>1.3. A stressz mérésének lehetőségei lovakban.....</b>	<b>13</b>
<b>1.4. A kortizol hormon .....</b>	<b>14</b>
1.4.1. A kortizol sportélettani szerepe.....	16
1.4.2. Akut terhelés hatása a szérumkortizol-koncentrációra.....	17
1.4.3. A kortizol és az edzettség összefüggése .....	20
1.4.4. A versenysport pszichés hatása .....	20
<b>1.5. A szívfrekvencia-változékonyság .....</b>	<b>21</b>
1.5.1. A HRV elemzése .....	22
1.5.2. Időtartományban végzett elemzés .....	23
1.5.2.1. SDNN.....	23
1.5.2.2. RMSSD .....	24
1.5.2.3. NN50 és pNN50 .....	24
1.5.2.4. Geometriai elemzés .....	24
1.5.3. Frekvenciatartományban végzett elemzés.....	26
1.5.3.1. Magasfrekvenciás teljesítmény tartomány (HF).....	28
1.5.3.2. Alacsonyfrekvenciás teljesítmény tartomány (LF).....	29
1.5.3.3. Nagyon alacsonyfrekvenciás teljesítmény tartomány (VLF) .....	30
1.5.3.4. LF/HF arány.....	31

1.5.4. Elemzési módszerek összehasonlítása .....	31
1.5.5. A HRV szerepe a sporttudományban.....	32
1.5.5.1. A nyugalmi HRV és a sport összefüggései.....	32
1.5.5.2. HRV változás túlterheléskor, túledzettség .....	33
1.5.5.3. HRV mérés lehetőségei terhelés közben .....	34
1.5.5.4. Edzéstervezés a HRV adatok alapján .....	35
1.5.6. A HRV szerepe a stressz-vizsgálatokban .....	36
<b>2. Vizsgálataim célja, hipotéziseim .....</b>	<b>37</b>
<b>3. Saját vizsgálatok .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1. Kortizol érték napi ingadozása nyugalmi állapotban .....</b>	<b>39</b>
3.1.1. Bevezetés.....	39
3.1.2. Anyag és módszer.....	40
3.1.2.1. Lovak .....	40
3.1.2.2. Mintavétel .....	40
3.1.2.3. Kortizol mérés .....	41
3.1.2.4. Statisztika .....	41
3.1.3. Eredmények .....	42
3.1.4. Megbeszélés .....	44
<b>3.2. A versenyló alaptermészetének hatása a terheléskori kortizol szintekre .....</b>	<b>46</b>
3.2.1. Bevezetés.....	46
3.2.2. Anyag és módszer.....	47
3.2.2.1. Lovak .....	47
3.2.2.2. A vizsgálat menete.....	47

3.2.2.3. Kortizol mérés .....	49
3.2.2.4. Statisztika .....	49
3.2.3. Eredmények és megbeszélés.....	50
<b>3.3. Szívfrekvencia-variabilitás vizsgálata terhelés alatt.....</b>	<b>53</b>
3.3.1. Bevezetés.....	53
3.3.1.1. A HRV vizsgálat nehézségei .....	53
3.3.1.2. Célkitűzéseim.....	56
3.3.2 Anyag és módszer.....	57
3.3.2.1. Lovak .....	57
3.3.2.2. A kísérlet menete .....	57
3.3.2.3. HRV vizsgálat .....	59
3.3.3 Eredmények .....	62
3.3.4 Megbeszélés .....	67
<b>3.4. Általános értékelés .....</b>	<b>69</b>
<b>4. Új tudományos eredmények.....</b>	<b>70</b>
<b>5. Irodalom jegyzék.....</b>	<b>71</b>
<b>6. Publikációs lista .....</b>	<b>91</b>
<b>7. Köszönetnyilvánítás.....</b>	<b>94</b>

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACTH	adrenokortikotrop hormon
ANS	autonóm idegrendszer
ATP	adenozin-trifoszfát
CBG	transzkortin (kortikoszteroid kötő globulin)
CI	konfidencia intervallum
CNS	központi idegrendszer
CRH	kortikotropint felszabadító hormon
EKG	elektrokardiográf
FFT	Fast Fourier transzformáció
fHF	HF-csúcs
GAS	General Adaptation Syndrome
GH-IGF-I tengely	növekedési hormon - inzulinszerű növekedési faktor-I tengely
HF	a HRV nagyfrekvenciás komponense
HF <sub>n</sub>	a HF normalizált egységekben kifejezett értéke
HPA -tengely	hipotalamusz-hipofízis-mellékvesekéreg tengely
HPLC	nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
HRV	szívfrekvencia-változékonyság
IBI	két szívciklus között eltelt idő
LF	a HRV alacsonyfrekvenciás komponense
LF/HF	az alacsony- és nagyfrekvenciás komponensek hányadosa
LF <sub>n</sub>	az LF normalizált egységekben kifejezett értéke
NN50	az egymástól 50 ms-nál nagyobb mértékben eltérő R-R-távolságok száma
pNN50	az egymástól 50 ms-nál nagyobb mértékben eltérő R-R-távolságok százalékos aránya
PNSI	paraszimpatikus idegrendszer indexe
PSD	teljesítmény-sűrűség spektrum
REM fázis	gyors szemmozgás, mély alvási fázisa
RMSSD	a szomszédos R-R-távolságok különbségeinek négyzetgyöke
RR-távolság	az EKG két szomszédos R-hulláma közötti távolság
SD1	a Poincaré-grafikon pontjainak azonosságegyenesre merőleges szórása
SD2	a Poincaré-grafikon pontjainak azonosságegyenessel párhuzamos szórása

SD2/SD1	az SD2- és SD1-mutatók hányadosa
SDNN	az R-R-távolságok teljes jelszakaszra számított szórása
SNSI	szimpatikus idegrendszer indexe
TI	a szívfrekvencia-változékonyság háromszög indexe
TINN	az R-R-távolságok háromszög-interpolációja
TP	A HRV összesített teljesítmény értékszónája
ULF	a HRV ultraalacsony-frekvenciás komponense
VLF	a HRV nagyon alacsonyfrekvenciás komponense
VO <sub>2max</sub>	maximális oxigén-felvevő képesség

## ÖSSZEFOGLALÁS

A ló- és lovassportok fejlődésével a lovak egyre nagyobb igénybevételnek vannak kitéve edzésen és versenyen egyaránt. A sok szállítás, az intenzív lótartás és a megnövekedett fizikai terhelés együttes hatása igen nagymértékű stresszt jelent az állatoknak. Mindemellett úgy tűnik a stressz-szint, a stressz-tűrőképesség és a lovak habitusa legalább annyira megmutatkozik a versenyeredményekben, mint az aktuális kondíció. Ezt figyelembe véve a teljesítményvizsgálatok során a lovak stressz-állapotának vizsgálatába kezdtünk bele.

A pulzus, illetve a teljesítményvizsgálatokon gyakran mért vérparaméterek mellett a kortizol hormon koncentrációját, illetve a szívfrekvencia-változékonyságot (heart rate variability, HRV) is vizsgáltuk.

A kutatás célja tehát a versenylovakat érő stressz mértékének vizsgálata, különös tekintettel a kortizol hormon és a HRV sportélettani szerepének felderítésére.

A vizsgálatok során alapkutatóként a szérum- illetve a nyál kortizol koncentrációjának cirkadián ritmusát írtam le. Ehhez 20 egészséges lótól vettem vér- és nyálmintát a lehető legnyugodtabb körülmények között 20 órán keresztül 2 óránként. A tanulmány megerősítette külön-külön a szérum és a nyál kortizolkoncentráció cirkadián ritmusának létezését (mindkét esetben  $P < 0,001$ ), azonban a szérum- és a nyálkortizol-koncentráció gyenge korrelációja volt csak megfigyelhető (Pearson korrelációs koefficiens 0,32;  $P < 0,001$ ).

Ezután vizsgáltam a lovak alaptermészetének hatását a fizikai aktivitás közben felszabaduló kortizolkoncentrációkra. Húsz azonos szinten versenyző, közel azonos korú, egy istállóban tartott, és egy azon tréner által edzett angol telivér lovat két csoportra osztottam a ló viselkedési mintázata alapján. A létrejött „nyugodt” illetve „nyugtalan” csoport vérkortizol-koncentrációját, annak változását mértem nyugalomban, illetve egyforma aerob terhelés során (4 mintavétel/terhelés). Nem találtam különbséget a nyugalmi szérumkortizol-koncentrációkban a két csoport között. Terhelésre mind a nyugtalan, mind a nyugodt lovak esetében megfigyelhető volt a szérum kortizol koncentrációjának növekedése. A csoportok közötti különbség már a bemelegítéskor vett minták alapján ( $P = 0,084$  és  $P = 0,141$ ) látható volt (ekkor azonban az eltérés még nem volt szignifikáns), míg a galopp fázis után 30 perccel a kortizolkoncentráció szignifikánsan magasabb volt a nyugtalan lovakban, mint a nyugodtakban ( $P = 0,036$ ). A lovak az edzésre, mint környezeti hatásra adott válaszfoka független volt tehát a terhelés intenzitásától, vagyis a habitus befolyásolhatja a kortizol válasz erősségét. Ezek alapján a kortizol hormon sportélettani jelentőségét fenntartásokkal kell kezelni.

A harmadik kísérletben az aerob, állandósult állapotban (steady state) végzett terhelés, illetve az anaerob maximális terhelés HRV mutatóit vettem össze, illetve vizsgáltam a valós versenyhelyzet mentális stressz hatását ügöző lovakban. Habár az anticipációs stressz



reakció jelenléte lovakban nem olyan egyértelmű, mint humán sportolók esetén, mégis sok jel mutat arra, hogy a lovak is tisztában vannak a versenynap kitüntetett jellegével, és a versenyhelyzet különleges pszichés stresszt jelent állatokban is. Ennek az anticipációs jelenségnek meglétét vagy hiányát HRV adatrögzítéssel vizsgáltam. A terhelés közben mért HRV mutatók relevanciája körüli tudományos ellentmondásokat is igyekeztem tisztázni.

Hét egészséges ügető mén HRV adatait rögzítettem nyugalomban, úgynevezett állandósult állapotban végzett (steady state) aerob edzésen, és 2300 m-es ügető versenyen, vagyis maximális terhelés mellett. A különböző helyzetekben mért frekvenciaanalízissel, illetve időtartományban végzett analízissel számolt mutatókat vetettem össze.

Habár a szomszédos R-R-távolságok különbségeinek négyzetgyöke (RMSSD) és a hosszútávú variabilitást kifejező SD2 sem mutatott szignifikáns különbséget a verseny reggelén egy átlagos nyugalmi reggeli méréshez képest, a többnyire szimpatikus hatások eredményeképpen emelkedő LFn érték ( $P < 0,001$ ) és a szimpatikus/paraszimpatikus egyensúlyt legjobban kifejező LF/HF ( $P = 0,009$ ) érték szignifikánsan magasabb, míg a paraszimpatikus hatások jelzőjeként értelmezhető HFn ( $P < 0,001$ ) érték szignifikánsan alacsonyabb volt a verseny előtt. Vagyis az anticipációs stressz jelenség frekvenciaanalízissel kimutatható volt a HRV alapján. További eredményem, hogy az állandósult állapotban végzett edzés során az LF/HF érték 95% eséllyel 0,98 és 1,11 közé, míg maximális terhelés mellett 0,00 és 0,24 közé esett ( $P < 0,001$ ). Vagyis az állandósult állapotban végzett edzés HRV elemzéssel is igazolható és az emberekben erős terheléskor mérhető HFn növekedés lovakban is megtörténik. Nem kizárható, hogy az LF/HF érték 1 alá esése lovakban is a légzési küszöb HRV profilját jelöli. Eredményeink alapján feltétlenül érdemes ezt egy több egyeden elvégzett, légzésfunkciókat is vizsgáló kísérlet alapján leírni. További érdekesség, hogy méréseimben a nyugalmi LF/HF egy vizsgált lovunkban sem volt 1 alatti érték ( $P < 0,001$ ), vagyis a lovakat jellemző erős paraszimpatikus túlsúly jól edzett állapotban csökken, és egy enyhe szimpatikus dominancia váltja fel.

Vizsgálataim rávilágítottak a versenylovak stressz-állapotának sportélettani jelentőségére, illetve a HRV-analízis, mint nem invazív edzés-követési lehetőség előnyeire. Reményeink szerint eredményeink közzlése felhívja a versenylovak között dolgozó állatorvosok, trénerok és zsokéok figyelmét a lovakat érő stressz csökkentésének fontosságára, illetve a tudatos edzés és edzés-tervezés szükségességére.

# 1. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

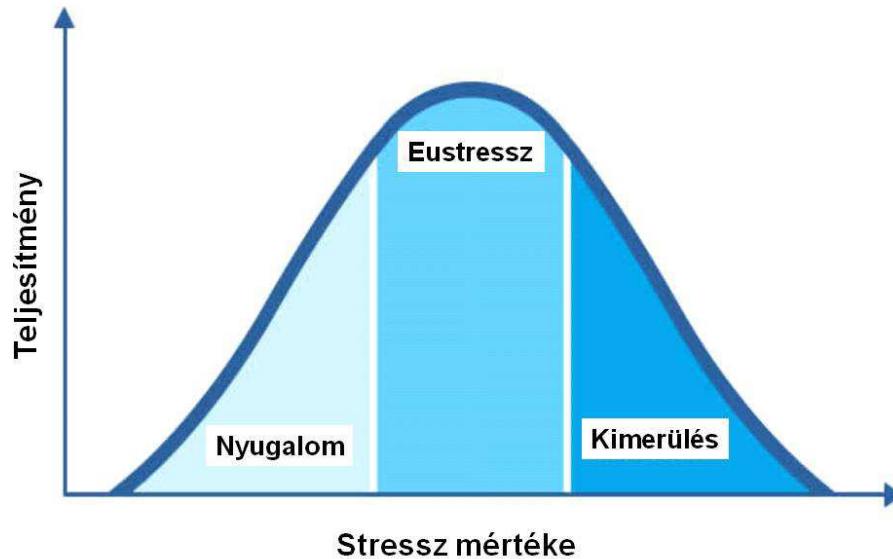
## 1.1. A stressz szerepe a ló- és lovas-sportokban

Napjainkban a versenyek számának gyarapodása, a gyakoribb szállítás és környezetváltozás a verseny- és sportlovakat egyre több stressznek teszi ki. Emellett, mivel a lovaktól kapott viselkedésbeli változások, visszajelzések megítélését nagyfokú szubjektivitás jellemzi, az optimális edzésterhelést megtalálni is sokkal nehezebb feladat, mint humán atlétáknál. A környezeti, élettani, szociális és pszichés stressz-faktorok, illetve a nem megfelelő edzőmunka együttes hatására a teljesítmény elmaradhat az elvártaktól, sőt megbetegedések is kialakulhatnak (Kuipers és Keizer 1988, De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007). Okkal feltételezhető, hogy a stressz betegségeiben nemcsak az élsportban szereplő versenylovak, hanem a mindennapos használatban levő lovak is érintettek lehetnek (Foster 1998, De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007).

A stressz jelenség a 30-as években Selye János kutatói munkássága nyomán vált ismertté (Selye 1936). A stressz a szervezet nem specifikus válaszreakciója bármilyen igénybevételre, stresszorra. Ez a bonyolult és összefüggő reakció a szervezet védekezésének szolgálatában áll, és lehetőséget teremt a harcra vagy a menekülésre (fight or flight). Selye ezt általános adaptációs szindrómának (General Adaptation Syndrome – GAS) nevezte el, és három stádiumot: riasztás, ellenállás, kimerülés különböztetett meg (Selye 1951). Selye elméletének alapját az 1. ábrán szemléltatjuk. Az első két stádium adaptív, vagyis a stresszhez való alkalmazkodásban van szerepe. A harmadik stádium a szervezet alkalmazkodó képességének kudarca, az adaptív energiák kimerülése (Selye 1950, Smith 2000). Több szerző is úgy véli, hogy a sportolóknál és versenylovaknál is gyakran megjelenő túledzettség szindróma az általános adaptációs szindróma harmadik stádiumának megnyilvánulása (Stone 1991, Foster és Lehman 1997, Keizer 1998, Smith 2000), amely az edzéseknek tulajdonítható túlzott fizikai és pszichológiai stressznek köszönhető (Smith 2000).

Amikor a szervezet egy belső vagy környezeti stresszonnal találkozik, homeosztatisz belső egyensúlya felborul. Egészséges esetben számos komplex és összefüggő élettani folyamat segítségével helyreállítja azt, sőt ezután túlkompensációba kezd. A túlkompensáció jelentése, hogy a regeneratív folyamatok a stressz-hatás után valamivel tovább is aktívak maradnak: ezt az időszakot nevezzük regenerációs, alkalmazkodási vagy túlkompensációs időszaknak. Később, ha ugyanazok a stressz tényezők újra megjelennek, az egyensúlyban létrejött zavar már sokkal kisebb mértékű lesz (Selye 1951, De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007). A túlkompensációt kiváltó hatásokat pozitív stressznek, eustressznek nevezték el (Selye 1956). Ez a pozitív stressz áll az egyre erősödő edzésintenzitás melletti fokozatos

teljesítményjavulás háttérében is.



**1. ábra: a stressz-jelenség ábrázolása Selye elmélete szerint  
(Selye 1950)**

A maximális teljesítmény eléréséhez és megőrzéséhez az aktívan versenyző lovak egész szervezetének tökéletes működésére van szükség. Ez kizárólag egy megfelelően összeállított edzésterv mellett lehetséges, amelynek célja, hogy alkalmazkodási folyamatok révén úgy fokozza a versenyző teljesítményét, hogy az a megfelelő pillanatban (verseny) maximális legyen. Ha azonban az edzés-terhelés túl nagy, ellenben a regenerációra hagyott idő túl kevés, az edzésalany krónikus túlterhelés állapotába kerül, aminek következtében az adaptációs folyamatok lelassulnak, vagy teljesen megszűnnek (De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007). Egy hosszútávú edzésprogram tehát tervezett és szervezett fizikai terheléssel járó program, amely a szervezetben krónikus adaptációt hoz létre.

Egy fajta edzésterv egy adott sportágban jelent csak teljesítménynövekedést, ez az edzés specificitás elve (De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007). Ezen túlmenően, kellő adaptáció eléréséhez a túlterhelés elvét is alkalmazni kell. A terhelésnek éppen annyival kell meghaladni az edzésalany teljesítőképességét, hogy az edzés túlkompenzációt váltson ki, vagyis hatékony legyen, de mégse tegye ki túlzott stressznek, következményesen túledzettségnek a versenyzőt (Kuipers és Keizer 1988, McArdle és mtsai. 1994). Ezt a szűk edzés-zónát megtalálni nem egyszerű, amit mi sem hangsúlyoz jobban, mint az a sok esetben csekély távolság, ami elválasztja a győzteseket a vesztesektől (Kuipers 1998). Egy

jó edzéstervben fontos emellett a regenerációra hagyott idő. Ideális esetben újabb megterhelő edzés nem következhet mindaddig, míg be nem fejeződött a túlkompensáció (Kuipers és Keizer 1988, De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007). Tudni kell tehát, hogy adott stressz után, az adott edzésalanyban mikor megfelelő a túlkompensáció és mennyi az optimális regenerációs idő (Kuipers 1998). Mindezek alapján tehát az edzés volumen és a teljesítmény-javulás közötti viszonyt egy fordított 'U'-alakú görbe jellemzi a legjobban. Az optimális edzsmennyiséget (és itt a mennyiség mind fizikai, mind pszichés értelemben értendő) elég nehéz eltalálni. Ha az átlendül a görbe csúcsán, az bizonyosan a teljesítményromlásához vezet, de könnyen hajszolhatja az edzésalanyt túledzésbe.

## 1.2. A stressz élettana

Ha az állatot stressz-hatás éri, a szervezet tehát vészreakcióba kezd. Ez a reakció élettani szempontból két főbb szakaszra osztható: katabolikus és anabolikus fázisokra.

A katabolikus fázist egyre csökkenő ellenállóképesség jellemzi, befejeződését a kifáradás jelenti. Ebben a szakaszban a két fontos hormonális tengely játszik döntő szerepet: az autonóm idegrendszer (autonomic nervous system, ANS) szimpatikus részének aktiválódásának hatására működésbe lépő szimpatiko-adrenális-mellékvese-rendszer (SAM-rendszer) illetve aktiválódik a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese (HPA)-tengely is (Armstrong és Van Heest 2002).

Az anabolikus fázisban az adaptív kapacitás megnövekedik, a teljesítmény javul. Ez a korábban említett regenerációs/túlkompensációs fázis, melyben a HPA-tengely mellett a növekedési hormon-inzulinszerű növekedési faktor-I (GH-IGF-I) tengelye, illetve hipotalamusz-hipofízis-gonadális tengely is szerepet kap (Urhausen és mtsai. 1995).

Részletesebben az első, katabolikus fázisról érdemes beszélni a stressz kapcsán. Ebben a fázisban a környezet változásaira az elsővonalbeli választ az ANS adja: a szimpatikus aktivitás hatására megnő az adrenalin, noradrenalin szintje. A katekolaminok hatására megnő a perctérfogat, a szívverésszám és a vérnyomás is. Javul az izmok vérellátása, míg az emésztés, vizelet-kiválasztás lassul. Kitérülnek a légutak, szaporábbá válik a légzés, fokozódik a vér alvadékonysága és a természetes immunitás, energiaforrásként pedig glükóz mobilizálódik.

Amennyiben a környezeti változás perzisztál vagy fenyegetőnek tűnik, akkor percek múlva a HPA-tengely válasza is kiváltódik. A HPA tengely aktiválódása nyomán a stressz serkenti a kortikotropint felszabadító (releasing) hormon (CRH), ezáltal az adrenokortikotrop hormon (ACTH) és végső lépcsőként a glükokortikoidok termelését. A glükokortikoidok többek között glikogénolízis útján emelik a vércukorszintet, illetve aminosavak felszabadításával és glükoneogenezisbe kapcsolásával biztosítják a folyamatos

energiaellátást a szervezetnek. A kortizol szerepet játszik az érzelmi szabályozásban is: magasabb dózisa depressziót okozhatnak (Pawan és mtsai. 2013).

Ha a stresszhatás nem ér véget a szervezet kifáradásakor, a stressz-reakció a kimerülés fázisába lép. Ebben a fázisban anabolikus folyamatokra, adaptációra nem lehet számítani. Az akut teljes kimerülés akár azonnali halálhoz, míg a krónikus, sorozatos kimerülés megbetegedésekhez, súlyos szövődményekhez, kiégéshez vezet (De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007).

### **1.3. A stressz mérésének lehetőségei lovakban**

Mind emberekben, mind állatokban a kortizolkoncentráció- és a szívfrekvencia-változékonyság (HRV) mérése a két legelterjedtebb módszer a HPA és az ANS stresszre adott pszicho-fiziológiai válaszána nem invazív felmérésére.

A szérumkortizol-emelkedés már régóta a HPA-tengely szabályzással kapcsolatos kutatások középpontjában áll. Egyes vélemények szerint azonban a rendszer kétirányúan reagálhat. Több humán kutatás bizonyítja, hogy a kortizol emelkedése és a HPA-tengely „szabálytalan szabályozása” összefügg a fizikai betegségekkel, az anyagcsere problémákkal és egyes kóros pszichiátriai állapotokkal, mint például a depresszió, a szorongásos rendellenességek vagy a poszttraumás stressz szindróma (Gold és Chrousos 2002, Luby és mtsai. 2002, Vanitallie 2002, Goeders 2003, Mathew és mtsai. 2003). Emberekben ezért a kortizol krónikus emelkedését és csökkenését is a stressz hosszú távú kimenetelének tekintik (Pawan és mtsai. 2013). Lovakban szintén leírtak már ellentmondásos, vagyis kétirányú HPA-reakciót: több kutatás is kimutatta, hogy túledzettség esetén az ACTH teszt során a mellékvesekéreg érzékenységének csökkenése miatt, az egészséges lovakhoz mérten csökkent kortizol emelkedés tapasztalható (Persson és mtsai. 1980, Golland és Evans 1996, Marc és mtsai. 2000). A túledzettség szindróma előrehaladott állapotában azonban az ACTH-injekcióra – a mellékvesekéreg érzékenységének csökkenése ellenére – erőteljesebb kortizol választ is kaphatunk (Bruin és mtsai. 1994). Ennek magyarázata a hipofízis érzékenységének csökkenése. Az emelkedő ACTH- és kortizolkoncentráció negatív visszacsatolás elvén egészséges lóban leállítja a további ACTH és következményes kortizoltermelést, míg túledzett lóban ez a negatív feedback jóval lassabban és gyengébben alakul ki, így ugyanolyan mennyiségű ACTH tovább stimulálja a mellékvesekéreg kortizoltermelését.

Habár a kiemelt ellentmondások fényében a kortizol megbízhatatlan stressz paraméternek tűnhet, körütekintő használata a mai napig javasolt és széles körben alkalmazott módja a stressz-kutatásoknak.

A stressz-kutatások másik gyakran alkalmazott módja a vegetatív idegrendszer monitorozásán alapszik. A vágusz tónus a paraszimpatikus idegrendszer funkcionális státuszát jellemzi, amelyet az érzelemszabályozás és az izgalom pszicho-fiziológiai markerének tekintenek (Porges 1995, Porges, 2001). A paraszimpatikus idegrendszer működése összefügg a figyelem, az érzelem és a viselkedés szabályozásával. A HRV mérését széles körben alkalmazzák az ANS működésének vizsgálatára, különösen a szimpatikus és a paraszimpatikus aktivitás egyensúlyának kimutatása céljából. A HRV emberekben és állatokban egyaránt képet ad az érzelmi szabályozási stratégiákról és a pszichológiai, illetve környezeti stresszorok hatásairól (von Borell és mtsai. 2007, Santucci és mtsai. 2008)

#### **1.4. A kortizol hormon**

A kortizol hormon igen sokoldalú mediátora a szervezetnek. A hormon szervezeten belüli hatásköre is igen tág, és a kortizolelválasztást előidéző tényezők sora is meglehetősen hosszú. Ahogy már korábban leírtuk, minden stressz-hatás a szervezetben kortizolelválasztást eredményez. A felszabaduló CRH az ACTH elválasztását, az pedig a glükokortikoidok termelését váltja ki. Lovakban a három legfontosabb glükokortikoid a kortizol, a kortizon és a kortikoszteron, melyek 16:8:0,5 arányban vannak jelen a vérplazmában (Zolovick és mtsai. 1966). Mindhárom glükokortikoid molekula prekursora a koleszterin, termelésükért a mellékvesekéreg *zona fasciculata* és a *zona reticularis* sejtjei felelnek. Mivel a legnagyobb arányban jelen lévő és ezáltal legfontosabb glükokortikoid emberekben és lovakban is a kortizol, így a legtöbb tudományos kutatás ezzel foglalkozik. A felszabadult kortizol 1%-a változatlan formában a vizelettel ürül, 20%-a a vesében a 11-hidroxiszteroid-dehidrogenáz hatására kortizonná alakul. A kortizon nagy része és a maradék kortizol a májban inaktiválódik, tovább metabolizálódik, majd mint 11-oxi-17-ketoszteroid, szabad formában vagy glükuronsavval, illetve kénsavval konjugálva a vizelettel ürül (Zolovick és mtsai. 1966).

A kortizoltermelés szabályozásával kapcsolatban fontos megemlíteni továbbá, hogy emberekben és lovakban is (Alexander és mtsai. 1996, Keizer 1998) a hipofízis hátulsó lebenyében (neurohipofízis) termelődő vazopresszin szintén jelentősen befolyásolja az ACTH-termelést. A végtermékként felszabaduló kortizol, a közvetlen negatív visszacsatolás elvén hat a hipotalamuszra és csökkenti a CRH termelését. A növekedő kortizolkoncentráció okozta negatív hatásra a neurohipofízis érzékenysége azonban lényegesen alacsonyabb, mint az ACTH-t termelő adenohipofízisé, így a vazopresszin-termelés nem csökken olyan intenzíven, ami a további ACTH- és kortizoltermelést nagyban befolyásolhatja.

Több kutatás is vizsgálta a különböző stresszorok hatására fellépő általános stresszreakció folyamatát emberekben és lovakban is. Humán kísérletek több esetben is azt találták, hogy a stresszreakció mértéke függ a stresszor jellegétől: számottevő mellékvesekéreg-aktivitást csak új (Rose 1980), kiszámíthatatlan (Mason 1968), vagy veszélyes (Dienstbier 1989, Blascovich és Tomaka 1996) hatások váltottak ki. Mindemellett fontos tényező, hogy a kortizol nagyobb része a vérben a transzkortinhoz, egy speciális kortikoszteroid-kötő globulinhoz (corticosteroid-binding-globulin, CBG) vagy albuminhoz kötve kering. Mindössze az össz-kortizol 5%-a található meg szabad kortizolként. A valós biológiai hatásokért azonban mégis kizárólag a szabad kortizol felelős (Alexander és Irvine 1998).

A legtöbb laboratóriumi módszer kizárólag a szérum össz-kortizol meghatározásra alkalmas. A szabad kortizol koncentráció megállapításának egyik módja az össz-kortizol és a CBG mennyiségi meghatározását követően, a szabad kortizol index kiszámolása. Az ily módon meghatározott érték azonban nem megbízható, mivel figyelmen kívül hagyja a kötési jellegzetességek egyének közötti eltéréseit, illetve a mérésekből fakadó lehetséges hibák összeadódhatnak. Egy lovakon végzett kísérletben például kimutatták, hogy a szociális stressz csökkenti a kortizol CBG-hoz való kötődési hajlamát. Vagyis a kortizol hatása erősödhet változatlan össz-kortizol koncentráció mellett is (Alexander és Irvine 1998).

A szabad kortizolkoncentráció direkt mérése sokkal korszerűbb és pontosabb megoldás, viszont ahhoz, hogy a mérés során ténylegesen csak a szabad frakciót határozzuk meg, a minta előkészítést a fehérjék mechanikai eltávolításával kell kezdeni. Fehérjementes oldat egyensúlyi dialízissel vagy ultrafiltrációval állítható elő. Utóbbihoz egy membránszűrő szükséges, melynek molekulatömeg cut-off értéke meghaladja az analit tömegét, de kisebb a CBG és az albumin molekulatömegénél. Ez a módszer a legtöbb laboratóriumban nem elérhető.

A szabad kortizolkoncentráció meghatározásának humán gyakorlatban használt egyszerű módja a nyál-kortizol mérés. A kortizol hormon ugyanis a nyálba is kiválasztódik és a nyál-kortizol koncentrációja emberekben arányos a plazmában keringő szabad kortizol koncentrációjával. A nyálmirigyekben a kortizol – lipid-oldékonyságánál fogva – szabadon és gyorsan diffundál az acináris sejteken keresztül, ezért a nyál-kortizol néhány perc alatt equilibriumba kerül a plazma szabad kortizol frakciójával, és így koncentrációja nem függ a nyáltermelés ütemétől. A nyál-kortizol emberekben a szérum-kortizol biológiailag aktív, szabad frakciójának pillanatnyi koncentrációját tükrözi (Carroll és mtsai. 2008).

Lovakban a nyál és a vér kortizol koncentrációja közötti összefüggés még nem tisztázott.

### 1.4.1. A kortizol sportélettani szerepe

A lehetséges stresszhatások palettáján kiemelt helyen szerepel a fizikai munkavégzés. A szervezetet külső ingerként éri a fizikai igénybevétel, mint élettani folyamat. Emellett azonban minden esetben számolni kell egy pszichikai hatással is, mely az aktuális kedvtől, felkészültségtől, a munkavégzés típusától és még számos más külső és belső tényezőtől is függ. Egy edzés tulajdonképpen élettani, szociális, pszichológiai és környezeti stresszorok együttese (Kuipers és Keizer 1988). Éppen a folyamat ilyen mértékű összetettsége teszi a kortizol sportélettani szerepének vizsgálatát a tudományág egyik legizgalmasabb szegmensévé. Noha, ahogy a későbbiekben részletezem is, lovakon több kísérlet nyomán is született már publikáció a jelzett témakörben, egyetértés mindössze annyiban alakult ki, hogy fizikai munkavégzés hatására lovakban is emelkedik a kortizol koncentrációja. A kortizol emelkedés pontos kiváltó okáról, mértékéről vagy üteméről végleges álláspont egyelőre nincs.

A kortizol hormon hatósugara a szervezetben szinte határtalan. Ahogy már részben említettük, katabolikus-, anti-anabolikus- és anabolikus folyamatokban egyaránt részt vesz (1. táblázat).

**1. táblázat: A kortizol hormon legfontosabb hatásai fizikai terhelés esetén (De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007. nyomán)**

<b>KORTIZOL HATÁS FIZIKAI TERHELÉSKOR</b>		
<b>Katabolikus hatás</b>	<b>Anti-anabolikus hatás</b>	<b>Anabolikus hatás</b>
- elágazó láncú szabad aminosav mennyiségének növelése fokozott fehérjebontás révén ↓ energiaforrás terhelés alatt, fehérjeszintézis alapanyaga az alkalmazkodási időszakban	- egyes szövetek glükóz felhasználását gátolja ↓ energiaforrást "spórol" a központi idegrendszer számára	- glükoneogenezis fokozása ↓ energiaforrás termelése

A fizikai munkavégzés során a kortizol központi feladata a fehérjebontás serkentése és a rendelkezésre álló glikogén takarékos beosztása. Az izommunkával felhasználódó ATP (adenozin-trifoszfát) pótlásához szubsztrátokat (főként szabad zsírsavakat és szénhidrátokat) mozgósít, anabolikus hatásként pedig fokozza a glükoneogenezist. A



sportélettanban több területen is megjelenő „újraelosztási folyamat-ot” is megfigyelhetünk kortizol hatásra. Míg munkavégzés során a növekvő szimpatikus és csökkenő paraszimpatikus tónus az erek összehúzódása által a nagyobb igényű szövetek felé irányítja a vért (Bohak és mtsai. 2009), addig a kortizol ehhez hasonlóan egyes szövetek glükóz felhasználásának csökkentése árán is biztosítja a központi idegrendszer vércukor-ellátását. A hormon legfontosabb katabolikus hatása az elérhető szabad aminosav mennyiségének növelése. Az elágazó láncú szabad aminosav megfelelő energiaforrás, ha a vércukor már nem elegendő az oxidatív folyamatokhoz. A terhelés végeztével, az úgynevezett alkalmazkodási időszakban pedig, a felgyülemlett nagy mennyiségű szabad aminosav lesz a fehérjeszintézis legfontosabb alapanyaga (Mayer és mtsai. 1976, Simmons és mtsai. 1984). Ennek a jelentőségét emeli ki egy patkányokon végzett kísérlet. Patkányokban kimutatták ugyanis, hogy az alkalmazkodási időszakban történő RNS-szintézis mértéke közvetlen kapcsolatban van a teljesítőképesség növekedésével (Virus és Smirnova 1985). Terhelés során a kortizol további fontos feladata a katekolamin előállítás támogatása (Matlina 1984), illetve a gyulladáscsökkentő és immunszuppresszáns hatás (McKeever 2002, Guyton és Hall 2006).

#### **1.4.2. Akut terhelés hatása a szérumkortizol-koncentrációra**

Az ACTH és a kortizol koncentrációja megerőltető és hosszantartó fizikai munkavégzés hatására is emelkedik. Az emelkedés mértékére hivatalos referencia nincs, de nagy intenzitású, ám rövid ideig tartó terhelés végére lovakban több kutatás is 25-40 % körüli szérumkortizol-koncentráció emelkedést ír le (Church és mtsai. 1987, Martinez és mtsai 1988, Gordon és mtsai. 2007). Hosszabb ideig tartó szubmaximális terhelésre akár 2-3-szoros kortizolemelkedés is kialakulhat (McKeever 2002). A témával foglalkozó vizsgálatok során nem minden esetben találtak közvetlen összefüggést az ACTH és a kortizol növekedési üteme között (Nagata és mtsai. 1999), amely tény csak tovább erősíti a munkavégzés speciális stresszor szerepét. Szintén kérdéses, hogy a kortizolkoncentráció emelkedése függ-e egyáltalán a terhelés mértékétől (Jimenez és mtsai. 1998, Nagata és mtsai 1999). Egy ügetőkön végzett kísérlet során a terhelés intenzitása, és az elért vénás plazma laktát koncentráció sem mutatott szignifikáns összefüggést a kortizolemelkedéssel (Jimenez és mtsai. 1998). Humán kísérletekben, fokozott mellékvesekéreg aktivitást csak anaerob munkavégzés során (Vanhelder és mtsai. 1985), vagy legalább a maximális oxigénfelvevő képesség ( $VO_{2max}$ ) 60%-ának elérése után (Kraemer és mtsai. 2002) mutattak ki. Más vizsgálatokban lovaknál és embereknél is azt találták, hogy a szérumkortizol-koncentráció emelkedése sokkal inkább függ a munkavégzés időtartamától, mint a terhelés-intenzitástól (Snow és Rose 1981, Kindermann és mtsai. 1982, Naveri 1985, Valberg és Gustavsson 1989, Linden és mtsai. 1991, Desmecht és mtsai. 1996, Jimenez és mtsai.

1998, Nagata és mtsai. 1999, Kędziński és Cywińska 2014). Kędziński és mtsai. (2014) távlovagló versenyen induló úgynevezett távlovak és galoppfutamokon induló, úgynevezett versenylovak terhelés utáni kortizol-értékeit hasonlították össze. A távlovak vérkortizol-koncentrációja magasabbra emelkedett a munka végére. Valberg és mtsai (1989) ügetőket vizsgáltak futópádon. Ugyanazon lovakban a kortizol koncentrációja kevésbé emelkedett meg gyors, de rövid ideig tartó galoppozás közben, mint 55 perc lassú ügetés alatt. Kimutatták emellett, hogy a kortizol nem a munka legvégén tetőzik, hanem a terhelés végeztével tovább emelkedik. Ugyanezt állapították meg futópádon vizsgált telivérekben is. A kortizol 10-15 perccel a munkavégzés után volt a legmagasabb (Lindner és mtsai. 2000). A fent hivatkozott már publikált vizsgálatok alapján az feltételezhető tehát, hogy egy adott mértékű terheléshez, adott mennyiségű kortizol elválasztása szükséges, melynek előteremtéséhez a könnyen aktiválható kortizol raktárak (mellékvesekéreg, inaktív kortizon aktiválása, albuminhoz gyengén kötött kortizol leválása stb.) kimerülése után a szervezetnek időre van szüksége. Igazán erős igénybevétel esetén tehát a szervezet nem képes az edzés ideje alatt elérni a kívánt kortizolkoncentrációt, a stressz hatás így a munka végezte után továbbra is kihat. Közepes intenzitásnál a munka végére már felszabadul a kívánt mennyiségű kortizol, így további növekedés nem mérhető, míg enyhe edzés során már a munkavégzés kezdeti fázisában kialakul az igénybevételhez szükséges kortizolkoncentráció. Más vizsgálatok szerint a kortizolkoncentráció tetőzésének időpontja és mértéke mindezek mellett függ a ló korától és versenytapasztalatától is (Malinowski 1987, Malinowski és mtsai. 2006, Ferlazzo és mtsai. 2012). A sok ellentmondást figyelembe véve az sem zárható ki, hogy a kortizol nem hozható összefüggésbe a terhelés mértékével, időtartamával, és egy eddig nem vizsgált körülmény okozza a rendre különböző mértékű kortizolemelkedést. A különböző vizsgálatok során tapasztalt kortizolkoncentráció emelkedést a 2. táblázatban foglaltuk össze.

**2. táblázat: A terhelésre adott kortizol választ vizsgáló legfontosabb kutatások eredményei egészséges és túledzett lovakban. (TE= terhelés előtt; TE%= a terhelés előtti érték hány %-os emelkedése, ugró: díjugratás, távlov: távlovaglás)**

<b>Referencia</b> (legfontosabb körülmények)	Terhelés előtt /TE/ (nmol/l)	Terhelés után (max. 15 perc anaerob terhelés) (nmol/l vagy TE%)	Terhelés után (min. 15 perc, főként aerob terhelés) (nmol/L vagy TE%)	Terhelés előtt (túledzettég esetén) (nmol/l)	Terhelés után (túledzettég esetén) (nmol/l)
Golland et al. 1996. (futópad)	<b>209,5 ± 16,8</b>	<b>321± 20,5</b>		<b>190,8 ± 23,5</b>	<b>245 ± 17,0</b>
Desmecht et al. 1996. (versenyen)	ugró: <b>61,3±11,9</b> military: <b>106,3±9,1</b> ügető: <b>97,2±11,0</b> galopp: <b>77,6±5,5</b> távlov.: <b>99,1±13,2</b>	urgó: <b>+ 72±19 %</b> military: <b>+ 78±14 %</b> ügető: <b>+ 109±28 %</b> galopp: <b>+ 147±18 %</b>	távlov: <b>+ 176±41%</b>		
Jimenez et al. 1998. (futópad)	<b>kb. 200-260</b>	<b>+ 26 %</b>			
Hamlin et.al. 2002. (ügető)	<b>187</b>	<b>300</b>		<b>128</b>	<b>224</b>
Cravana et al. 2010. (ugró edzés/verseny)	edzés: <b>112,16 ±53,58</b> verseny: <b>99,66±15,78</b>	<u>10 p munka után:</u> edzés: <b>160,84±21,65</b> verseny: <b>128,06±64,54</b> <u>30 p munka után:</u> edzés: <b>140,28±19,01</b> verseny: <b>127,58± 27,27</b>			
Kedzierski et al. 2014. (galopp)	<b>249 ± 83.4</b>	<b>335 ± 88.5</b>			
Kedzierski et. al. 2014. (galopp vs. távlovaglás)	galopp: <b>218±14,43</b> távlov (60 km): <b>235,15±43,6</b> távlov. (120km): <b>276±57,68</b>	galopp: <b>325±15,24</b>	távlov. (60km): <b>380,88±19,87</b> távlov. (120km): <b>499,56±77,3</b>		

### **1.4.3. A kortizol és az edzettség összefüggése**

A fizikai aktivitás során kialakuló szérumkortizol-koncentráció változást nem csak az adott terhelés tükrében vizsgálták. Habár a legtöbb vizsgálat arra jutott, hogy a kortizol a munkavégzés intenzitásának közvetlen meghatározására nem használható, a ló vagy a humán sportoló edzettségi állapotának felmérésében fontos mutató lehet. Számos kísérletet végeztek annak felderítésére, milyen hatással van egy hosszútávú edzésprogram a kortizolelválasztásra akár nyugalomban, akár a munka során. Az eredmények azonban ebben a témában sem egyeznek. Humán vizsgálatokban a rendszeres edzés nyomán létrejövő alkalmazkodási folyamat hatására a HPA-tengely aktivitása a mellékvesekéreg érzékenységének csökkenése által visszaesett. Vagyis ezekben a sportolóknak munkavégzés után magasabb ACTH mellett mérték ugyanazt a kortizolt, mint a kontroll csoportban (Duclos és mtsai. 1998). Jól edzett lovakban ezzel szemben éppen változatlan ACTH mellett mérték alacsonyabb terhelés utáni kortizolt, mint edzetlen társaikban (Marc és mtsai. 2000). Szintén lovakban egy másik vizsgálat nem talált különbséget a kortizol értékek között az edzett és edzetlen csoportban, de a jól edzett lovakban munka után a kortizol gyorsabb ütemben csökkent, mint a kontroll lovakban (Snow és Mackenzie 1977). Malinowski és mtsai (1987) ügetőket vizsgáltak 21 hetes edzésprogram során. A munka-végi kortizol nem változott a teljesítőképesség növekedésével. Petrusse és mtsai (2015) különböző edzettségi szinten lévő telivérek vér eredményeit vetették össze, és arra jutottak, hogy a tapasztaltabb, régebb óta munkában lévő telivérekben kisebb a munkavégzés okozta kortizolemelkedés mértéke, mint újonc társaikban. Bár több kutatás is leírta, hogy a ló teljesítőképessége felmérhető a kortizolválasz alapján, a sok ellentmondó eredmény miatt még nem terjedt el ez a módszer. A valódi használhatósághoz, esetleges referenciák felállításához további vizsgálatok szükségesek.

### **1.4.4. A versenysport pszichés hatása**

A fizikai terhelés kitüntetett helyzetben van a stresszorok között, hiszen a terhelés okozta fizikális hatások mellett a körülmények és a hozzáállás emocionális hatásai is szerepet kapnak. Versenysportok esetén ez hatványozottan így van. Humán és lovas kísérleteket is végeztek már a versenyhelyzet fizikai és pszichikai hatásainak elkülönítése céljából.

Becker-Birck és mtsai (2013) a nyál kortizolkoncentrációját vizsgálták díjugratásban és díjlovaglásban versenyző lovakban egy három napos verseny során. A kortizol napi ritmusát nem befolyásolta a versenyhelyzet, de közvetlenül a versenyszám előtt emelkedett nyál-kortizol koncentráció volt mérhető mindkét sportág lovaiban. Egy másik kísérletben a vér kortizol emelkedése nem különbözött versenyen és edzés közben, de versenyhelyzetben lassabban csökkent vissza az eredeti értékre a verseny lezajlása után (Cravana és mtsai.

2010.). Szintén mások összehasonlították díjugratásban és díjlovaglásban versenyző lovak mellékvesekéreg aktivitását versenyen és otthoni körülmények között. Mindkét sportág lovaiban magasabb volt a munka végén kapott kortizol a versenyen, mint nyugodt környezetben, sőt díjlovakban már a verseny előtt is emelkedett érték volt mérhető (Cayado és mtsai. 2006). A versenytapasztalat pozitív hatása is kimutatható volt lovakban (Linden és mtsai. 1991, Cayado és mtsai. 2006), de leírtak olyan eredményt is, ahol nem különbözött a tapasztaltabb ugrólovak kortizol koncentrációja az újoncokétól (Fazio és mtsai. 2008). Lewinski és mtsai. (2013) a lovak és a lovasok stressz reakcióját is vizsgálta nyilvános szereplés alkalmával és nyugodt környezetben. Nem talált különbséget az értékek között. Póló pónikban a verseny utáni kortizolkoncentráció csak 22 °C környezeti hőmérséklet fölött különbözött az átlagos edzés utáni értéktől (Malinowski és mtsai. 1993).

A kortizolkoncentráció összefüggéseiről lényegesen kevesebb irodalom érhető el versenylovak esetében, mint sportlovaknál, holott a lóversenyzés köztudottan jelentős stressznek teszi ki a lovakat. Martinez és mtsai (1988) ugyan vizsgálták a telivérek verseny utáni biokémiai paramétereit, de nem használtak nyugodt körülmények között dolgozó kontroll csoportot. A kortizol 25%-kal emelkedett a futam végére. Humán sportolóknál jól ismert az úgynevezett anticipációs stressz reakció, vagyis a verseny közeledte olyan erős pszichés hatással van a versenyzőre, hogy már az kiváltja a stressz-reakciót (Starcke és mtsai. 2008, Edwards és Kurlander 2010, Preuss és mtsai. 2010). Versenylovakban ezt a jelenséget eddig nem vizsgálták.

## **1.5. A szívfrekvencia-változékonyság**

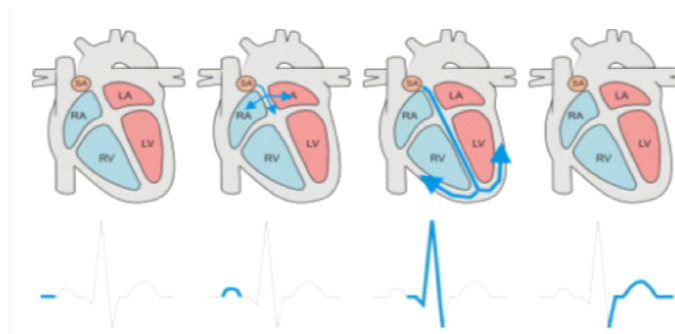
A szívfrekvencia-változékonyságnak (HRV) nevezzük azt az élettani jelenséget, miszerint a szívverések – egészséges szív működés esetén – a hallható ritmusosság ellenére, szabálytalan időközönként követik egymást (Lewis és mtsai, 2007). Ezt a szabálytalanságot/változékonyságot az ANS leszálló (efferens) és felszálló (afferens) ágainak összehangolt működése, illetve más mechanikai, hormonális és élettani mechanizmusok együttes jelenléte határozzák meg (Tóthné Maros és mtsai, 2010). A változékonyság egy általános alkalmazkodóképességként fogható fel, melynek célja a kardiovaszkuláris paraméterek optimális tartományban tartása, még változó külső és belső feltételek és kihívások esetén is.

A HRV jelenségét Hales és mtsai. már 1733-ban kimutatták, mikor is felfedezték a kapcsolatot a légzési ciklus, a vérnyomás és a két szívverés között eltelt idő között. Fontos mérföldkő volt ezután, mikor 1965-ben Hon és Lee rögzíteni tudták magzati distressz során a HRV változást még azelőtt, hogy a szívverésszám megváltozott volna. Az elmúlt évszázadban végül a HRV elemzés egyre fontosabb részesévé vált a humán

gyógyászatnak, mára pedig az állategészségügyben is egyre gyakrabban használt vizsgálati módszer.

### 1.5.1. A HRV elemzése

A szívfrekvencia változékonyság elemzés az elektrokardiográffal (EKG) rögzített hullám R-csúcsai között mért távolságok időtartambeli különbségeinek leíró módszere (Kjellgren és Gomes 1993). Az egyes szívösszehúzódások ugyanis nem pontosan azonos időben követik egymást. Az elektrokardiogramon a kamrai összehúzódást az R hullám jelöli, vagyis a két egymás melletti R-csúcs közötti távolság ezt az időbeni változékonyságot megfelelően jelzi. Ez a távolság, mint időintervallum milliszekundumban (ms) is leírható, ezen adatok sokasága pedig különböző szempontok szerint elemezhető (2. és 3. ábra).



**2. ábra: A szívösszehúzódás leképezése az elektrokardiogramon**



**3. ábra: RR intervallumok részletes megjelenítése egy ember élettani légzése során rögzített EKG felvételen (Breitenbach 2013)**

Itt fontos kiemelni, hogy a „HRV-elemzés” kifejezést, mint a stresszmérés általános lehetőségét egyre gyakrabban halljuk mind közéleti, mind tudományos fórumokon. Az ilyen általánosítás ellenére sem szabad megfeledkezni azonban arról, hogy a megnevezés mögött minden esetben egy konkrét HRV-paraméter vizsgálata áll. Márpedig a HRV-indexek egymástól igen eltérő összetevőkből állnak és igen eltérő módon számolhatók ki, vagyis a

HRV-analízist egy bizonyos mértékű szubjektivitás mindig jellemzi. Erre a kísérlet-tervezés, és az elemzés megtervezése során is kiemelt figyelemmel kell lenni, hogy a lehető leginkább sztenderd és összehasonlítható eredményeket produkálhassuk egy kutatási folyamat során.

A hagyományosan használt HRV-paraméterek módszertani szempontból időbeli különbségek alapján (időtartományban végzett elemzés – time domain analízis) illetve az RR-távolságkülönbségek teljesítményeloszlása alapján (spektrális/frekvenciatartományban végzett elemzés – power-spektrum domain analízis) elemezhetőek, míg fiziológiai szempontból a pillanatnyi, a cirkadián és az össz-HRV írható le a vizsgált egyedről (Berntson és mtsai. 1997, Esperer 1992, ESC-NASPE Task Force 1996).

A sporttudományban a 24 órás kardiológiai HRV-felvételeket felváltotta a néhány perces, néhány órás nyugalmi, vagy terheléses HRV idősorok elemzése (Goldsmith és mtsai. 1992, Bondaduce és mtsai. 1998). Mindezt az egyre kisebb méretű, sport közben, sőt versenyen is észrevétlenül viselhető mérőeszközök teszik lehetővé. Ezek a műszerek EKG alapú RR intervallum idősorokat rögzítenek, mérési pontosságuk megközelíti a nagy felbontású EKG készülékek által leírt eredményeket (Ruha és mtsai. 1997, Kinnunen és Heikkilä 1998, Loimaala és mtsai. 1999, Radespiel-Troger és mtsai. 2003, Marchant-Forde és mtsai. 2004).

### **1.5.2. Időtartományban végzett elemzés**

A HRV időtartományban végzett elemzése során az RR-távolságokat – ahogy korábban is említettük – ms-ban kifejezett időintervallumokként írjuk le és változékonyságukat statisztikai, illetve geometriai módszerekkel értékeljük. A módszer tehát a kapott idősorokat elemzi. A szakirodalomban R-R és N-N intervallumot is találunk az elemzés alapját adó adatsor gyanánt, de ez csak az egységes nomenklatúrát zavarja össze, gyakorlati jelentősége nincs. Az N-N távolság jelentése ugyanis „normál-normál intervallum” és az EKG hullámon két egymást követő QRS komplex távolságára utal. A QRS komplex a simus csomó depolarizációját fejezi ki (Uhlendorf 2009), az R-hullám a kamrai összehúzódást jelöli, de az egymást követő szív ciklusok közötti idő leírása szempontjából mindegy melyiket vizsgáljuk, mindkét módszer ugyanolyan eredményt ad. A ms-ban leírt távolságokat egyes tanulmányokban 'inter beat interval' (IBI)-ként említik (Gehrke és mtsai. 2011).

#### **1.5.2.1. SDNN**

Az SDNN (Standard deviation of average NN) az egymás utáni ciklushosszak különbségeinek szórását fejezi ki, vagyis a variancia négyzetgyöke. Mivel tehát az SDNN számítása matematikailag megegyezik a már említett, de később szintén kifejtésre kerülő spektrumanalízis során számolt összteljesítménnyel, így elmondható, hogy az SDNN tükrözi

a rögzített időszak változékonyságáért felelős összes ciklikus komponenst. Ez egy 24 órás felvétel esetén nagy előny, hiszen mind a magas, mind a nagyon alacsony frekvenciájú teljesítmény-komponenst figyelmebe veszi. A felvétel rövidülésével azonban csökken a variancia (ESC-NASPE Task Force 1996), vagyis elmodható, hogy az SDNN függ a vizsgált időtartam hosszától, így különböző hosszúságú szakaszok összehasonlítására nem alkalmas. Az SDNN paraméter hatékony alkalmazásához sztenderdizálni kell a HRV felvételek hosszát, legyen az 5 perces rövid, vagy 24 órás hosszú vizsgálat.

#### 1.5.2.2. *RMSSD*

Az intervallum-eltérésekből származó leggyakrabban használt módszerek közé tartozik az RMSSD (Root mean square of successive differences between adjacent RR-intervals), az egymást követő RR-intervallumok négyzet-átlagának a négyzetgyöke, gyakorlatilag a szomszédos RR-intervallumok különbségének effektív értéke. Ez a paraméter azt fejezi ki, hogy a szívfrekvencia mennyire változik egyik szívverésről a következőre (Malik 1996). Mivel az RMSSD jó jelzőszáma a vágusz tónus aktivitásában bekövetkező változásoknak (von Borell és mtsai. 2007), igen gyakran használt mutató a háziállatokon végzett stresszvizsgálatokban.

#### 1.5.2.3. *NN50 és pNN50*

Azon RR-intervallumok (vagyis NN-intervallumok) mennyisége, illetve százalékos aránya a vizsgált szakaszon, amelyek legalább 50 ms-mal különböznek az előzőtől. Mivel a lovak nyugalmi pulzusa jóval alacsonyabb az emberénél, így lovakban az NN100 illetve pNN100 értékek használata célszerűbb. Értelemszerűen ez a szomszédos NN-intervallumtól legalább 100 ms-mal különböző tartományok számát, ill. százalékos arányát jelenti az adott szakaszon. Egészséges lóban ez az érték körülbelül 200 NN100/óra (emberben 200 NN50/óra) (Bowen 2011). Mivel ezek az értékek nagyban függenek az aktuális pulzustól, így ez a mutató csak nyugalmi pulzus mellett használható. Az NN és pNN értékek az RMSSD-hez hasonlóan a HRV nagyfrekvenciás eltéréseiből erednek, így e három mutató rövidebb felvételek elemzése esetén is nagyban korrelál egymással.

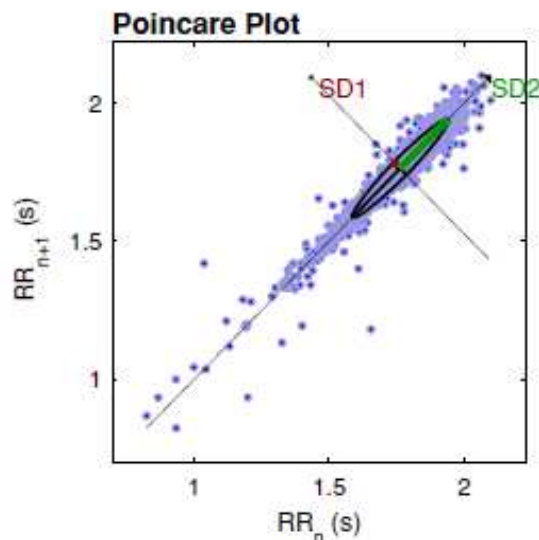
#### 1.5.2.4. *Geometriai elemzés*

A geometriai elemzés során az összegyűjtött RR-intervallum adatokat geometriai formában fejezzük ki. Ez tulajdonképpen két egymást követő RR-intervallum vagy azok különbségeinek vizuális megjelenítése. Humán elemzésekben a két leggyakrabban használt geometriai leképezés: a „háromszög index” (triangular index, TI), és a „Poincaré-diagram” (Tarvainen és mtsai. 2014).



A háromszög index az összes RR-intervallum száma osztva a sűrűségeloszlás maximális értékével. Megjeleníti a pulzusszám általános variabilitását. A TI módosított változata az RR-intervallum hisztogramjának háromszög interpolációján az eloszlás alapvonal szélességének meghatározása (TINN) (Yi és Malik 2003, Carvalho és mtsai. 2011). Lovakban ritkán használt mutató, és csak minimum 60 perc hosszúságú felvétel esetén alkalmazható (Bowen 2011).

A Poincaré-diagram grafikusán írja le a két egymást követő RR-intervallum korrelációját, vagyis a diagramon minden RR-intervallum a következő RR-intervallum függvényében jelenik meg. Elemzésének egyik leggyakrabban alkalmazott módja az 'ellipszistechnika', amely során az ellipszist egy ún. azonosság egyenesre (az X és az Y tengely metszéspontjából kiinduló, azokkal 45°-os szöget bezáró egyenes) fektetjük. Az SD1 az azonosság egyeneshez képest nézett merőleges, rövidebb tengely, az SD2, az azonosság egyenessel párhuzamos tengely. Az SD1 rövid távú-, az SD2 hosszú távú változékonyságot tükröz. Az SD2/SD1 a két tengely egymáshoz viszonyított arányát mutatja, ami matematikailag egyenértékű az LF/HF-paraméterrel (később), és azzal szoros korrelációban is van (Guzik és mtsai. 2007), így gyakran alkalmazzák a szimpatoparaszimpatikus egyensúly leírására (Toichi és mtsai. 1997). Ha a Poincaré-diagram kicsi és kerek, akkor magasabb pulzusszám-változékonyságot feltételezünk (Breitenbach 2013). A 4. ábrán egy Poincaré-diagram látható, mely egy ló enyhe terhelés során rögzített HRV adatai mutatja be.



#### 4. ábra: Az egymást követő R-R-távolságok leképezése Poincaré-grafikonnal

SD1 (standard deviation 1): az azonosság egyenesre merőleges szórás, SD2 (standard deviation 2): az azonosság egyenessel párhuzamos szórás, s: secundum

(a Kubios 2.2 HRV elemző szoftver eredménytáblája)

A geometriai módszerek legnagyobb előnye abban rejlik, hogy nem kifejezetten érzékenyek az RR-sávok analitikus minőségére, vagyis rosszabb minőségű felvételek elemzésére is alkalmazhatók. Legnagyobb hátrányuk viszont, hogy megfelelően nagy számú RR-intervallumra van szükség a geometriai mintázat kialakításához. A gyakorlatban legalább 20 perces (de lehetőleg 24 órás) felvételeket kell alkalmazni a geometriai módszerek megfelelő működésének biztosítása érdekében, vagyis a jelenlegi geometriai módszerek nem alkalmasak a HRV rövid távú változásainak értékelésére (Malik és mtsai. 1993).

### 1.5.3. Frekvenciatartományban végzett elemzés

A HRV idő-paraméterei mellett, a nagyfokú technológiai fejlődés lehetővé tette egyes frekvencia-paraméterek számítását is, amely az RR-intervallumok távolságait a különböző szakasztávolságok gyakoriságának tolmácsolásával fejezi ki, a teljes sáv szélesség egységenkénti teljesítményét méri. Az elemzés során a bonyolult HRV-hullámformát ritmusos komponensekké választják szét. Először egy speciális szoftver a rögzített RR-intervallum adatsort az idő függvényében ábrázolja, és egy ún. kardiotachogramot készít, majd az RR-intervallumok ciklikus ingadozását ez alapján spektrális elemzéssel számszerűsíti. Spektrális elemző módszerként lovakban a gyors Fourier transzformációt (Fast Fourier Transformation, FFT) vagy az autoregressziós technikát alkalmazzák leggyakrabban (Niskanen és mtsai. 2004, Kleiger és mtsai. 2005, Stucke és mtsai. 2015). A hullámformák szétválasztásának menetét és a spektrális eredmények grafikus megjelenését az 5. ábra érthetően szemlélteti.

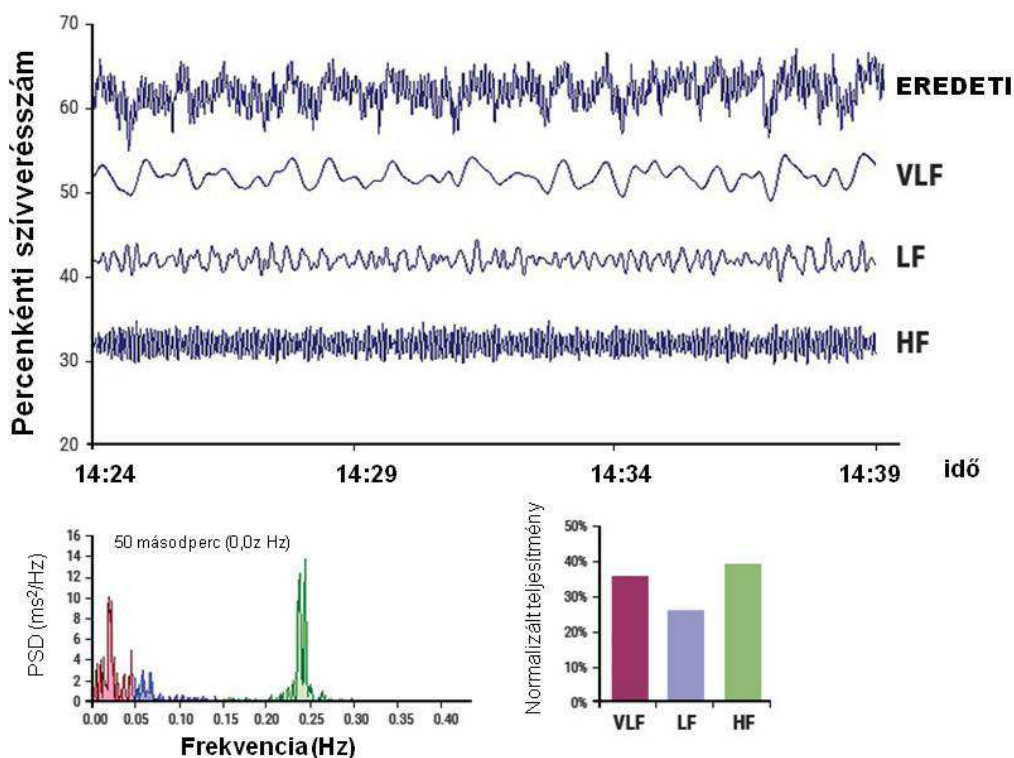
Az FFT csak a struktúrájától függő adathosszokat képes feldolgozni. HRV-elemzés előtt ezért az IBI adatok interpolált újramintavételezése szükséges. A mintavételezési törvény kimondja, hogy egy jel konzisztens mintavételezéséhez az szükséges, hogy a mintavételezési frekvencia a jelben előforduló legnagyobb frekvenciakomponens kétszeresénél nagyobb legyen. Az újramintavételezés során ezt figyelembe kell venni, a tétel megsértésekor ugyanis egyes rövidhullámú komponensek az alacsony frekvenciás régióba szóródnak, meghamisítva ezzel a feldolgozás eredményét. Az újramintavételezést a HRV elemző szoftver megfelelő beállítások mellett elvégzi helyettünk, általában  $f_0=4\text{Hz}$  alapfrekvenciát használva.

A FFT így képes a periodikusnak tekintett jelek felbontását elvégezni, azonban további probléma lehet, hogy egy tetszőlegesen kivágott regisztrátum részletének eleje és vége csak ritkán csatlakozik folytonos jelleggel. A fellépő ugrás az ismétlődően folytonosnak képzelt minta szélei között a Fourier-térben nagyfrekvenciás komponenseket azonosít, melyek a mintavételi törvényt szintén megsérthetik. Ablakfüggvények (Hanning, Hamming, Barlett, Blackmann stb.) alkalmazásával a széleken a minta eltűnővé tehető.

Az autoregressziós spektrumanalízis hasonlóan az FFT-hez felbontja a jelet frekvenciatartományokra, de kevésbé érzékeny a szabálytalan, vagy a mérési hibákból eredő jelekre, mely a szűrő és simító algoritmusoknak köszönhető (ESC-NASPE Task Force 1996)

Az FFT módszerrel elért eredmények általában grafikusán fejeződnek ki. A függőleges tengelyen megtalálható a teljesítmény-sűrűség spektrum (power spectral density, PSD), a vízszintes tengelyen a változások előfordulási gyakorisága, frekvenciája látható. A HRV frekvencia analízise során a jel erőssége különösen érdekes az előre meghatározott frekvenciasávokon belül, vagyis bizonyos időközönként szakaszosan mérik a PSD görbe alatti terület nagyságát. Ezeket a frekvenciatartományokat az autonóm idegrendszer komponenseinek farmakológiai, vagyis kísérletes blokkolásán alapulva (Kuwahara és mtsai. 1996, Bowen és Mar 1998) határozták meg, és különböző állatfajok esetében változhatnak. Leggyakrabban embereken és lovakban három tartományt választanak el: magas frekvenciazóna (high frequency, HF), alacsony frekvenciazóna (low frequency, LF), és nagyon alacsony frekvenciazóna (very low frequency, VLF). Egyes szerzők ezenkívül ragaszkodnak még az ultra alacsony frekvencia (ultra low frequency - ULF) jelenlétéhez is, de ez a mutató jellegéből adódóan csak minimum 24 órás felvétel alapján számolható (ESC-NASPE Task Force 1996, Tulppo és Huikuri 2004). Az LF és a HF aránya (LF/HF), valamint az összesített értékzóna (total power, TP) szintén gyakran számolt paraméter. A HF és az LF értékeit ki lehet fejezni normalizált egységekben is (HF<sub>n</sub>, LF<sub>n</sub>), amelyek az egyes komponensek arányát jelentik a TP-hez képest, mínusz a VLF komponens (ESC-NASPE Task Force 1996, Achten és Jeukendrup 2003).

A frekvenciatartományban végzett elemzési módszer gyakorlati jelentősége, hogy általa elvben elkülöníthetők a neuroendokrin rendszer különböző behatásai, leképezhető a szimpatikus és paraszimpatikus idegrendszer aktuális egyensúlyi állapota (Pomeranz és mtsai. 1985).



**5. ábra: tipikus HRV felvétel egy egészséges emberről nyugalmi körülmények között. A felső görbe mutatja az eredeti HRV hullámformát. Alatta látható a spektrális szűrési technikákkal szétválasztott VLF, LF és HF hullámforma. Az ábra alján a teljesítmény spektrum (balra) és a százalékos teljesítmény (jobbra) látható.**

### 1.5.3.1. Magasfrekvenciás teljesítmény tartomány (HF)

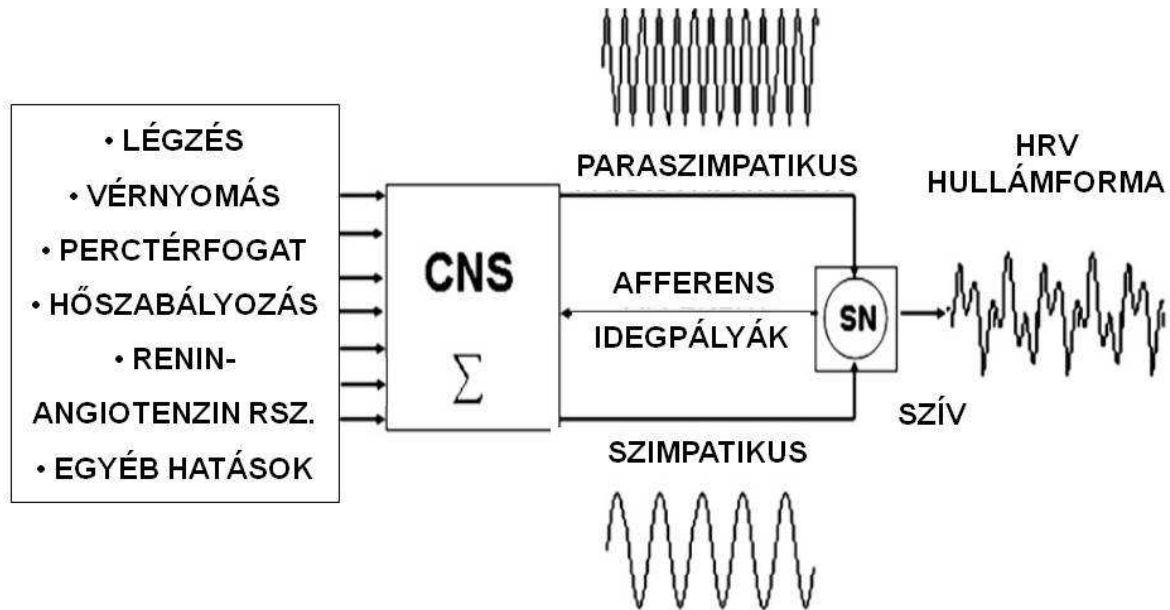
A szívverésszámban bekövetkező leggyorsabb változások mindig a megváltozott vagustónusnak köszönhetőek. A szinuszcsomó a vagus hatásokra már 1-2 szív ciklussal később reagál, a változások azonban rövid életűek. A szív szempontjából egy vagus-impulzus kb. 5 másodperces ciklusként fogható fel (Hainsworth 1995). A HF tartományt tehát, a paraszimpatikus idegrendszer határozza meg (Bowen 2011). Fontos megemlíteni azonban, hogy a paraszimpatikus HF értéket leginkább a légzéssel párhuzamosan lezajló oszcilláció eredményezi (Kardos és Gingl 1994), amely a gyorsan ismétlődő, rövid ciklusidejű légzési szinusz-aritmia jelenségének következménye (Hirsh és Bishop 1981, Fleisher 1996). Beléggzéssel rövidülnek, kiléggzésnél nőnek az RR-távolságok. A légzésszám változásával így tehát a szinusz-aritmia megfelelő spektrális értékek is változnak, azaz a HF kisebb légzésszámnál kisebb, nagyobb légzésszámnál nagyobb értéket vesz fel. Ezért a percenkénti légzésszámot figyelembe kell venni, amikor a HF-komponens helyét meghatározzuk a HRV elemzésekor. Emberekben ez a tartomány: 0,15-0,40 Hz, míg az alacsonyabb nyugalmi légzésszámú lovakban ugyanezt 0,07-0,6 Hz (Stucke és mtsai. 2015)

illetve 0,13-0,26 Hz között határozták meg (von Borell és mtsai, 2007). Kérdés emellett, hogy terhelés közben, vagyis emelkedett légzésszám mellett rögzített felvételek elemzésekor, hogy érdemes eljárni. Emberekben erős terhelés mellett mért adatok esetén a HF tartományt akár 1-1,5 Hz-ig is kiterjesztik (Taylor és Eckberg 1996). Lovakban a terhelési HF-tartományt 0,2-fmax Hz között határozták meg (Cottin és mtsai. 2005), ahol az fmax az RR-jel mintavételi skálája által indukált maximális frekvencia. VLF-tartományt terhelés mellett nem tartanak számon. Minderre a későbbiekben részletesebben is kitérünk.

#### 1.5.3.2. Alacsonyfrekvenciás teljesítmény tartomány (LF)

A szimpatikus idegrendszer behatásai valamivel később érik el a szívverésszámra gyakorolt végleges hatásukat. Legalább 5 másodperc telik el, míg bármi változás megkezdődik, 20-30 másodperc, mire a csúcértéket eléri a szívverésszám, majd a hatás további 5-10 másodpercig áll fenn. Összességében tehát kb. 30-40 másodpercig is eltarthat egy „szimpatikus impulzus” lezajlása (Hainsworth 1995, Malliani 1995). Az LF-komponenst ennek megfelelően a szimpatikus irányítás markereként emlegetik (Physick-Sheard és mtsai 2000, Bachmann és mtsai 2003, Rietmann és mtsai. 2004a,b). Meg kell említeni azonban, hogy az LF pontos meghatározása némileg ellentmondásos. Egyes szerzők ugyanis azt találták, hogy az LF tükrözi mind a szimpatikus, mind a paraszimpatikus szabályzást, az LF-csúcs kísérleti eltüntetéséhez ugyanis mind szimpatikus béta-blokád, mind paraszimpatikus blokád szükséges volt. (ESC-NASPE Task Force 1996, Kuwahara és mtsai. 1996, Houle és Billmann 1999). Nagy valószínűséggel a háttérben az áll, hogy ha a légzési sebesség lelassul, a vagus aktivitás könnyen létrehozhat LF-tartományba eső oszcillációkat a szívritmusban (Ahmed és mtsai. 1982, Tiller és mtsai. 1996, Lehrer és mtsai. 2003). Egyes számítások szerint a légzéssel kapcsolatos efferens vagus hatások emberekben akkor lehetnek jelen az LF frekvencia sávjában, ha a légzésszám legalább 7 másodperces periódus alatt 8,5 légzés/ percre lassul, vagy mikor az egyén mély levegőt vesz, sóhajt (Brown és mtsai. 1993, Tiller és mtsai. 1996). Habár erre irányuló kutatásokat még nem végeztek, minden bizonnyal a megállapítás matematikailag lovakra is igaz. Viszont mivel lovakban a 8,5/perces légzésszám korántsem ritka, így joggal feltételezhető, hogy az LF frekvencia tartomány lovakban valóban vegyes, szimpatikus és paraszimpatikus hatás alatt áll. Emberekben az LF tartományt: 0,04-0,15 között határozták meg, míg lovakban több tartományt is használnak: 0,01-0,07 Hz (Stucke és mtsai. 2015), 0,04-0,2 (Cottin és mtsai. 2005).

A kardiovaszkuláris szabályozás és a HRV hullám összefüggéseit a 6. ábra mutatja be.



**6. ábra: A kardiovaszkuláris szabályozás és a HRV hullám összefüggése (von Borell és mtsai. 2007)  
CNS - központi idegrendszer; SN - szinuszcsomó**

### 1.5.3.3. Nagyon alacsonyfrekvenciás teljesítmény tartomány (VLF)

A kifejezett szimpatikus és paraszimpatikus impulzusokon kívül előfordul még lassabb ciklusokat előidéző egyéb élettani behatás is, melyek teljes skálája egyelőre tisztázatlan. Úgy tartják, hogy a szív működésre gyakorolt 30 másodperc-től akár 5 percre is terjedő reakciókért leginkább a hőszabályozó mechanizmusok, a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, illetve más hormonális hatások felelnek, de még ennél is hosszabb ciklus-hullámok is kialakulhatnak például az aktuális testtartásból adódóan (Bowen 2011). Újabb kutatások arra jutottak, hogy emberekben a Föld mágneses terének állapota, ill. az úgynevezett mágneses viharok is nagyban befolyásolják a VLF-tartomány teljesítményét (Oinuma és mtsai. 2002). Mások szerint a VLF-t maga a szív diktálja, a VLF egy az általános egészségi állapotra és közérzetre utaló belső ritmus (Kember és mtsai. 2001). Ezt a feltevést kísérletek is alátámasztják, ugyanis a szimpatikus blokádnak nem érinti a VLF tartományt. A VLF-tesztelés teljesen lebévult emberekben is változatlan maradt, holott ezen egyéneknél a szív és a tüdő szimpatikus beidegzése is zavart szenvedett (Berntson és mtsai. 1994).

A VLF tartomány (<0,04 Hz) és az ULF tartomány (<0,003 Hz) eredete tehát vita tárgya (ESC-NASPE Task Force 1996, Carter és mtsai. 2003). Emberekben sokszor úgy kezelik, mint a szimpatikus és paraszimpatikus idegrendszer együttes aktivitását tükröző teljesítmény-zóna (Kardos és Gingl 1994, Cerutti és mtsai. 1995.) Mind a VLF, mind az ULF tartomány csak hosszú, pl. 24 órás felvétel esetén értékelhető önmagában, rövidebb méréseknél csak az LFn és HFn normalizált értékeinek kiszámolásában van szerepe.

#### 1.5.3.4. LF/HF arány

Az LF és HF arányt a szimpatikus - paraszimpatikus egyensúly mutatójaként tartják számon (Achten és Jeukendrup 2003). Ez a megállapítás egyes kutatók javaslataként jött létre, sokan mégis fenntartásokkal kezelik. Még ha a szimpatikus és paraszimpatikus aktivitás állandó kölcsönhatásban is van, nincsen fundamentális bizonyíték arra, hogy azok valódi egyensúlyban volnának. Yamamoto és mtsai. (1991) ezen kívül bevezették a paraszimpatikus idegrendszer indexét (PNSI = HF [%]) és egy szimpatikus idegrendszeri indexet (SNSI = LF / HF teljesítmény). Egyes forrásokban ezekkel a mutatókkal is találkozhatunk.

#### 1.5.4. Elemzési módszerek összehasonlítása

Egy kísérlet során a mintavételezés időtartamát és a mintavételi körülményeket a kutatás célja, jellege, illetve az elemzési módszer statisztikai szempontból vett sajátosságai együttesen határozzák meg. Egy biztos, minden körülmények között sztenderdizálni kell a felvételek hosszúságát.

Rövid távú vizsgálatok során a frekvenciatartományban történő elemzést előnyben részesítik az időtartományban történő elemzéssel szemben. Megfelelő jelstabilitás mellett a felvételnek legalább 10-szeres hosszúságúnak kell lennie a vizsgált komponens alacsonyabb frekvenciájú hullámhosszáénál. Így körülbelül fél perc felvétel szükséges a HRV HF komponenseinek felmérésére és kb. 1 perc az LF összetevő reális megjelenítéséhez. Ettől függetlenül a humán gyakorlatban - hacsak a tanulmány nem követel meg kifejezetten mást- a különböző vizsgálatok szabványosítása érdekében rövid időtartamú HRV vizsgálatok esetén mindig 5 perces felvételek elemzését mutatják be. Lovakban a frekvenciatartományban történő elemzés használatához - ha megvalósítható - még pontosabb szakasz-meghatározást adtak meg. A sztenderd 5 perces felvételek helyett fix elemszám (1024 RR-intervallum) spektrális feldolgozása ad nagy biztonsággal hiteles, más kísérletekkel is összehasonlítható eredményt mind a magas, mind az alacsony frekvenciatartományban (Bowen 2011). Az ajánlástól függetlenül, nincs bizonyítva az sem, hogy ennél rövidebb szakasz nem adhat megfelelő információt a HRV spektrális elemeiről.

Hosszabb időszakok vizsgálatának egyik módja az egymást követő 5 perces időszakokból származó spektrális paraméterek átlagolása. Ezzel elvben minimalizálhatók a nagyon rövid szegmensek elemzéséből adódó hibák. Mindazonáltal, ha az adott állapotot meghatározó fiziológiai hatások természete és mértéke a hosszabb felvétel közben megváltozik, az ilyen átlagolt spektrális komponensek értelmezése megintcsak kérdéses lehet. Úgy tartják az egymást követő legalább 4 db 5 perces intervallum átlagolása jó eséllyel megjeleníti az adott időszak egyensúlyi állapotát (ESC-NASPE Task Force 1996).

A hosszútávú felvételek egyben történő elemzése esetén a szívrítmus moduláció alacsonyabb stabilitása miatt a spektrális módszerek eredményei kevésbé értelmezhetők (ha mégis ilyen szerene használni a vizsgáló, akkor esetleg az autoregresszív spektrum analízis adhat eredményt), de az időtartományban történő elemzés ilyenkor a leginkább választandó módszer. Mindazonáltal ez nem jelenti azt, hogy hosszabb adatsor spektrális módszerekkel történő feldolgozása felesleges. 24 órás humán felvételek spektrális elemzése (Furlan és mtsai. 1990, Malliani és mtsai. 1991) során derült ki ugyanis, hogy a normalizált egységekben kifejezett LFn és HF<sub>n</sub> értékek napi, egymással ellentétes cirkadián mintázatot mutatnak. Nappal magasabb LF, míg éjszaka magasabb HF mérhető. Ugyanezt a jelenséget már minidisznokban is kimutatták (Kuwahara és mtsai. 1999a), míg lovakban bár szintén megjelent diurnális ingadozás, mind az LF, mind a HF magasabbnak bizonyult éjszaka (Kuwahara és mtsai. 1999b). Az egész 24 órás periódus egyetlen spektrumát elemezve, vagy egymást követő rövidebb időszakok spektrális értékeit átlagolva ezek a minták észrevétlenek maradtak volna. Szóval, habár a hosszú távú felvételek esetén a HF- és LF-komponensek az autonóm idegrendszer aktuális állapotának kifejezésére kevésbé alkalmasak, statisztikai szempontból a spektrális adatok is vizsgálhatók. Mindemellett tudni kell, hogy a nappali és éjszakai időszakok az időtartományban elemzett HRV értékek jelentős részét is befolyásolják, így ezeket a felvételeket érdemes úgy elkészíteni, hogy legalább 18 órányi adatot tartalmazzanak, amely az egész éjszakát is felöleli (ESC-NASPE Task Force 1996).

### **1.5.5. A HRV szerepe a sporttudományban**

#### *1.5.5.1. A nyugalmi HRV és a sport összefüggései*

A HF nyugalmi értékét a sporttudományban az általános állapot jelzőjeként is értékelik (Cole és mtsai. 1999). Mind emberekben, mind lovakban nyugalmi állapotban a szimpatikus-paraszimpatikus egyensúly tekintetében egyértelműen a vagus tónus (HF-frekvenciatartomány) dominál (Kuwahara és mtsai. 1996). Az akut fizikai megterhelés ezzel ellentétben az autonóm egyensúly ellenkező irányú elmozdulásával jár: a testmozgás szimpatikus túlsúlyt eredményez. Ez HRV mutatók alapján nem mindig mutatható ki egyértelműen (Iellamo 2001), de általában a TP, az LF és a HF-értékek csökkenése mérhető (Thayer és mtsai. 1997, Physick-Sheard és mtsai. 2000, Visser és mtsai. 2002). Edzés után a rövid- és középtávú (5-120 perces) levezetés, helyreállítódás (recovery) alatt a HRV paraméterek (a lecsökkent TP, LF és HF értékek egyaránt) ismét emelkedni kezdenek. A hosszútávú (24-72 órás) regeneráció során végül a vagus dominancia helyreáll, sőt emberekben a korábbi fejezetekben már említett túlkompensáció is megjelenik: a nyugalmi HF tartomány meghaladhatja az edzés előtti értéket (Hautala és mtsai. 2001, Mourots és



mtsai. 2004). Terhelés hatására humán sportolóknál tehát rövid távon az autonóm idegrendszer a szimpatikus szabályozás irányába mozdul el (Baumert és mtsai. 2006), hosszútávú eredményként azonban a HF növekedésére számíthatunk. Hogy ez a növekedés (és az ezzel párhuzamos nyugalmi pulzusszám csökkenés) megvalósul-e, elsősorban a terhelés intenzitásától függ (Okazaki és mtsai. 2005). Emberekben például minimum heti 120 perc, a  $VO_{2max}$  75%-át meghaladó terhelésintenzitás szükséges 3 hónapon át a várt eredmény eléréséhez. Mindazonáltal az eredményesség korfüggő is. Fiatalokkal végzett humán kísérletekben rendszeres aerob edzőmunkával 4 hét alatt már szignifikáns HF emelkedés volt kimutatható (Sandercock és mtsai. 2005), míg idősebbekben kérdéses, hogy egyáltalán befolyásolható-e még az autonóm idegrendszer nyugalmi egyensúlya (Hottenrott és mtsai. 2006). Úgy tűnik, emberekben bizonyos ideig a koraal növekszik a HRV-válaszkészsége, majd 70 éves kor körül egy blokáad alakul ki a szinuszcsoadó reakciókészségben (Perini és mtsai. 2002). Lovakban a kor és a HRV összefüggéseit még nem vizsgálták megfelelő pontossággal, de egyes tanulmányok mellékes eredményei arra utalnak, hogy az RMSSD nyugalmi értéke a koraal csökken (Younes és mtsai. 2016).

Egyelőre úgy tűnik, hogy lovakban más a helyzet a terhelés okozta HRV változások terén is. Lovakkal végzett vizsgálatokban az LF és az LF/HF arány (szimpatiovagális egyensúly) az edzettséggel együtt nőtt, míg a HF egyáltalán nem változott (Kuwahara és mtsai. 1999, Hada és mtsai. 2006). Arra következtettek, hogy a lovakban erősen domináló nyugalmi paraszimpatikus aktivitás már edzetlen lovakban is eléri maximumát, nem emelhető tovább.

#### *1.5.5.2. HRV változás túlterheléskor, túledzettség*

Krónikus túlterhelés vagy egyszeri extrém intenzitású munkavégzés a HRV beszűküléséhez vezethet. A HF ebben az esetben csökken, az LF/HF nő, sőt, az időtartományban elemzett mutatók csökkenése is mérhető. Jól edzett extrém sportolóknál ez a hatás késleltethető, de a szervezett teljesítőképességének sokszoros túllépése végül minden esetben a HRV csökkenését eredményezi (Borbalk és Bauer 2001, Hautala és mtsai. 2001). Szándékosan túlterhelt humán sportolóknál az RMSSD értéke szignifikánsan csökkent az edzésprogram során, holott az alanyok mégcsak nem is kerültek végül a túledzettség állapotába, csak az „overreaching” néven ismert rövid távú túlterheltség alakult ki náluk (Baumert és mtsai. 2006). Érdekes, hogy ez a kimutatható emelkedett szimpatikus aktivitás nem mindig jár a nyugalmi pulzus növekedésével. Lehetséges, hogy ilyen extrém körülmények között összességében csökken a szinuszcsoadó érzékenysége az autonóm idegrendszer mindennemű behatására (Goldberger és mtsai. 2001).

### 1.5.5.3. HRV mérés lehetőségei terhelés közben

Annak ellenére, hogy a testmozgás, mint körülmény nem éppen kedvez a pontos HRV adatrögzítésnek, mégis szignifikáns összefüggést találtak humán sportolóknál a terhelés alatti HRV mutatók és egyes küszöbértékek (pl. aerob-anaerob küszöb) között (Tulppo és mtsai. 1996, Cottin és mtsai. 1999, Anosov és mtsai. 2000, Berbalk és Bauer 2001). A szimpatoparaszimpatikus egyensúly eltolódás lovakban és emberekben is két fázisra bontható: a munka kezdete után közvetlenül az artériás baroreceptorok ingerlése által gátlódik az efferens vagus aktivitás (ez lovakban kb. 100-120/perces értékig felelős a pulzusnövekedésért), majd tartós és növekvő terhelésre az efferens szimpatikus aktivitás növekedni kezd, így érhető el a pulzusmaximum (Robinson és mtsai. 1966, Orizio és mtsai. 1988, Kuwaara és mtsai. 1996, Physick-Sheard és mtsai. 2000, Iellamo 2001). A két fázis aránya nagyban függ a terhelés-intenzitástól és ahogy említettük, nem mindig írható le hitelesen HRV mutatókkal (Aubert és mtsai. 2003). HRV mutatók tekintetében a legtöbb szerző az összesített teljesítmény értékzóna, illetve az LF és HF abszolút értékének csökkenését írja le akut testmozgás közben úgy lovakban (Thayer és mtsai. 1997, Physick-Sheard és mtsai. 2000, Visser és mtsai. 2002), mint emberekben (Arai és mtsai. 1989, Shin és mtsai. 1995ab, Macor és mtsai. 1996, Cottin és mtsai. 1999, Bartels és mtsai. 2004). A normalizált LFn és HF<sub>n</sub> értékek, illetve az LF/HF arány kapcsán az eredmények ellentmondásosak. Néhány tanulmány kimutatta, hogy növekvő intenzitású munkavégzés a HF<sub>n</sub> kis mértékű illetve az LFn kifejezett növekedésével jár (Yamamoto és mtsai. 1992, Nakamura és mtsai. 1993, Casadei és mtsai. 1996, Gregoire és mtsai. 1996, Macor és mtsai. 1996). Más kutatók úgy találták, hogy a terhelés növekedése nem okoz változást az LFn és HF<sub>n</sub> értékekben, sőt az LF/HF hányados csökkenésére is lehet számítani (Tulppo és mtsai. 1996, Warren és mtsai. 1997, Cottin és mtsai. 1999, Perini és mtsai. 2002, Hautala és mtsai. 2003, Bartels és mtsai. 2004, Pichon és mtsai. 2004). Mindazonáltal egyes szerzők a  $VO_{2max}$  70%-át meghaladó terhelésintenzitás esetén a spektrális HRV paraméterek értékelhetőségét, így az autonóm funkciók leképezhetőségét teljes egészében megkérdőjelezi (Casadei és mtsai. 1995, Warren és mtsai. 1997, Cottin és mtsai. 1999, Pichon és mtsai. 2004). Ennek hátterében legfőképp a megemelkedett légzésszám vagus-szerű hatása áll. Belégzéskor csökken a mellűri nyomás, ezáltal nő a vénás visszaáramlás, visszatelik a jobb kamra, a szinus csomó megfeszül, aktivitása nő, ezáltal emelkedik a szívverésszám. Kilégzéskor ennek ellenkezője történik, vagyis a pulzus csökken (Rowell 1993). Úgy tűnik ez a jelenség okozza a HF teljesítmény-zónát nagyban befolyásoló légzési szinusz-aritmiát, vagyis a simus csomó tulajdonképpen egy feszítési receptorként (stretch receptor) is üzemel (Kohl és mtsai. 1992). Ez a gyakorlatilag teljes egészében mechanikus, non-neurális szabályozás nyugalmi állapotban a HRV analízis szempontjából elhanyagolható, csak a HF-tartományt befolyásoló tényező. Terhelés alatt azonban úgy

tűnik, a jelenség hatásfoka egyre nő, végül szinte egészében elnyomja az autonóm idegrendszer neurális impulzusait (Cottin és mtsai. 2004). Szívátültetett egyéneknél például az autonóm beidegzés hiányosságai miatt a nyugalmi HRV összes paramétere meglehetősen alacsony az egészséges emberekhez képest, míg erősebb terheléskor a HF érték nem különbözik a két csoportban (Arai és mtsai. 1989, Bernardi és mtsai 1990). Így már a kutatásonként más és más eredményt adó LFn és HFn értékek is megmagyarázhatók. A terhelés okozta szimpatikus túlsúly élettani módon emeli az LFn értéket egészen a légzési küszöbig, ahol azonban a légzésszám drasztikusan emelkedni kezd és a fenti okok miatt hamar HFn túlsúly uralkodik el. Emberekben ez a jelenség olyan pontosan mérhető volt, hogy az LF/HF arányt a légzési küszöb meghatározására is használják. Az LF/HF minden esetben magasabb volt, mint 1 enyhe terhelés esetén, és minden esetben alacsonyabb volt mint 1, a légzési küszöböt meghaladó terheléskor. Vagyis az LF/HF érték 1 alá esése emberekben jelzi a légzési küszöb elérését (Cottin és mtsai. 2004). Lovakban, mivel erős megterhelésre a légzésszám és a légzési térfogat az emberekhez hasonló módon emelkedik (Pelletier és mtsai. 1995, Padilla és mtsai. 2004) valószínűsíthető, hogy ugyanez a helyzet áll fenn. Az LF/HF és a légzési küszöb összefüggéséről ilyen pontos meghatározást lovakban még nem írtak le, de az alap jelenséget már kimutatták, miszerint 120-130/perc-es szívverésszám felett, a HRV-t elsősorban nem neurális mechanizmusok határozzák meg (Physick-Sheard és mtsai. 2000). További kérdéseket vet fel a humán eredmények átvihetőségéről a lovak jármódjainak változása. Tudvalevő, hogy a lovak vágta és gyors ügetés jármódban is a lépésszámmal igazodó egyedi légzési mintázatot vesznek fel (Art és mtsai. 1990), ami adott esetben a növekvő terhelés ellenére a légzésszám visszaesését is jelentheti (Padilla és mtsai. 2004). Ez pedig a fentiek alapján vélhetőleg szintén hatással van a terhelési HRV adatokra.

#### *1.5.5.4. Edzéstervezés a HRV adatok alapján*

Az eddig összefoglalt ismeretek alapján egyre több humán sportoló kezdte rögzíteni HRV adatait (Kiviniemi és mtsai. 2007). Kiviniemi és mtsai (2007) tanulmányában mindennapos mérés mellett a reggel magas HF értéket mutató egyének erősebb intenzitású edzést-, míg az alacsony HF értéket produkáló sportolók enyhe edzésnapot vagy pihenőnapot tartottak. Azok a sportolók, akik ezt a módszert használva, a HRV alapján határozták meg az edzéstervüket, jobb teljesítményt mutattak, mint azok a sportolók, akiket a szokásos, általános edzésprogrammal képeztek. Lovakban ilyen irányú kísérletet még nem írtak le.

A kifáradás HRV profilját viszont lovakban és emberekben is vizsgálták már: az eredmények egybevágnak. Az RMSSD (ami ugye érzékeny a HRV nagyfrekvenciás eltéréseire, vagyis a HF-hez hasonlóan nagyban befolyásolja a légzési ritmus) és az SD2 (az

RR-moduláció hosszú távú változékonyságát tükrözi, vagyis inkább LF jellegű) jóval alacsonyabb volt egy 75 km-es sífutó verseny utáni éjszakán, mint a versenyt megelőzőn (Hautala és mtsai. 2001). A szerzők megállapították, hogy e két mutató a kifáradás, vagyis a domináns vagus-hatás elmaradásának jelzője lehet. A két paraméter csökkenését emberekben kísérletesen előidézett teljes vagus blokádnak (atropin infúzió), illetve terhelés alatt (100%  $VO_{2max}$  felett) kialakult paraszimpatikus gátlás mellett szintén kimutatták (Tulppo és mtsai. 1996). Terhelés alatt ügetőkben és távlovokban is leírták az RMSSD és az SD2 értékének csökkenését a terhelés időtartamának / ismétlésszámának növekedésével párhuzamosan (Cottin és mtsai. 2006, Younes és mtsai. 2016). Sőt, távlovokban a magasabb RMSSD értékkel célba ért lovokban a pihenés kori pulzusszám-csökkenés üteme gyorsabb volt, ami a távlovaglás sportágában a versenyszabályzat miatt kiemelt fontosságú szempont (Younes és mtsai. 2016). Úgy tűnik tehát, hogy az RMSSD és SD2 értékek lovokban is a kifáradás jelzői lehetnek, így rendszeres HRV méréssel a teljesítménycsökkenés is időben észrevehető, illetve az edzésterv is az adott ló teljesítőképességéhez igazítható.

#### **1.5.6. A HRV szerepe a stressz-vizsgálatokban**

A szívfrekvencia variabilitás vizsgálatokat mind emberekben, mint állatokban széles körben alkalmazzák a stressz és fájdalom szintjének számszerűsítésére is. Fontos leszögezni azonban, hogy mivel ANS válasz több külső ingerrel is előidézhető, a HRV egyelőre csak ellenőrzött kísérleti körülmények között alkalmazható a fájdalom vagy stressz közvetett indikátoraként (Rietmann és mtsai. 2004ab).

A stressz többnyire a szimpatoparaszimpatikus egyensúly szimpatikus irányba történő elmozdulását eredményezi (von Borell és mtsai. 2007). Stressz hatására csökken a HF teljesítmény, és emelkedik az LF illetve az LF / HF arány (takarmány megvonásos stressz-teszt: Bachmann és mtsai. 2003, Nagy és mtsai. 2009; kényszerített hátralépés: Rietmann és mtsai. 2004b). A lovakkal végzett vizsgálatokban meglehetősen nehéz sztenderd kísérleti körülményeket elérni, ezért az ANS-szabályozás egymással összevethető és ismételtető leképezése továbbra is nehézségekbe ütközik. A lovakkal végzett stressz tesztek HRV elemzése sok esetben nem vezetnek statisztikailag szignifikáns eredményre (temperamentum stressz teszt: Eager és mtsai. 2004, Minero és mtsai. 2006; szállítási stressz: Ohmura és mtsai. 2012, Munsters és mtsai. 2013, lovas alatti stressz: Matsuura és mtsai. 2010, Zebisch és mtsai. 2013, Christensen és mtsai. 2014).

A fájdalom emberekben és más állatokban is - az egyéb forrású stresszhez hasonlóan - LF/HF emelkedést és HF csökkenést, vagyis a paraszimpatikus aktivitás csökkenését eredményezi (von Borell és mtsai. 2007). Mindazonáltal lovokban a fájdalom forrása is befolyásoló tényezőnek bizonyult: herélés után szimpatikus, míg a szem műtéti

eltávolítása után paraszimpatikus túlsúly volt kimutatható (Rietmann és mtsai. 2004a, Oel és mtsai. 2010).

## 2. VIZSGÁLATAIM CÉLJA, HIPOTÉZISEIM

A leírt irodalom alapján megfogalmazódott bennem, hogy habár a szérum- illetve nyálkortizol-koncentráció mérése, és a HRV-elemzés egyaránt használatos fizikai és mentális stresszhelyzetek vizsgálatában, a fizikális terhelés élettani hatása, illetve az emocionális befolyás egyik mérési mód esetében sincs megfelelően elkülönítve. Ez a tudományos hiányosság persze nem véletlen, hiszen e kettő egyértelmű szétválasztása a jelenlegi ismeretek alapján nem is lehetséges. Fő célom mégis az volt, hogy lépéseket tegyünk a mentális és fizikális stressz okozta változások feltérképezése és különválasztása területén.

A versenyhelyzet okozta mentális stressz hatását, illetve a lovak általános érzelmi állapotát kívántam részletesebben vizsgálni. A terhelés közbeni HRV elemzés körüli kérdéseket kívántam tisztázni. Emellett úgy ítélem meg, a lovak vér- és nyálkortizol-koncentrációnak napi ingadozásának jelenléte, mértéke, üteme és összefüggése sem egyértelműen leírt, vitathatatlan tény, úgy gondoltam alapkutatóként ezt is érdemes újvizsgálni.

1. Célom tehát a szérum- és nyálkortizol-koncentráció cirkadián ritmusának leírása lovakban. Ehhez megfelelő egyedszámmal, sztenderd körülmények között, precízen és megfelelő mintaszámmal végzett kísérlet elvégzése szükséges.

- Hipotézis: humán eredmények alapján a lovakon végzett kísérletek ellentmondásai ellenére azt feltételezem, hogy mind a szérum, mind a nyál kortizol koncentrációjának cirkadián ritmusa, mind a kettő korrelációja - a vér szabad kortizol tartalmának nyálba történő gyors kiválasztódása miatt - kimutatható lesz.

2. Ezután vizsgálni kívánom a lovak érzelmi, mentális állapotának, jellemének, habitusának hatását a fizikai aktivitás közben felszabaduló kortizol mértékére.

- Hipotézis: Haszonállatokban már több területen kimutatható volt a teljesítmény és a habitus összefüggése. Habár a sportteljesítmény jellege nem teljesen egyezik meg a haszonállatoktól elvárt termelési teljesítménnyel, mégis azt feltételezem, hogy a terhelésre adott kortizol választ ha nem is meghatározni, de befolyásolni fogja a ló alaptermészete.

3. Fontosnak tartom a lóversenyzés kapcsán is megvizsgálni versenyző lovak verseny előtti „izgalmi” állapotát. Az anticipációs jelenség meglétét vagy hiányát HRV adatrögzítéssel kívánom vizsgálni.

Hipotézis: Habár az anticipációs stressz reakció jelenléte lovakban nem olyan egyértelmű, mint humán sportolók esetén, mégis sok jel mutat arra, hogy a lovak is tisztában vannak a versenynap kitüntetett jellegével, és a versenyhelyzet különleges mentális stresszt jelent állatokban is. Véleményem szerint az anticipáció stressz HRV mutatókkal igazolható lesz a verseny reggelén.

4. A terhelés közben mért HRV mutatók relevanciája körül nincs tudományos egyetértés. Állásfoglalásomat az enyhe, illetve maximális terhelés közben rögzített HRV adatok feldolgozása, összehasonlítása alapján kívánom meghozni.

Hipotézis: Emberekben a terhelés során elért légzési küszöb pillanatának rutinszerűen használt mutatója, mikor e terhelés közbeni LF/HF értéke 1-es értékre csökken. Úgy feltételezem, hogy ez a mutató lovakban is használható lehet ugyanerre, vagyis a terhelés közbeni HRV adatrögzítés e célból mindenképp indokolt lesz.

### **3. SAJÁT VIZSGÁLATOK**

Az állatokkal kapcsolatos valamennyi eljárást a hatályos Európai Unió jogszabályoknak megfelelően a 22.1/1606/003/2009. iktatási számon nyilvántartott keretengedély alapján végeztük el.

#### **3.1. Kortizol érték napi ingadozása nyugalmi állapotban**

##### **3.1.1. Bevezetés**

A lovakban, csakúgy, mint más állatokban és az emberekben, számos biológiai folyamat intenzitása változik a nap folyamán. A vér és a nyál egyes hormonjai napi mintázatot mutatnak. A plazmában és a nyálban a kortizol cirkadián ritmusát már többen bizonyították lovakban is (Irvine és Alexander 1994, Lebelt és mtsai. 1996, Van der Kolk és mtsai. 2001, Murphy és mtsai. 2011, Cordero és mtsai. 2012). A leírt kísérletek között a mintavétel gyakoriságában (1-6 óra) és a használt lovak számában (4-18 ló) volt eltérés. Egyesek viszonylag nagy különbségeket találtak a reggeli és az esti plazmakortizol-koncentrációk között (Irvine és Alexander 1994, Murphy és mtsai. 2011, Cordero és mtsai. 2012), míg mások nem tudták megerősíteni ezt a megállapítást (Eiler és mtsai. 1979), vagy csak alkalmanként jelentkező cirkadián változásokat mutattak ki (Hoffsis és mtsai. 1970, Evans és mtsai. 1977). A kortizol napi csúcsa általában reggel mérhető, míg az alacsonyabb értékek esténként jelentkeznek (Irvine és Alexander 1994, Lebelt és mtsai. 1996, Van der Kolk és mtsai. 2001). Egyes kísérletek azt bizonyították, hogy a cirkadián ritmus zavart szenved, ha a lovak napi rutinját megváltoztatják (Irvine és Alexander 1994, Cavallone és mtsai. 2002, Cayado és mtsai. 2006, Schmidt és mtsai. 2010). A lovakból származó minták összegyűjtése (más állatokhoz hasonlóan) általában megnövekedett stresszt jelent az állat számára. Érthető módon egy stressz hormon vizsgálata során érdemes a legkevésbé stresszes mintavételi eljárást alkalmazni. A legtöbb ló esetében a nyálminta gyűjtése kevesebb stresszt okoz, mint a vérvétel. A nyálminta alkalmazásának további fontos előnye, hogy a nyálban lévő kortizol passzív módon, diffúzióval jut a nyálmirigybe, így nem kötődik szállító fehérjékhez. A nyálminta vizsgálata tehát a szabad kortizolkoncentrációról ad információt (Lebelt és mtsai. 1996, Peeters és mtsai. 2011).

Számos kutatás szerint a nyálkortizol-koncentráció vizsgálata megfelelő módszer a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely aktivitásának felmérésére (Riad-Fahmy és mtsai. 1982, Beerda és mtsai. 1996, Lebelt és mtsai. 1996). Többen ismertették már emellett különböző állatfajokban, köztük a lovakban is a nyál és a vér kortizol koncentrációja közötti kapcsolatot is (Vincent és Michell 1992, Lebelt és mtsai. 1996, Van der Kolk és mtsai. 2001,

Peeters és mtsai. 2011). Egyes vizsgálatok nem találtak pozitív korrelációt a ló szérum- és nyálkortizol-koncentrációi között (Pell és McGreevy 1999, Elsaesser és mtsai. 2001). Lebelt és mtsai. (1996) ki tudtak mutatni napi fluktuációs mintázatot a nyálkortizol-koncentrációjában, míg más kutatók nem tudták megerősíteni ezt a jelenséget (Van der Kolk és mtsai. 2001).

Humán vizsgálatokban a nyál kortizol tartalmának mérése jól alkalmazhatónak bizonyult a stressz mérésére (Nicolson és mtsai. 1997) és a Cushing-betegség kimutatására (Putignano és mtsai. 2003). Adott stressz mértékét lovakban is értékelték már a nyálkortizol-koncentrációja alapján (Schmidt és mtsai. 2010, Peeters és mtsai. 2011); a nyálkortizol értékek - a humán gyakorlathoz hasonló mértékben megbízható - használatához azonban további vizsgálatokra van szükség (Van der Kolk és mtsai. 2001, Murphy és mtsai. 2011).

Jelen tanulmány célja a szérumkortizol-koncentráció cirkadián ritmusára vonatkozó szakirodalmi eltérések tisztázása volt, valamint annak meghatározása, hogy kimutatható-e napi cirkadián ritmus a nyálkortizol értékek alapján is.

### **3.1.2. Anyag és módszer**

#### *3.1.2.1. Lovak*

A kísérletben húsz klinikailag egészséges lovat (n=3 angol telivér, n=4 shagya-arab és n=13 magyar sportló) használtam. A mintavételezést Magyarországon, az akkori Üllői Nagyállatklinikán végeztem. Bár a lovak nem voltak tréningben, egészségi állapotuk kifogástalan volt a tanulmány időszakában. Az állatok életkora 3 és 13 év között volt, n=8 kancát, n=7 heréltet, illetve n=5 mént vizsgáltam. Az összes állat hagyományos boxban állt, naponta 3-szor: 07:00, 12:00 és 18:00 órakor abrakot (zab és korpa) kapott. Szénához és ivóvízhez *ad libitum* hozzáfértek. A kísérletet augusztus végén végeztem el, ezen időszak alatt 14 napfényes óra és 10 óra sötétség volt naponta.

#### *3.1.2.2. Mintavétel*

A mintavételezést 20 fős csapattal végeztem, hogy a mintavételi időpontok betarthatók legyenek minden lónál. 14:00 órától kezdődően 24 órán át, 2 óránként vér és nyál mintát vettünk mind a 20 lótól. A vérmintákat S-Monovette 7,5 ml Z-csőveket használva, a *vena jugularis* vénapunkciójával nyertük, majd a mintát 2000 × g-vel 10 percig centrifugáltuk.

A nyálmintákat sebészeti érfogóban tartott pamut tamponokon gyűjtöttük össze. Miután a kísérleti állat körülbelül 20 másodpercig rágta a tampont, azt a szájából, majd az érfogóból kivettük, végül 5 percig 2000 × g-vel centrifugáltuk. A centrifugált szérum- és a nyál



mintákat Eppendorf-csövekbe töltöttük, és a laboratóriumi vizsgálatig  $-20^{\circ}\text{C}$ -on fagyasztva tároltuk (Garde és Hansen 2005).

Különös figyelmet fordítottunk a mintavétel során a stressz minimalizálására. A használt lovak a vérvételhez és egyéb klinikai rutinokhoz már korábban hozzászoktak. A mintavételeket az adott lovon végig ugyanaz a személy végezte. Az állatok számára a legkevesebb fájdalmat okozva vékony, 22 G steril tűket használtunk a vénapunkcióhoz. A lovak nem mutattak ellenállást a vér- és nyálminta-vétel során, különösebb megfélemezésre nem volt szükség. Éjjel a mintákat gyenge fényű fejlámpával vettük, megpróbáltuk elkerülni a felesleges zajokat (Lebelt és mtsai. 1996).

### 3.1.2.3. *Kortizol mérés*

A kortizolvizsgálatot a University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology of Reproduction laboratóriuma végezte. A kortizolméréseket duplikátumokban végezték el közvetlen radioimmunoanalízissel (direkt RIA módszerrel), amelyhez 2- [125I] jodohisztaminnal kapcsolt kortizol-3-kortikoszteron-metiloxidázt (kortizol-3CMO), valamint a kortizol-3-CMO bovin szérum albuminnal (BSA-val) alkotott komplexe ellen termeltetett specifikus ellenanyagot használtak (Sulon és mtsai. 1978). Peeters és mtsai. (2011) ismertették e technika validálásának részleteit. Röviden, a tesztek minimális detektálási határértékei 0,2 nmol/l és 8 nmol/l voltak mind a nyálban, mind a szérumban. Az egymás utáni vizsgálatok variációs koefficiensei (CV) a nyál és a szérum esetében 11,3% alatt voltak. Az intra-assay CV-k 5,6% alatt voltak. A szérumból történő összkortizol-meghatározáshoz 8-anilinonaftalin-1-szulfonsav előkezelést alkalmaztak a kötött kortizol fehérjéről történő leválasztására.

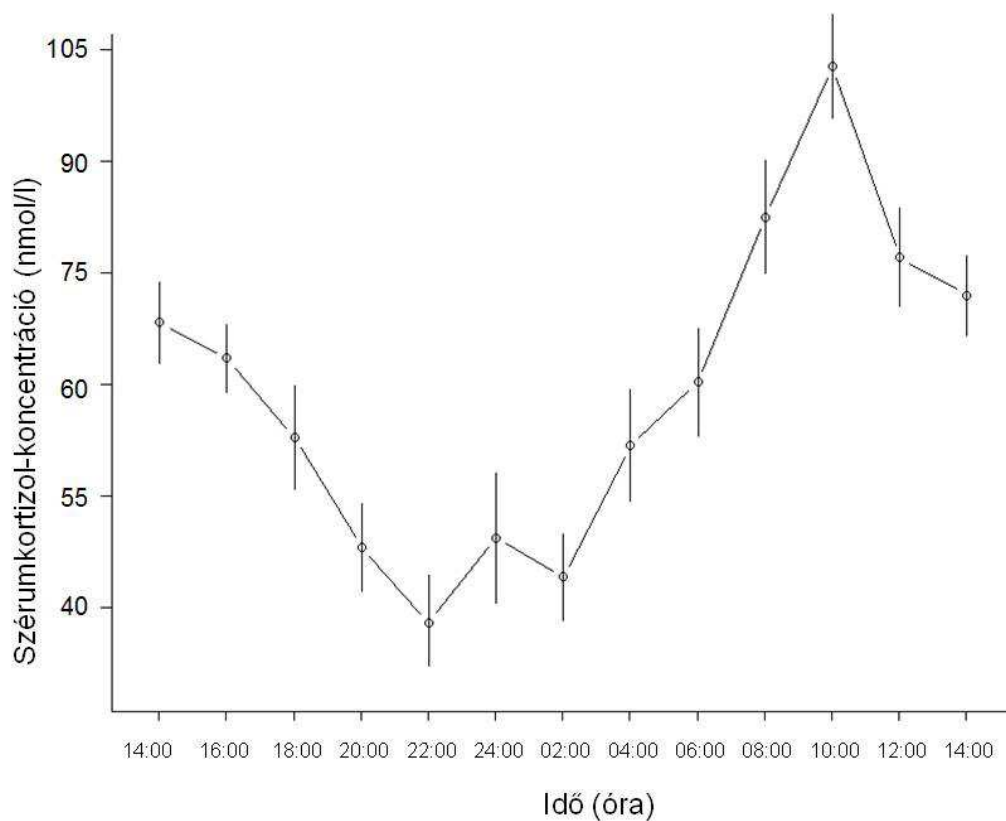
### 3.1.2.4. *Statisztika*

A mért szérum- és nyálkortizol-koncentrációk 24 órás adatsorainak ritmus analíziséhez Refinetti és mtsai. (2007) Cosinor programját használtam. A legkisebb négyzetek módszere alapján (Halberg és mtsai. 1967) 24 órás periódushosszú cosinus-görbét illeszttem az adatsorokra. A cirkadián változókat, mint az akrofázis (az illesztett görbe maximum-értékének helye), a mezo (az illesztett görbe átlagos értéke) és az amplitúdó (a görbe maximális és minimális értéke közötti különbség fele) a cosinor analízis alapján állapítottam meg. A nyál- és a szérumkortizol-koncentráció közötti összefüggés felméréséhez a Pearson korrelációs vizsgálatot végeztem az R 2.12.2. statisztikai szoftver használatával. A szignifikancia szintjét  $P < 0,05$  értékre állítottam.

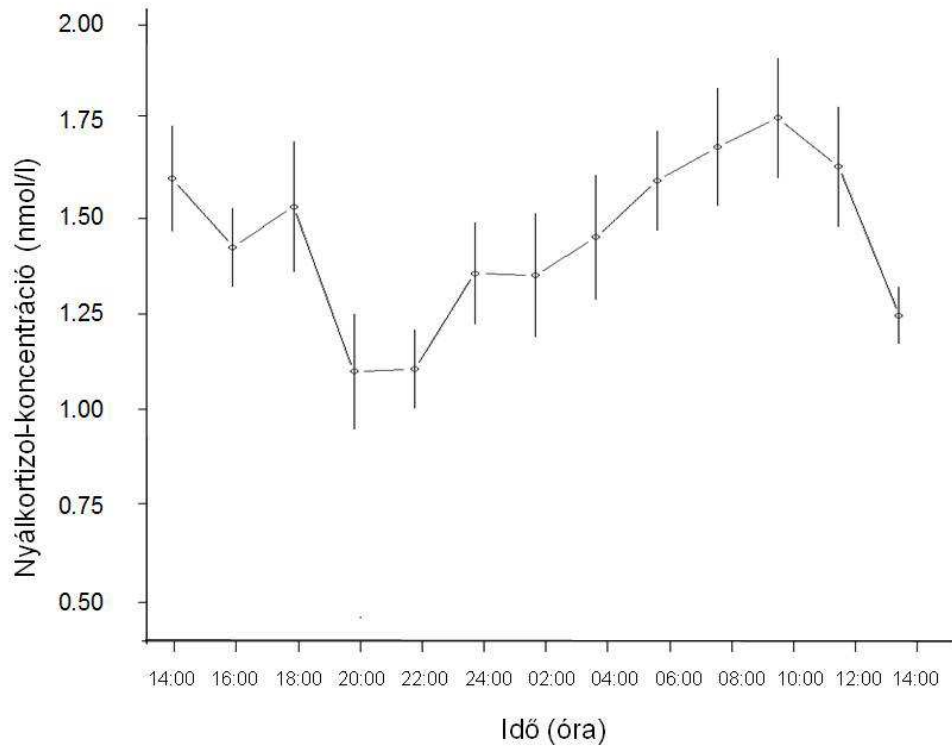
### 3.1.3 Eredmények

A csoportos átlagok cosinor analízise szignifikáns cirkadián komponenst igazolt mind a szérumszint-, mind a nyálkortizol-koncentrációkra vonatkozóan (mindkét esetben  $P < 0,001$ ). A 24 órás szérumszint- és nyálkortizol-koncentrációs profilokat grafikusán ábrázoltam az 7. és 8. ábrán az  $\text{átlag} \pm \text{SE}$  értékek alapján. A szérumszint-kortizol cirkadián ritmusának akrofázisa 10:50-kor volt mérhető (95% konfidencia intervallum [CI], 10:00-11:40), a mérték: 62,54 nmol/l, az amplitúdó: 32,91 nmol/l volt. A nyálkortizol cirkadián ritmusának akrofázisa 10:00-kor következett be (95% CI, 9:00-11:00), mérték: 1,43 nmol/l, amplitúdó 0,33 nmol/l volt.

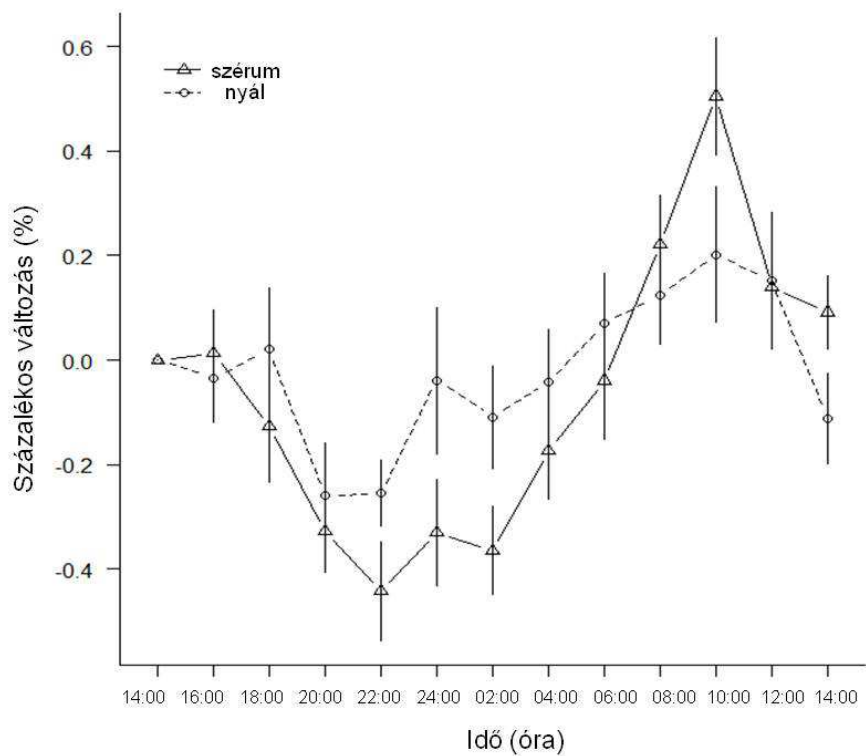
A nyál- és a szérumszint-kortizol-koncentráció között szignifikáns, de gyenge összefüggést találtam; a Pearson korrelációs koefficiens 0,32 ( $P < 0,001$ ) volt. Az összefüggést a százalékos eltérések megjelenítésével grafikusán is ábrázoltam a 9. ábrán.



7. ábra: Az átlagos ( $\pm$  SE) szérumszint-kortizol-koncentráció 24 órás mintája 20 lóból



8. ábra: Az átlagos ( $\pm$  SE) nyálkortizol-koncentráció 24 órányi mintája 20 lóból



9. ábra: Az átlagos százalékos szérum- és nyálkortizol-koncentráció változás 24 óra alatt 20 lóból

### 3.1.4 Megbeszélés

Jelen vizsgálatom megerősítette a szérumkortizol-koncentráció cirkadián ritmusának létezését lovakban. A korábbi eredményekkel összhangban, a kortizol maximális koncentrációja reggel, míg a legalacsonyabb értékek esténként voltak mérhetőek (Irvine és Alexander 1994, Lebelt és mtsai. 1996, Van der Kolk és mtsai. 2001, Murphy és mtsai. 2011, Cordero és mtsai. 2012). A kimutatott napi fluktuáció nagy valószínűséggel nem a kísérleti eljárás hatására alakult ki. A lovak nem voltak kitéve olyan zavaró tényezőknek, amelyek egy esetleges hamis napi ritmust okozhatnának: a lehető legkisebb stresszt okozva történt a mintavételezés. A napi kortizolingadozás pontos hátterének megállapításához további vizsgálatokra lenne szükség. Meg kell említeni mindemellett, hogy a cosinor analízis és a cirkadián ritmus meghatározása egynél több adatszérián esetén a leghatékonyabb. Ez vizsgálatom egyik limitáló tényezője, biztosabb adatokhoz több napon át tartó mintavételezés szükséges.

A nyálkortizol-koncentráció szintén szignifikáns cirkadián ritmust mutatott. Ez alátámasztja Lebelt és mtsai. (1996) eredményeit; de ellentmond van der Kolk és mtsai. (2001) megállapításának. Ez utóbbi kísérletet azonban mindössze 7 lóval végezték el, a mintavételi gyakoriság pedig 6 óra volt.

Jelen vizsgálatban a szérum- és a nyálkortizol-koncentráció gyenge korrelációja figyelhető meg. Ezzel szemben Peeters és mtsai. (2011) erős, de nemlineáris összefüggést találtak a nyál- és a szérumkortizol-koncentráció között ( $r^2 = 0,8$ ,  $P < 0,001$ ). Elsaesser és mtsai. (2001) illetve Pell és mtsai. (1999) egyáltalán nem tudtak kimutatni szignifikáns összefüggést a nyál és a szérum adatok között.

Az ellentmondások több szempontból is magyarázhatók:

A legtöbb kísérletben a nyál- és vérmintákat egyidejűleg gyűjtötték. Egy ACTH stimulációs tesztet alkalmazó vizsgálat azonban egyértelműen kimutatta, hogy a szérumkortizol emelkedését a nyál kortizol koncentrációja csak 20 perccel később követi (Peeters és mtsai. 2011). Stimulációs teszt nélkül ez a „követési idő” emelkedhet vagy egyszerűen változatosabbá válhat. Mindez a szérum- és a nyálkortizol koncentrációjának cirkadián ritmusa közötti korrelációt könnyen megzavarhatja vagy akár el is tüntetheti.

Az ellentmondásokat a kötött és a szabad kortizol koncentrációja közötti különbség is okozhatja. A szérumkortizol egy része a kortikoszteroid kötő globulinhoz (CBG) kötődik, de a hormon biológiai hatásáért csak a szabad kortizol felelős (Rosner 1991, Hellhammer és mtsai. 2009). A szabad és kötött kortizol tényleges arányát nagyon nehéz megmérni a plazmában, ugyanis a szabad kortizol szint nem arányos a szérum össz-kortizollal (Bousquet-Mélou és mtsai 2006, Dorin és mtsai. 2009): a CBG koncentrációja és a CBG telítési állapota sem állandó ugyanis (Alexander és Irvine 1998). Ahogy korábban leírtuk, a nyálba csak a szabad kortizol választódik ki. Alexander és Irvine (1999) szerint a CBG-

koncentrációt (azaz a kortizolkötő-képességet) számos tényező, például az életkor, a táplálkozás, valamint akut vagy krónikus stressz is megváltoztathatja. Azt is kimutatták, hogy a szociális feszültség csökkenti a CBG kötőképességét és növeli a szabad szérumkortizolkoncentrációt anélkül, hogy a plazma össz-kortizol koncentrációja megváltozna (Alexander és Irvine 1999). Nem zárhatjuk ki azt a lehetőséget sem, hogy a fent említettektől eltérő faktorok is befolyásolhatják a CBG-koncentrációt és a kötési kapacitást, ami a szabad és az össz-kortizol szint további ingadozását eredményezheti. Mivel a kísérletek csak a plazma össz-kortizolkoncentrációját mérik, nincs információnk arról, hogy vajon a nyál kortizol tartalma szorosabban kapcsolódik-e a plazma szabad kortizol koncentrációjához.

Összességében kimondható, hogy számos élettani hatás befolyásolja a nyálban és a plazmában mért kortizolkoncentrációk arányát, így a kettő összefüggése érthető módon nehezen modellezhető.

A szérum és nyál napi legmagasabb és legalacsonyabb kortizolkoncentrációi tekintetében más kutatók is hozzám hasonló eredményeket találtak lovakban (Irvine és Alexander 1994, Lebelt és mtsai. 1996, Van der Kolk és mtsai. 2001, Murphy és mtsai. 2011, Cordero és mtsai. 2012), mindazonáltal ezen csúcsok időpontja nem egyezik a humán cirkadián kortizolingadozás maximumának és minimumának időpontjával. Emberekben a kortizol koncentrációja néhány órával az ébredés előtt kezd el növekedni, amikor az alvás nem a legmélyebb fázisban van (Weitzman és mtsai. 1983). Lovakban ezzel szemben a kortizolszekréció az éjfél utáni időszakban kezd el megemelkedni, holott a lovak nagy része éppen ebben az időszakban, éjfél után fekszik huzamosabban; vagyis a gyors szemmozgás (REM) mély alvási fázisa valószínűleg ezekben órákban jelentkezik (Dallaire és Ruckebusch 1974). A kortizol maximum és minimum időpontjának valódi oka lovakban továbbra sem világos.

A megállapított ellentmondások ellenére jelen tanulmány nem zárja ki a nyálkortizolkoncentráció használatának létjogosultságát a lovak HPA-tengely aktivitásának vizsgálatára. Mindazonáltal, mivel nem találtam erős összefüggést a nyál- és a szérumkortizolkoncentrációk között, a nyálkortizol mérését ezek alapján nem tekinthetjük elfogadott módszernek sem lovakban. A kortizolkoncentrációt bármely fajta minta esetében erősen befolyásolja számos élettani és környezeti tényező. Tekintettel viszont arra, hogy a nyálgyűjtés egyes lovak számára kevésbé stresszes eljárás lehet, ráadásul nyálból szabad kortizol mérhető, ami a HPA-aktivitás pontosabb mutatója, mint az össz-kortizolkoncentráció, stressz betegségekben, anyagcsere-zavarok esetén vagy egyéb szubklinikai betegségek diagnosztikájában a nyálmintavétel továbbra is indokolt lehet, de a precíz validáláshoz lovakban további vizsgálatok elvégzése szükséges.

## **3.2. A versenyló alaptermészetének hatása a terheléskori kortizol szintekre**

### **3.2.1. Bevezetés**

Egy ló alapvető vérmérséklete fontos szempont mind a kezelhetőség, mint az elvárható teljesítmény tekintetében (Lansade és mtsai. 2010, Christensen és mtsai. 2012). A vérmérséklet, más néven temperamentum az állatok viselkedési hajlamának viszonylag stabil különbségeit írja le, amelyek fontosságát az adja, hogy ezen viselkedési minták egyéb pszicho-biológiai mechanizmusokhoz is kapcsolódhatnak (Manteca és mtsai. 1993, Zuckerman 2005). A stressz a HPA-tengely egyik fő aktiválója, ezért gyakran a kortizol koncentráció alapján értékelik. A fizikai terhelés intenzív stressz reakciót indukálhat (De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007): lovakon végzett vizsgálatokban munkavégzéskor emelkedett kortizolkoncentrációról számoltak be (Gordon és mtsai. 2007, Petrusse és mtsai. 2015). A legtöbb tanulmány a lovak terhelésre adott kortizolválaszát futópadon vizsgálta (Gordon és mtsai. 2007, Malinowski és mtsai. 2006); azonban ez a nem szokványos, rendellenes szituáció, illetve mozgásforma, még a futópadhoz szoktatott lovakban is hatással lehet a stressz-válaszra (Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan és mtsai. 1999).

Kimutatták, hogy a terhelés időtartama kortizolemelkedés tekintetében relevánsabb, mint a fizikai aktivitás intenzitása (De Graaf Roelfsema és mtsai. 2007). Ugyanakkor egy másik, angol telivér versenylókat vizsgáló kísérletben a plazma-kortizolkoncentráció növekedése nem mutatott összefüggést a futópad sebességének emelésével, illetve a futópadon töltött idő hosszával sem (Nagata és mtsai. 1999). Kérdés, hogy a tanulmányok közötti különbségekért a kísérleti tervekben alkalmazott szabványok hiánya, az eleve stresszel járó terhelési forma (futópad) alkalmazása, vagy a vizsgált egyedekhez kapcsolódó egyéni faktorok eltérései-e a felelősek. Bár számos szerző kimutatta haszonállatokban, hogy a különböző stresszhelyzetekre adott HPA-válasz a vizsgált egyed temperamentumától függően eltérő lehet (Curley és mtsai. 2008, Kovács és mtsai. 2016, Pajor és mtsai. 2013); lovakban nem tisztázott, hogy a nyugalmi, illetve terheléses kortizolkoncentrációt befolyásolja-e a lovak alaptermészete.

Kísérletem célja volt megvizsgálni, hogy befolyásolja-e az angol telivér versenylóvak terhelésre adott kortizolválaszát a vizsgált egyedek alapvető temperamentuma. Azt feltételeztem, hogy az idegesebb habitusú lovak magasabb kortizolválaszt mutatnak terheléskor, mint a nyugodtabbak.

### 3.2.2. Anyag és módszer

#### 3.2.2.1. Lovak

A huszonhét egészséges ló közül húsz egészséges, 3 éves angol telivér mént ( $n = 10$ ), illetve kancát ( $n = 10$ ) választottam ki egy 25 pontból álló, a lovak temperamentumának jellemzésére használatos felmérés alapján. A kérdőívben a lovakkal nap mint nap foglalkozó tréner 7 pontos skálán értékelte a lovakat a nevezett szempontok alapján (Lloyd és mtsai. 2007). Ebben a tanulmányban a lovakról alkotott temperamentum térkép adatai közül fő szempontként az "izgatottságot" és "szorongást" alkalmaztam. Az erre a két jellemzőre vonatkozó pontszámokat átlagolással összegeztem. A kérdőív alapján a lovakat "nyugodt" (0-2 pontszám, átlag  $\pm$  SD =  $1,2 \pm 0,3$ ), "átlagos" (3-4 pont,  $\pm$  SD =  $3,4 \pm 0,2$ ) és "nyugtalan" 5-7,  $\pm$  SD =  $5,3 \pm 0,3$ ) csoportokra osztottam. Az átlagos lovakat ( $n = 7$ ) kizártam a kísérletből. Nyolc temperamentumos (öt mén és három kanca) és tizenkét nyugodt ló (öt mén és hét kanca) vett részt a kísérletben.

A vizsgálatot megelőzően a lovak három hónapon át heti öt alkalommal edzettek. Szabványos 3x3 m-es boxban álltak, takarmányként szénát és abrakot (zab, korpa) kaptak. A vízhez *ad libitum* hozzáférésük volt. A kísérleti időszak a lovak mindennapos edzéstervébe illeszkedett. Az összes lóval ugyanaz az idomár foglalkozott, a kérdőívet is ő töltötte ki.

#### 3.2.2.2. A vizsgálat menete

Az adatokat június 10. és 25. között gyűjtöttem hajnali 05:00 és 07:00 óra között, biztosítva, hogy a vizsgálatok során a hőmérséklet 18-23°C között maradjon. A lovakat Polar Equine RS800CX Multi pulzusmérővel (Polar Ltd, New York, USA) szereltem fel. A szetthez tartozó öv egyik elektródáját bal oldalon a szívtájékon, a másik elektródáját, jobb oldalon a ló hátán helyeztem el a nyereg és heveder alatt. A pulzus mellett a megtett távolságot és a sebességet is rögzítettem (10. ábra). A lovak 10 perces bemelegítő ügetést követően, egy homokos pályán 2300 m-t galoppoztak (11. ábra). A lovas által adott utasítások pszichikai hatásának elkerülése érdekében a lovakat a szokék nem hajtották és nem is fogták vissza. Minden ló az általa választott tempóban galoppozhatott. A lovas minden esetben a ló szokásos zsokéja volt, összesen három zsoké vett részt a kísérletben. Minden ló egyedül futott a pályán a vizsgálat során.



**10. ábra: Pulzuszámolás Polar Equine RS800CX pulzuszámoló használata után a lenyergelés után**

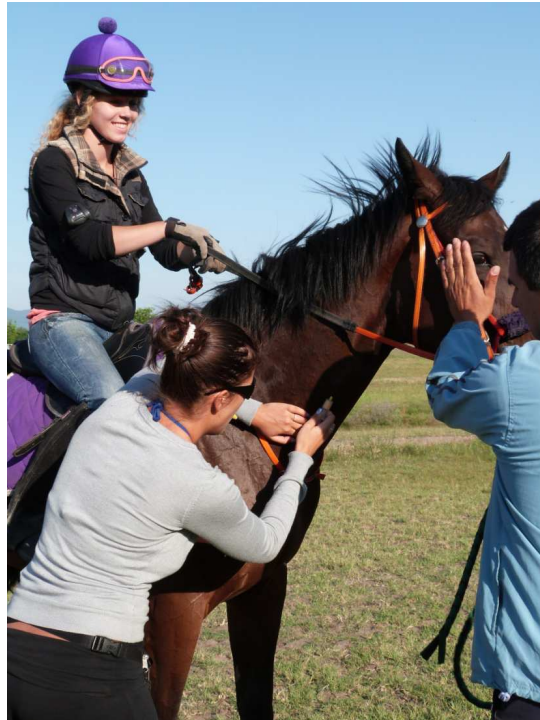


**11. ábra: Angol telivér ló a 2300 m galopp befutó szakaszán**



A vért a következő időpontokban a *vena jugularis* vénapunkciójával S-Monovette 7,5 ml Z-csőket használva (S-Monovette, Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, Németország) gyűjtöttem (12. ábra):

- reggel 5:00-06:00 között (nyugalmi állapotban - S0),
- a bemelegítés után (S1),
- a galopp szakasz végén (S2)
- 30 perces levezetés után (S3)



**12. ábra Vértétel egy nyugtalan besorolású lótól a tréning-pályán**

#### 3.2.2.3. Kortizol mérés

A mintákat lehűtöttem és 4 °C-on tároltam, majd 1 órán belül 2000 g-n 10 percen át centrifugáltam. A plazmát eltávolítottam és -18 °C-on tároltam a laboratóriumi kortizol vizsgálatig. A kortizol méréseket a 3.1.2.3. fejezetben leírtak szerint közvetlen radioimmunoanalízissel az akkori SZIE ÁOTK Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika Endokrinológiai Laboratóriuma végezte el.

#### 3.2.2.4. Statisztika

Az elemzéseket R 3.2.3 statisztikai szoftver használatával végeztem (R Core Team R., 2012). A hipotézis-vizsgálathoz egy lineáris kevert modellt alkalmaztam. A véletlen komponens a kortizolkoncentráció, míg a magyarázó változók temperamentum (nyugodt vagy nyugtalan) és a mintavételi (S0, S1, S2 vagy S3) idők és azok kölcsönhatásai voltak.

Az azonos lótól származó adatok közötti összefüggést egy hiba variancia-kovariancia mátrix modellezésével vizsgáltam. A lineáris kevert modellt a Restricted Maximum Likelihood módszerrel, a 'nlme' csomaggal (Pinheiro és mtsai. 2000) alkalmaztam. A modell hatásait a t-értékek alapján teszteltem. A többszörös összehasonlításához kontrasztot teszteltem, és a Tukey-módszert alkalmaztam az 1. típusú hibák felhalmozódásának elkerülése érdekében.

### 3.2.3. Eredmények és megbeszélés

Kísérletem galopp fázisában a lovak habár lovassal a hátukon, de szabadon futhattak, bíztatás vagy visszafogás nélkül. A sebességet tehát nem befolyásolta a zsoké, ami létfontosságú kritérium volt ahhoz, hogy a lovakat érő külső stresszhatások ne különbözzenek egymástól, azonban egyúttal megkérdőjelezhetné a kísérlet sztenderd körülményeit. A teljesítményeredmények elemzéséből azonban kiderül, hogy a lovak egymáshoz képest hasonló intenzitású edzést végeztek. A lovak átlagos és maximális sebessége  $22,2 \pm 3,5$  km/h és  $36,2 \pm 5,7$  km/h a nyugodt csoportban, és  $23,1 \pm 3,6$  km/h és  $36,8 \pm 5,9$  km/h a nyugtalanabb lovak esetében. Az átlag és a maximális pulzusszám  $150,1 \pm 18,6$  bpm és  $203,4 \pm 12,7$  bpm nyugodt lovakban, illetve  $148,3 \pm 17,8$  bpm és  $207,3 \pm 13,4$  bpm a nyugtalan lovak esetében. Mindezek alapján tehát a terhelésintenzitást szerencsésen, retrospektív módon egységesnek tekinthetjük.

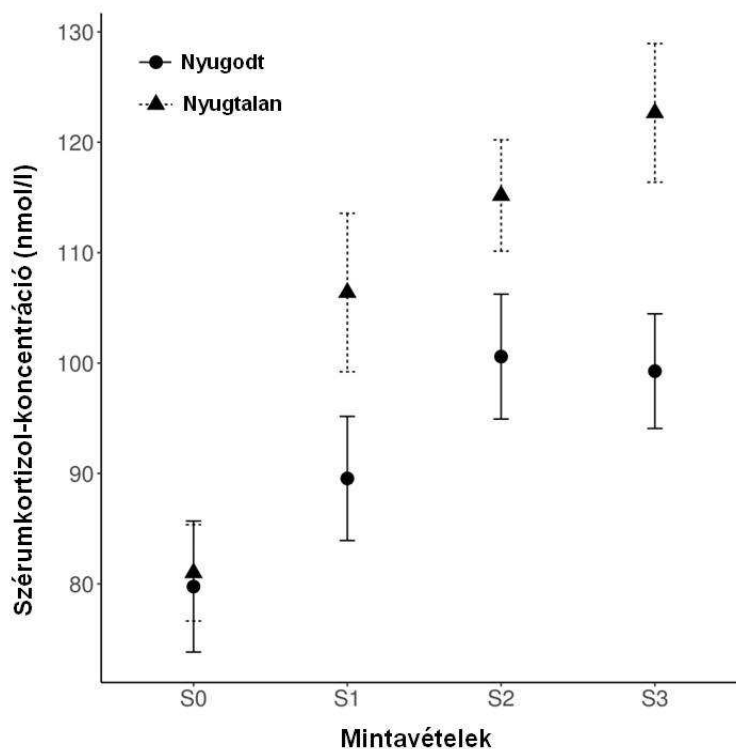
Szarvasmarhákön végzett közelmúltbeli megfigyelésekkel összhangban (Kovács és mtsai. 2016) nem találtam különbséget a nyugalmi szérumkortizol-koncentrációkban (S0) a temperamentum-csoportok között ( $P=0,888$ ), ami azt tükrözi, hogy az emberi jelenlét edzés előtt nem okozott nagyobb stresszt a nyugtalan lovak számára sem. A nyugalmi kortizolkoncentrációt a cirkadián ritmus és számos más körülmény is befolyásolja, az alaptermészet egyszeri, nyugalmi kortizol méréssel nem kimutatható.

Terhelésre mind a nyugtalan, mind a nyugodt lovak esetében megfigyelhető volt a szérumkortizol koncentrációjának növekedése (13. ábra). Korábban 25-30%-os plazmakortizol szint emelkedést írtak le lovakban (Gordon és mtsai. 2007, Martinez és mtsai. 1988). Jelen vizsgálatomban a maximális kortizolkoncentráció nyugodt lovakban  $105,1 \pm 15,3$  nmol/l volt, ez  $22,6 \pm 3,3$  %-kal magasabb a kiinduló értéknél, míg a nyugtalanabb állatokban  $119,9 \pm 16,9$  nmol/l volt, ami pedig a nyugalmi érték  $43,1 \pm 6$  %-os emelkedését jelenti.

Annak ellenére, hogy nem volt szignifikáns, a csoportok közötti kortizolkoncentráció különbség már az S1 és S2 mintavételeken ( $P=0,084$  és  $P=0,141$ ) látható volt, míg a galopp fázist követően 30 perccel (S3) a kortizolkoncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak a nyugtalan lovakban, mint a nyugodtakban ( $P=0,036$ ).

A kortizolcsúcs nyugodt lovakban már a terhelés végére, míg a nyugtalan csoportban csak 30 perccel később következett be. Mindkét csoport ellentmond Nagata és mtsai. (1999)

megállapításának, akik terheléskor már a bemelegedési szakaszban kortizolcsúcsot mértek. Az említett eredményt azonban valószínűleg befolyásolta, hogy azok a lovak futópadon dolgoztak, így a korai magas kortizol a futópad okozta stressz hatása is lehet. Más, nem futópados vizsgálatok 10-45 perccel a munka vége után mérték lovakban a legmagasabb kortizolkoncentrációt intenzív terhelés esetén (Valberg és mtsai. 1989; Freestone és mtsai. 1990; Lindner és mtsai. 2000). Jelen vizsgálatomban a terhelés mértéke jóval elmaradt az ezen kutatásokban alkalmazott munkaintenzitástól. A nyugodt alaptermészetű lovak szérumkortizol-koncentrációja feltehetően éppen emiatt már korábban, a terhelés végére elérte a megcélzott maximumát. Nyugtalanabb típusú állatokban ezzel szemben a kortizolkoncentráció az alacsonyabb terhelésintenzitás ellenére is csak 30 perccel később, és egyúttal magasabb értéken tetőzött. A magasabb és a későbbi kortizolcsúcs ténye arra utal, hogy az edzés okozta komplex stressz erősebb választ váltott ki a nyugtalan csoportban. Az sem kizárható, hogy ezeknek az állatoknak nem is feltétlenül az intenzív terhelés jelentette a legnagyobb stresszforrást, így a kortizolkoncentráció további emelkedése nem csak a fizikai terhelés utóhatása, hanem a munka utáni levezetés, az istállóba való visszatérés és leszerelés okozta további kortizolfelszabadulás eredménye.



**13. ábra: A nyugodt (n =12) és a nyugtalan (n = 8) alaptermészetű lovak terhelésre adott kortizol válasza (átlag ± szórás)**

A vérmérséklet hatását a kortizol változásokra lovakban mindeddig nem vizsgálták. A fizikai edzés nem csak élettani stresszt jelent a lovak számára. A lovak környezeti, szociális és pszichológiai tényezőknél is ki vannak téve a napi edzés során. Eredményeim alapján ezeknek a hatásoknak a válaszfoka független lehet a terhelés intenzitásától, így befolyásolhatja a kortizolválasz erősségét.

Vizsgálatom limitáló tényezője, hogy csak az edzés ideje alatt vettem mintát, nem vizsgáltam a kortizolkoncentrációt legalább két órával a terhelés befejezése után (Nagata és mtsai. 1999; Martinez és mtsai. 1988). A kortizolválasz-görbe alatti területek összehasonlítása vagy a kiindulási szintekhez való visszatérés ideje több információval szolgálna a HPA-válasz nagyságrendjéről. Kísérletemben a kortizolkoncentrációk nem térnek vissza a kiindulási értékhez a mintavételek időtartama alatt, így az ilyen elemzés nem lehetséges. Ugyanakkor a viszonylag rövid mintavételi periódus megállapításával megszüntettem a szérumkortizol-szekréció napi cirkadián ritmusának esetleges zavaró hatásait.

Kísérletemben kimutattam tehát, hogy a terhelésre adott kortizolválaszt az egyed vérmérséklete is befolyásolhatja. A szérumkortizol releváns marker az angol telivér lovak egyedi különbségeinek számszerűsítésére. A HPA-tengely reaktivitásának elemzése kapcsán lovakban is szükségesnek tűnik a viselkedésbeli tulajdonságok megfontolása a versenylovak jövőbeni kortizol vizsgálataiban.

### 3.3. Szívfrekvencia-variabilitás vizsgálata terhelés alatt

#### 3.3.1. Bevezetés

##### 3.3.1.1. A HRV vizsgálat nehézségei

Ahogy irodalmi áttekintőmből is kiderült, a HRV vizsgálat kényes terület még a humán orvoslás és sportorvoslás területén is. Mind az adatrögzítés menete és körülményei, mind a matematikai illetve statisztikai elemzés módja vitatott téma. Lovakban a helyzet ugyanez, sőt az újabb és újabb - sokszor ellentmondásos, vagy az eddigieket felülíró - humán eredmények arra világítanak rá, hogy a HRV analízis egységes, ismételhető, összehasonlítható és akár referencia-értékek beállítása melletti használhatósága lovakban még várat magára. Mindez természetesen nem jelenti azt, hogy a HRV elemzés lovakban felesleges lenne, sőt mivel könnyen elérhető, nem invazív vizsgálatról van szó, ezekben a nagy értékű, ráadásul több szempontból is érzékeny állatokban minél előbbi célnak kell lennie a HRV analízissel kapcsolatos kérdések maradéktalan tisztázása. Összességében a HRV kísérleti körülmények között egyre pontosabban és jobban vizsgálható, és egyre érdekesebb információkat biztosító tudományos terület, a gyakorlati használhatósága azonban, mind a klinikumban, mind az edzéstervzésben még gyerekcipőben jár.

A HRV ló- és lovassportokban való alkalmazásának ellentmondásait, kérdéseit, illetve az ezzel kapcsolatos limitáló tényezőket az alábbiakban röviden összefoglaljuk:

Az adatrögzítéssel kapcsolatos legfontosabb felvetés, hogy az IBI-k rögzíthetők-e hitelesen EKG készülék használata nélkül, pusztán egy automatikus RR-érzékelővel. Emberekben és kutyákban HRV adatrögzítésre megfelelőnek találták az RR-detektorokat (Kingsley és mtsai. 2005, Jonckheer-Sheehy és mtsai. 2012) Marchant-Forde és mtsai. (2004) ezzel szemben egy automatikus RR-detektor (Polar®Electro Oy, Kempele, Finnország) és egy EKG egyidejűleg rögzített adatsorának összehasonlításakor öt hibatípust is megállapítottak sertésekben. Ezt az öt hibatípust később igazolták lovakban is (Parker és mtsai. 2010). A 4-es típusú hiba volt leggyakrabban megfigyelhető: ami egy vagy több R-csúcs azonosításának elmulasztását jelenti, ami azon a ponton egy tévesen hosszú RR-távolságokat eredményez. Kimutatható volt emellett, hogy a lovakban gyakran előforduló meglehetősen nagy T-hullám-ot, (Parker és mtsai. 2010) a Polar készülék R-csúcsként észlelte, ami pedig egy hosszabb helyett két rövid RR-távolságokat eredményezett (5-ös típusú hiba). Ebben a kísérletben az RR-detektorból származó adatok csak teljes nyugalomban voltak összevethetők az EKG felvétel IBI adataival, így ezek alapján a Polar órák terheléses alkalmazását nem javasolták. Ennek ellenére széles körben használják ezeket a műszereket terheléses HRV adatrögzítésre is, és a legtöbb esetben értékelhető

összefüggéseket találnak (Kinnunen és mtsai. 2006, Schmidt és mtsai. 2010, Becker-Birck és mtsai. 2013, Younes és mtsai. 2016). Ennek valószínűsíthető oka, hogy az adatokat feldolgozó statisztikai szoftverek egyre precízebb „hiba-szűrőkkel” vannak ellátva, így ha a nyers felvételekre igaz is, hogy nem egyezik az EKG-val rögzített adatokkal, az elemzésre kerülő korrigált adatsor már hiteles lehet.

Ha el is fogadjuk tehát a Polar óra által azonosított RR-távolságok hitelességét, további kérdés, hogy milyen szakaszhosszúság elemezhető megfelelő pontossággal. A tudomány jelenlegi állása szerint emberekben nyugalomban 1-5 perces szakaszok frekvencia adatai írják le leginkább az aktuális HRV-t. Nem egyértelmű, hogy az alacsonyabb nyugalmi pulzusszámú lovakban átvehető-e ez a módszer, vagy inkább az úgynevezett intervallum-tachogram alkalmazása a célravezetőbb. Ebben az esetben ugyanis időintervallum helyett ütésszám alapján jelölik ki a vizsgálandó szakaszt, ami viszont egyúttal rontja is az értelmezhetőséget, mivel az így kapott spektrális becslések mértékegysége „időnégyzet/Hz” helyett „ciklushossz/ütésszám” lesz. Jelenleg a legtöbb kísérletben lovakon is az 5 perces szakasz-elemzést alkalmazzák (Kinnunen és mtsai. 2006, Schmidt és mtsai. 2010, Younes és mtsai. 2016). Tovább bonyolítja a helyzetet azonban, hogy lovakban a mozdulatlanság jóval nehezebben kivitelezhető, mint emberekben, a túl erőszakos megfékezés pedig stresszt jelent az állatnak. Továbbá lovakban gyakori, hogy egyes szinuszcsoomóból eredő ingerületek nem jutnak le a kamrákig, vagyis a lovak a szinusz aritmia mellett másodfokú atrioventrikuláris blokkra is hajlamosak, így egy 5 perces nyugalmi felvétel elkészítéséhez minimum fél óra adatrögzítést javasolnak, hogy abból egy viszonylag műtermék-mentes szakasz kivágható legyen. Mindenesetre a legfontosabb, hogy bármilyen szakasztávolságot is választunk, az adott kísérleten belül az összehasonlíthatóság érdekében azt az egyfélélet kell alkalmazni. Különösen fontos ez az intervallumfüggő SDNN-érték elemzésekor.

Ha sikerül megfelelő döntéseket hozni az adatrögzítés módjáról, körülményeiről, szembesülni kell az elemzés kihívásaival. Az elemzéssel kapcsolatos legalapvetőbb probléma, hogy a különböző HRV-paraméterek jelentése és jelentősége összetettebb, mint aminek sokan gondolják, ami rosszul megválasztott elemzési módhoz, végül téves következtetésekhez vezet (ESC-NASPE Task Force, 1996). Az időtartományban végzett elemzés könnyen érthető, és egyértelmű módszer, azonban nem ad részletes információt az ANS aktuális egyensúlyáról. Az idő-tartományi indexek csak a szimpatikus és paraszimpatikus interakció nettó hatásának leírására szolgálnak, azok szétválasztására nem alkalmasak. A frekvencia tartományban történő elemzés ezzel szemben részletes információt ad az ANS aktivitás komponenseiről, hátránya viszont, hogy a frekvencia adatok igen érzékenyek a műtermékekre. Mindemellett a frekvenciatartományok pontos jelentése és tól-ig értékeinek meghatározása újabb és újabb kérdéseket vet fel. Minthogy a HF-

tartományt a légzésszám is befolyásolja, így egyértelművé vált, hogy fajonként eltérő tartomány-meghatározásra van szükség. Tovább gondolva ezt, az is felvetődött, hogy a terheléskori magas légzésszám miatt is szükségessé válhat a frekvenciasávok újragondolása. A lépés-légzés összhang jelensége miatt lovakban ez még bonyolultabb. Mindez oda vezetett, hogy a jelenlegi szakirodalomban számos egymástól különböző meghatározás alapján jelölik ki a teljesítmény-zónákat, így azonban a kapott eredmények kutatásonként nem összehasonlíthatók.

A VLF tartomány értelmezése még ennél is zavarosabb. Nem elég, hogy egyelőre tisztázatlan a VLF sávban mérhető változékonyság élettani háttere, az összteljesítményen (TP) alapuló HRV indexek használhatóságát is torzítja a VLF körüli bizonytalanság. Míg egyes szerzők a TP-t az LF+HF (Mohr és mtsai. 2000, Witte 2001, Voss és mtsai. 2002, Cottin és mtsai. 2005) tartományok összegeként értelmezik, addig mások ugyanerre az LF+HF+VLF (Physick-Sheard és mtsai. 2000, Marchant-Forde és mtsai. 2004, von Borell és mtsai. 2007, Parker és mtsai. 2010, Jonckheer-Sheehy és mtsai. 2012) számítást használják. Ez persze megint csak gátolja az összehasonlíthatóságot.

A terhelés közbeni HRV rögzítés kapcsán leírták, hogy nagyon magas intenzitású (lovakban 120-130/perces pulzus feletti) terheléskor a mozgással és légzéssel kapcsolatos nem neurális behatások uralják el a HRV-t, így az elemzés értelmetlenné válik (Physick-Sheard és mtsai. 2000). Ugyanakkor éppen ennek az „értelmetlenné válásnak” a menete, jellege, pillanata jelenti a humán sporttudomány egyik - végre a gyakorlatban is alkalmazható - referenciaérték-szerű vívmányát, miszerint az LF/HF arány 1 alá csökkenése egybeesik az aerob-anaerob küszöb átlépésével (Cottin és mtsai. 2004). Lovakban még nem vizsgálták ezt az összefüggést, pedig nagy előrelépést jelentene a ló-sporttudományban, ha kimutatható lenne HRV mutatók alapján a légzési küszöb. Vagyis a 130/perc pulzus feletti terhelés HRV adatainak tudományos feldolgozása is tartogathat újdonságokat.

A HRV további kérdéses aspektusai, hogy milyen hatással vannak az adatokra az olyan külső körülmények, mint a kor, a nem vagy a napszak. Emberekben mindhárom tényező jelentős befolyással bír. Lovakban is kimutatták már, hogy fiatalabb egyedekben illetve kancákban nagyobb változékonyság mérhető (Clément and Barrey 1995), de későbbi vizsgálatok során ezt nem sikerült ismét alátámasztani (Rietmann és mtsai. 2004b). A jelenlegi HRV-t alkalmazó kutatásokban általában egységes kor és nem eloszlású csoportok vizsgálatára törekszenek (Vitale és mtsai. 2013, Christensen és mtsai. 2014). A HRV cirkadián napi ritmusát emberekben (Furlan és mtsai. 1990, Malliani és mtsai. 1991), szarvasmarhákban (Kovács és mtsai. 2016) és lovakban is kimutatták már, azonban lovakban a rendkívül erős nyugalmi paraszimpatikus dominancia vagy a sztenderd körülmények megteremtésének korlátai miatt az adatok ellentmondásosak (Kuwahara és

mtsai. 1999b, Eager és mtsai. 2004, Uhlendorf 2009), Ennek ellenére érdemes az összehasonlítható HRV-vizsgálatokat azonos napszakban végezni.

### 3.3.1.2. Célkitűzéseim

A versenypályán eltöltött időszakban a trénerék és zsokéék elmondása mellett magam is szembesültem azzal, hogy a versenyzés milyen nagy mértékű stressznek teszi ki az állatokat. A vizsgált egyedeket megismerve az is világossá vált, hogy a stressz-szint, a stressz-tűrőképesség és a lovak habitusa legalább annyira megmutatkozik a versenyeredményekben, mint az aktuális kondíció. Ezt figyelembe véve a teljesítményvizsgálatok során a lovak stressz-állapotának vizsgálatába is belekezdtem. Kezdetben e célból a kortizol hormon koncentrációját mértem terhelés alatt és után. (Első eredményeim az előző fejezetben olvashatók.) Fel kellett ismernem azonban, hogy a rendszeres vérvétel a tréningpályán nem életszerű: minden nap alkalmazható, nem invazív, a kísérlettől függetlenül, hétköznapi gyakorlatban is használható stressz-vizsgálati módszert kell találni. Figyelmemet így a HRV-analízis felé fordítottam, amely vizsgálati mód bár sok kihívással jár, de ennek a kritériumnak maximálisan megfelel.

A szakirodalomban elmélyedve szembesültem a HRV analízis fent felsorolt nehézségeivel. Arra jutottam, hogy a kísérleti körülmények, illetve a vizsgáló saját tapasztalatai mindig adnak némi szubjektivitást az ilyen jellegű kutatásoknak. Mindazonáltal a HRV analízis az összes szempontot figyelembe véve is érdemes arra, hogy részleteiben akár az eddigi tanulmányok eredményeinek ellentmondó, de saját terheléses vizsgálati protokollt dolgozzak ki.

Két fő kérdés tisztázását céloztam meg a kísérlettervezés kapcsán. Vizsgálni kívántam, hogy egy enyhébb tréning, illetve a maximális terhelés HRV mutatói hogyan vethető össze, illetve – mivel valós maximális terhelést csak versenyen teljesítenek a kísérleti lovak – milyen hatással van a versenyhelyzet a lovak HRV paramétereire.

Ahogy a kortizol hormon sportélettani jelentőségének ismertetése során már leírtam, számos lovakon végzett kísérletet végeztek már a versenyhelyzet fizikai és pszichikai hatásainak elkülönítése céljából. Az eredmények nem egységesek, ráadásul mindössze Becker-Birck és mtsai (Becker-Birck és mtsai. 2013.) vizsgálták a HRV paramétereket is, a többi kísérlet kizárólag nyál- és vérkortizol-koncentráció, illetve más hormonkoncentrációk alapján vizsgálta a verseny-stresszt. A HRV-t is figyelembe vevő kísérletben díjugratásban és díjlovaglásban versenyző lovak vettek részt 3 napos versenysorozaton. Kizárólag időtartományban végeztek elemzéseket, az RMSSD és az SDNN mutatókat vizsgálták. Az SDNN a versenyszám alatt csökkent valamennyit, de az eltérés nem volt statisztikailag szignifikáns. Az RMSSD esetében már a lovak előkészítése során szignifikáns csökkenést tapasztaltak a 2. versenynapon, és közel szignifikáns csökkenést a 3. napon. Érdekesség



emellett, hogy míg a versenyszámok során - a terhelés mértékének különbségeiből adódóan - az díjugrató lovak szívverésszáma jóval magasabb volt, mint a díjlovaké, a HRV mutatók egyike sem különbözött szignifikánsan a két csoport között. A verseny-stressz megjelenését igazolja ez is, hiszen a HRV eltéréseket nem a terhelés intenzitása határozta meg.

Versenyllovakban a HRV és a verseny összefüggéseit még nem vizsgálták.

### **3.3.2 Anyag és módszer**

#### **3.3.2.1. Lovak**

A mérést hét ügető fajtájú lovon (n=7 mén) végeztem el. A lovak kifogástalan egészségi állapotban voltak a kísérleti időszakban, sőt már legalább fél évvel megelőzően is. A lovakat ugyanolyan körülmények között tartották a Kincsem Parkban. Az általánosan elfogadott 3x3 m-es boxban álltak, naponta háromszor abrakot (zab+korpa) és szénát kaptak. Ivóvízhez *ad libitum* hozzáférésük volt. A lovak a vizsgálat idején 3 és 4 év közöttiek voltak. Mind a hét ló ugyanabban az istállóban lakott, és ugyanaz az idomár foglalkozott velük. Hetente 5 napon volt sulky ügető edzésük (3 alkalommal enyhébb, 2 alkalommal erős terhelést kaptak) a kísérletet megelőző 4 hónapban. Hetente 2 pihenőnapot tartottak, ezeken karámban, jártató gépben mozoghattak.

#### **3.3.2.2. A kísérlet menete**

A vizsgálatokat a Kincsem Parkban végeztem. Az edzésen és a versenyen végzett mérések tehát ugyanazon a helyszínen történtek, a lovakat a kísérleti időszak alatt nem szállították. A vizsgálat időtartama alatt a környezeti hőmérséklet és a páratartalom között nem volt releváns különbség.

A pulzusszám, az RR-adatok és a sebesség mérésére a lovakat Polar Equine RS800CX Multi készülékkel (Polar Ltd., New York, USA) szereltem fel. Az elektródákat az előző kísérletben ismertettek szerint rögzítettem a lovon, annyi különbséggel, hogy a jobb oldali elektródát most, bár ugyanazon a ponton, de nem a nyereg, hanem a sulky-hám alatt helyeztem el. Nyugalomban, bemelegítés után, az intenzív terhelés végén közvetlenül illetve 20 perc levezetés után vénás vérmintát gyűjtöttem a *vena jugularis*-ból terhelési laktát-szint emelkedés mérésének céljából. A vért Na-fluorid tartalmú szürke kupakos vérvételi csőbe gyűjtöttem, a mintát a laboratóriumi elemzésig (4-6 órán át) jég között tároltam. A laktát-szintet Olympus AU400 típusú automatával határoztam meg (Beckman Coulter, Hamburg Germany).

A méréseket három különböző helyzetben végeztem el:

- nyugalomban: összesen 20 perc RR-adatot rögzítettem egy átlagos pihenőnapon a reggeli órákban (08:00-09:00), míg a lovak a saját boxukban álltak. Sem a felvételt megelőző 2 órában, sem még utána 2 óráig nem volt esedékes etetés. Minden más zavaró körülményt is igyekeztem kiiktatni.
- könnyű, állandósult állapotban (steady state) végzett tréning során (14.ábra): A lovak minden hétfőn, kedden és pénteken enyhe edzést kapnak, 8-9000 m-t ügetnek a szokásos hajtóval 20-25 km/h sebességgel. A vizsgálatok az említett napokon mindig reggel 8:00 és 10:00 között zajlottak.



**14. ábra: Könnyű tréning a Kincsem Parkban**

- valós versenyen (15. ábra): A lovak a délelőtti órákban valós versenyen futottak 2300 m-t a szokásos hajtójukkal. A HRV adatrögzítést már a felszerelést 10-15 perccel megelőzően, nyugalmi állapotban elkezdtem a ló boxában.



**15. ábra: Ügető verseny a Kincsem Parkban**

### 3.3.2.3. HRV vizsgálat

A kísérlet HRV analízisének megtervezésekor a körülmények adta lehetőségek és a tudományos ajánlások lehető legrugalmasabb összefésülésére törekedtem. Ez alapján az alábbi döntéseket hoztam:

- A telemetriás EKG készülék nagy sebesség mellett nem rögzíthető megfelelően, ráadásul éles versenyhelyzetben kényelmetlen is lehet a lónak, így az ellenérvek dacára RR-detektor használata mellett döntöttem (Polar Equine RS800CX). Döntésem mellett szól, hogy az atrioventrikuláris blokk és egyéb zavaró aritmiák jelenlétével terhelés alatt nem kell számolni, illetve hogy emberekben ez a módszer is validált HRV rögzítési lehetőség. Természetesen az elemzés előtt a lehető legpontosabb műtermék-korrekcióna törekedtem.
- A vizsgálandó szituáció jellegéből adódóan a szakaszhosszúság megválasztásában nem volt túl nagy terem. A versenyfutam ugyanis 2300 m-en 3,5-4 perc időtartamú, vagyis ezen a távon 5 perces szakasz kiválasztása kivitelezhetetlen. Mivel azonban az alapvető szabályt, miszerint csakis azonos szakaszhosszúságú adat elemzése összehasonlítható nem kívántam megszegni, így minden esetben rövidebb időtartam kiválasztására kényszerültem. Az adatfeldolgozást sem akarván megbonyolítani, mindenképp időtartam meghatározást kívántam alkalmazni az ütésszám meghatározás helyett. Végül, hogy a versenyfutam időtartamából is kivágható legyen több többé-kevésbé egységes szívverésszámú szakasz, 1 perces időtartamok elemzését

választottam. Ennek megfelelően a nyugalmi és a könnyű munka során végzett méréseket is 1 perces szakaszok alapján elemeztem.

- Az RR-adatokat idő- és frekvenciatartományban is elemezni kívántam, emellett a műtermékekre legkevésbé érzékeny geometriai elemzést is elvégeztem. Ilyen rövid időtartam elemzésére elsősorban az FFT spektrális analízis alkalmas. A frekvenciatartományokat egy korábbi, szintén ügetőkön, és szintén nagyobb terhelés mellett végzett kísérlet ajánlása alapján határoztam meg (Cottin és mtsai. 2005): LF: 0,04-0,2 Hz és HF: 0,2- 2 Hz. VLF tartomány ilyen rövid időtartam alatt nem mutatható ki.
- A nemek közötti HRV eltérések megléte lovakban még nem maradéktalanul tisztázott tényező, ennek ellenére a lehetséges zavaró vagy fals eredményt adó külső hatások elkerülése érdekében csak méneket vizsgáltam. A vizsgált egyedek egy korcsoportba tartoztak. A cirkadián ritmusok jelenlétét is sikerült többé-kevésbé kiküszöbölni, ha nem is órára pontosan ugyanakkor, de reggeli-délelőtti órákban végeztem az adatrögzítést.
- A kísérletet ügető lovakon végeztem. Ez a lehető legtöbb intézkedés, amit a jármódok okozta HRV torzulás kiküszöbölésére tehettem. Így az enyhe és a maximális terhelés is ugyanabban a jármódban történt, habár a lépés és légzés összhangja az intenzív szakaszban így is befolyásolni fogja az eredményeket (Padilla és mtsai. 2004).

Mindezek alapján tehát a az elemzéseket az alábbi módon végeztem el:

A felvett adatokat a Polar IRDA vezeték nélküli infravörös adatátvivő segítségével számítógépre töltöttem, majd archiváltam. Az RR-adatok elemzését a Tarvainen és Niskanen (Tarvainen 2008) által továbbfejlesztett Kubios 2.2 HRV elemző szoftverrel végeztem. A műhibák eltávolításához a program 'custom' szűrőjét használtam, majd az RR-görbét szemmel is megvizsgáltam és a még fennmaradó hibás jelszakaszokat nem használtam a további elemzéshez.

### Spektrális analízis:

A HRV frekvenciatartományban való számszerűsítésére a Kubios 2.2 program FFT algoritmusát alkalmaztam a Cottin és mtsai. (2006) által leírt beállítások szerint. 256 egymást követő, ( $f_0 = 4$  Hz alapfrekvenciával = 0,25 sec) újrámintázott szívperiódust tekintettem egy ablaknak, amely megfelel egy 64 másodperces periódusnak (ütemek száma = mintavételi alaphfrekvencia x ablakelemzés időtartama). A minimális spektrális frekvencia ( $f_{\min}$ ) 0,016 Hz. ( $F_{\min} = 1/64$ ) volt. Shannon mintavételi tétele szerint a frekvencia felső határa ( $f_{\max}$ ) a következőképpen alakult:  $f_{\max} = f_0/2$ , azaz  $f_{\max} = 2$  Hz.

A frekvenciatartományokat tehát a következőképpen határoztam meg: LF=0,04-0,2 Hz és HF=0,2-2 Hz. A HRV indexeket az LF és a HF spektrális tartományon belüli teljesítményspektrum sűrűség (PSD) összegére számoltam,  $\text{ms}^2/\text{Hz}$  mértékegységben írtam le. Az LF és HF értéket ezután normalizáltam és megadtam a teljes rövid távú spektrális energia (TP) %-os hányadaként is: (LF + HF):  $\text{LFn} = 100 \times \text{LF} / (\text{LF} + \text{HF})$  és  $\text{HFn} = 100 \times \text{HF} / (\text{LF} + \text{HF})$ .

### Időtartományban végzett elemzés:

Az időtartományban végzett elemzést is a Kubios 2.2 program segítségével végeztem. Mivel ez a módszer matematikailag jóval egyszerűbb és egyértelműbb, külön beállításokra nem volt szükség. A „HF-természetű” RMSSD, illetve a geometriai elemzésből adódó, inkább „LF-természetű” SD2 értéket számoltam ki és vettem össze, mivel ezek korábbi tanulmányok szerint a fáradás mérői lehetnek (Cottin és mtsai. 2006, Younes és mtsai. 2016). Fontos azonban, hogy az SD2 értéket a rövid elemzési sor miatt fenntartásokkal kell kezelni, mivel egyes szerzők szerint a geometriai analízis csak hosszabb szakasz esetén ad biztos eredményt.

### A szakasz-kiválasztást az alábbi mintázat alapján végeztem:

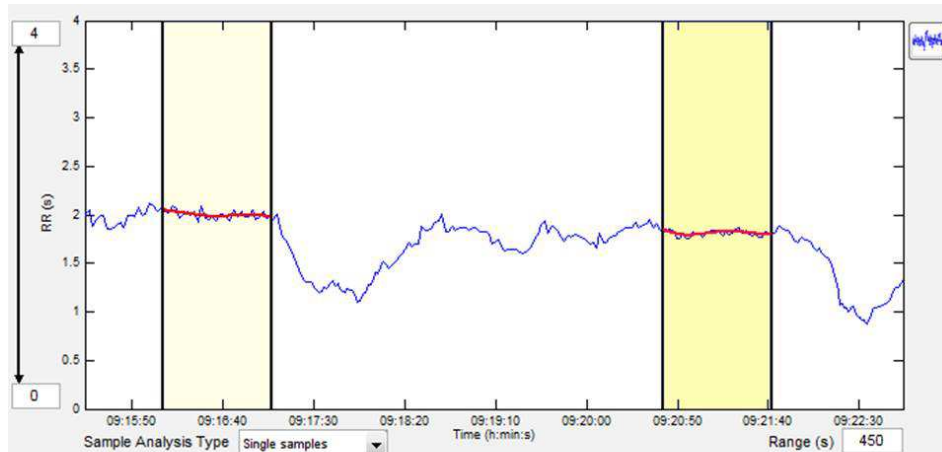
1. nyugalomban: 6x1 perc IBI adatsor elemzését használtam. Vizuális alapon választottam ki a mozgási, légzési és egyéb műtermékektől mentes 1 perces intervallumokat. A szakasz kiválasztás egy példáját nyugalmi felvételen a 16. ábra szemlélteti.

2. tréningben: 6x1 percet vágtam ki.

- 1x1 perc nyugalomban (a ló a boxában áll)
- 1x1 perc a bemelegítés időszakából (lassú ügetés)
- 2x1 perc az edzés alatt (20-25 km/h sebességű steady state edzés)
- 2x1 perc a levezetés során (lépésben)

3. versenyen: 7x1 perc használtam

- 1x1 perc nyugalomban (a ló a boxában áll)
- 1x1 perc a bemelegítés időszakából (gyors ügetés)
- 2x1 perc a verseny alatt (egy köztes szakasz + a befutó)
- 2x1 perc a levezetés során (az 1. lassú ügetés, a 2. minta lépés közben)
- 1x1 perc ismét nyugalomban 20 perccel a verseny után (leszerelve, álló helyzetben az istálló előtt)



**16. ábra: Nyugalmi HRV felvétel műtermékmentes szakaszainak vizuális alapon történő kiválasztása**

### 3.3.3 Eredmények

A lovak teljesítményének és a HRV eredmények könnyebb értékelhetősége céljából a 3. és 4. táblázatban szemléltetem a lovak különböző körülmények között rögzített pulzus értékeit. Jól látható, hogy a steady state állapotban végzett terhelés (3. és 4. HRV szakasz) során a pulzus minden ló esetében 110-130/perces érték körül állandósult.

3. táblázat: az aerob edzés HRV mintavételi szakaszainak átlagos pulzus értékei

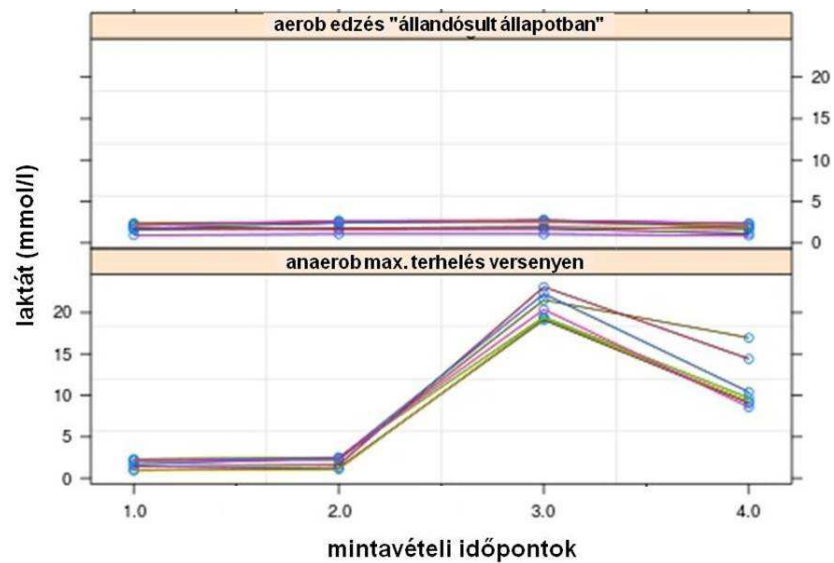
AEROB EDZÉSEN MÉRT PULZUS ÉRTÉKEK								
Ló sorszáma	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	
HRV mintavételi időpontok a kísérletleírásban ismertetett rendszer szerint	1.	42,20	40,78	28,67	29,76	37,78	42,64	45,79
	2.	110,70	81,68	47,34	58,70	57,10	105,72	60,79
	3.	135,81	128,16	112,72	115,31	124,31	137,43	126,34
	4.	136,42	126,18	117,96	113,67	120,78	132,27	133,87
	5.	86,07	97,10	51,22	70,62	83,79	83,51	83,68
	6.	64,47	87,67	45,21	63,10	76,56	81,69	71,64

4. táblázat: a verseny HRV mintavételi szakaszainak átlagos pulzus értékei

VERSENYEN MÉRT PULZUS ÉRTÉKEK								
Ló sorszáma	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	
HRV mintavételi időpontok a kísérletleírásban ismertetett rendszer szerint	1.	34,56	37,00	33,25	51,90	40,30	33,41	34,07
	2.	164,88	59,20	124,48	125,71	181,99	205,53	153,97
	3.	224,65	167,00	205,22	188,67	226,36	227,74	221,09
	4.	231,10	209,35	207,85	191,15	230,09	236,86	232,94
	5.	119,68	142,46	129,12	93,31	132,16	146,90	168,05
	6.	119,75	123,39	109,58		125,86	130,58	119,67
	7.	64,9		71,84	72,98	77,21	78,53	54,19

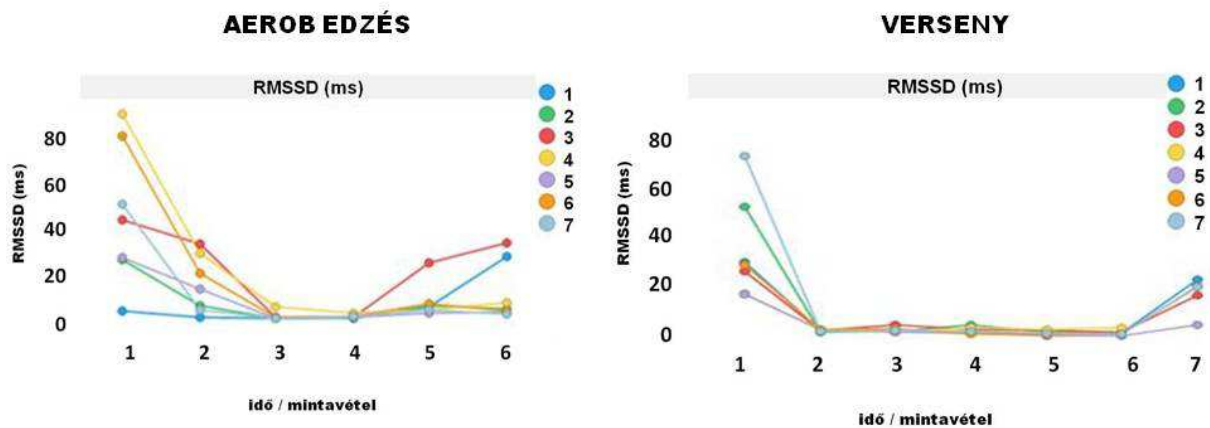
A laktát érték edzésen nem haladta meg egy lónál sem a 4 mmol/l-es laktát-küszöb értéket, vagyis a lovak valóban aerob munkát végeztek, míg versenyen a bemelegítést

követően a laktátszint drasztikusan emelkedett és minden ló az anaerob energianyerés fázisába került (17. ábra).



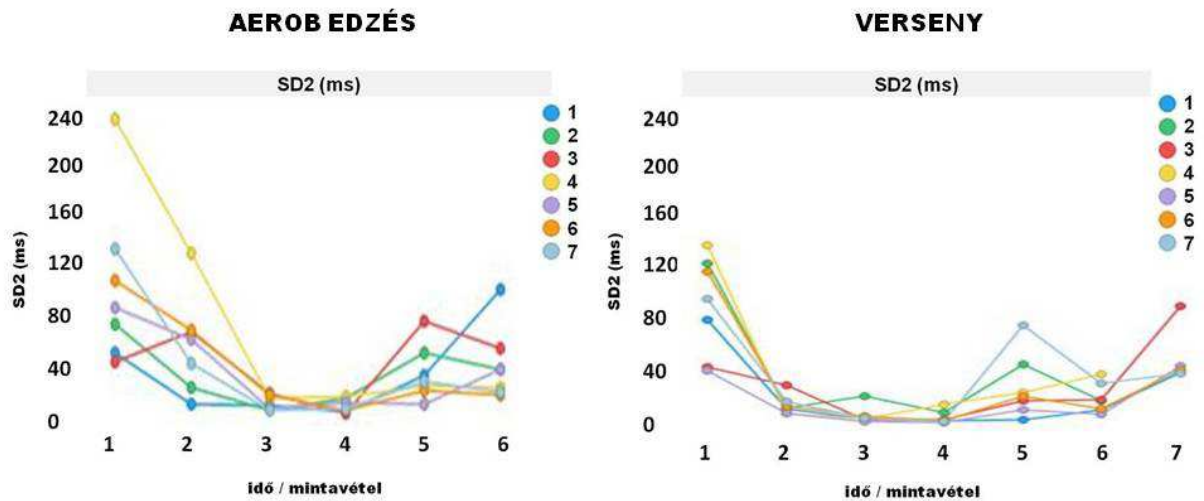
17. ábra: Laktátszint változás aerob edzésen és versenyen

Az RMSSD és az SD2 értékek nem mutattak szignifikáns különbséget a verseny reggelén egy átlagos nyugalmi reggeli méréshez képest (18. és 19. ábra), az LFn ( $P < 0,001$ ) (20. ábra) és az LF/HF ( $P = 0,009$ ) (21. ábra) szignifikánsan magasabb, míg a HFn ( $P < 0,001$ ) érték (22. ábra) szignifikánsan alacsonyabb volt a verseny előtt.

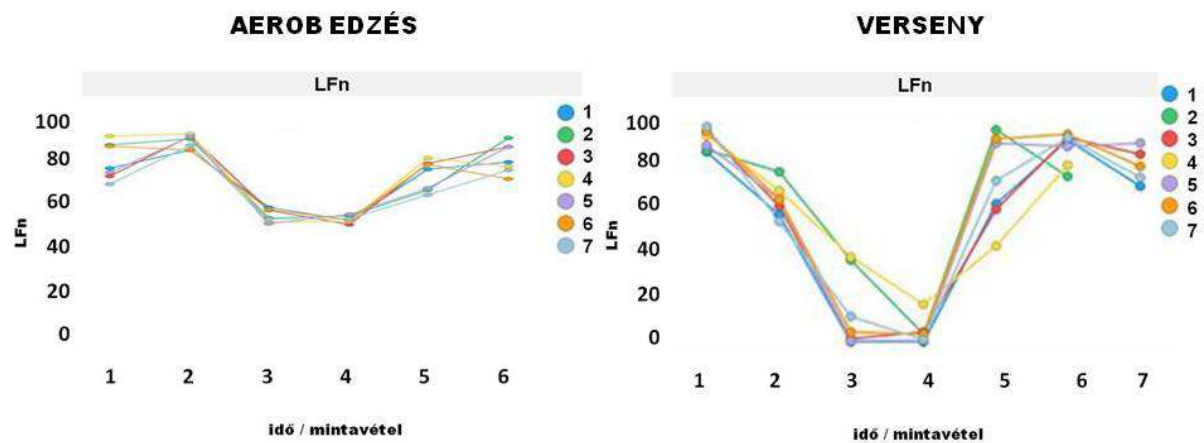


18. ábra: Az aerob edzésen és a versenyen mért RMSSD értékek grafikus megjelenítése

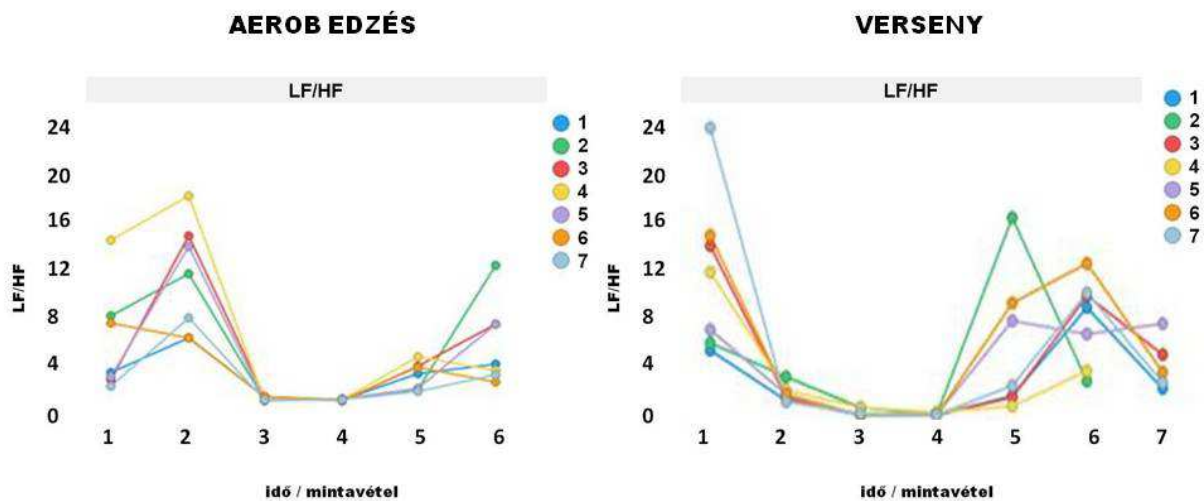




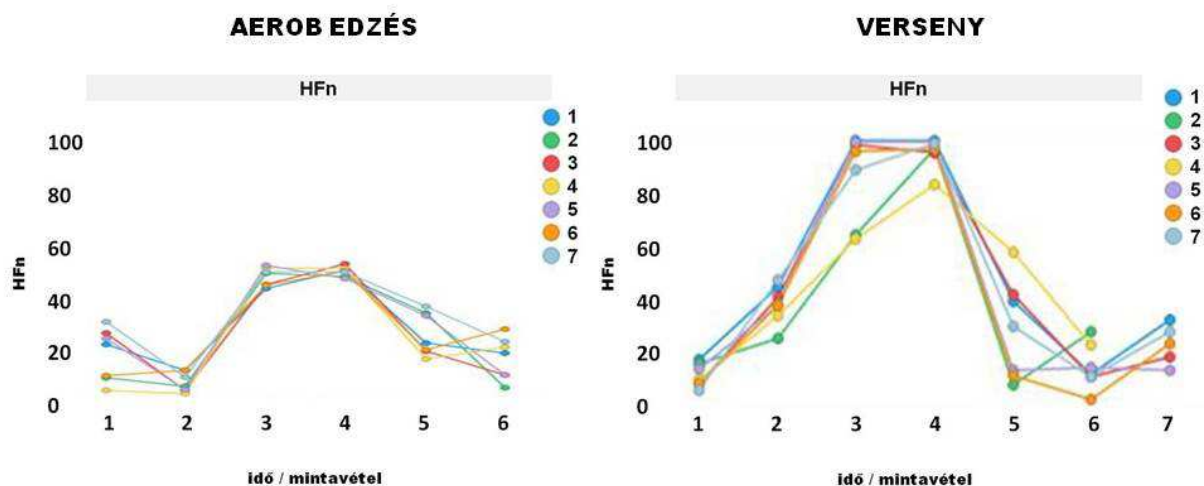
19. ábra: Az aerob edzésen és a versenyen mért SD2 értékek grafikus megjelenítése



20. ábra: Az aerob edzésen és a versenyen mért LFn értékek grafikus megjelenítése



21. ábra: Az aerob edzésen és a versenyen mért LF/HF értékek grafikus megjelenítése



22. ábra: Az aerob edzésen és a versenyen mért HFn értékek grafikus megjelenítése

További eredményem, hogy az állandósul állapotban végzett aerob edzés során az LF/HF érték 95% eséllyel 0,98 és 1,11 közé (95% CI for mean: 0,98 - 1,11), míg maximális terhelés mellett 0,0046 és 0,24 közé esik (95% CI for mean: 0,00 - 0,24) ( $P < 0,001$ ) (21. ábra). Vagyis mind az LF, mind a HF normalizált értéke állandósult állapotban 50% közeli érték, míg maximális terhelés mellett a HFn közel 100% és az LFn ennek megfelelően szinte 0% a teljes teljesítményhez viszonyítva (20. és 22. ábra).

Az időtartományban végzett elemzéssel kapott mutatók (RMSSD, SD2) a fizikai terhelés hatására jelentősen csökkentek, de a csökkenés mértéke nem függött a terhelés intenzitásától. Az RMSSD az aerob edzés terhelés utáni levezetés során hamarabb kezdett visszaemelkedni, mint az anaerob maximális terhelést követően (18. és 19. ábra).

További érdekesség, hogy méréseimben a nyugalmi LF/HF egy vizsgált lóban sem volt 1 alatti érték ( $P < 0,001$ ). A nyugalmi állapotban rögzített 1 perces szakaszok LF/HF értékeinek átlagát az 5. táblázat mutatja be.

5. táblázat: Átlagos nyugalmi LF/HF értékek a vizsgált lovakban

ÁTLAGOS NYUGALMI LF/HF ÉRTÉKEK							
Ló sorszáma	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
<b>LF/HF</b>	2,11	1,79	1,78	2,53	2,81	3,66	2,85

### 3.3.4 Megbeszélés

Állandósult vagy steady state edzésnek nevezzük azt a terhelésintenzitást, amelyet az edzésalany állandósult élettani paraméterek mellett hosszabb távon fenn tud tartani. Jellegéből adódóan ez mindig aerob edzést jelent, ugyanis az anaerob energianyerés során felhalmozódó laktát és széndioxid ellehetetleníti az élettani paraméterek változatlanul tartását. Eredményeimből jól látható, hogy a pulzus állandó értékre állt be a vizsgált lovaknál a teljes edzés alatt, a laktát pedig a 4 mmol/l-es laktátküszöb alatt szintén állandósult, vagyis jelen esetben valóban aerob állandósult tartományban végzett edzésterhelésről beszélhetünk.

A versenyt megelőző stressz HRV mutatóit csak Becker-Birck és mtsai (2013) vizsgálták lovakban, de ebben a kísérletben is kizárólag időtartományban végeztek elemzéseket, az RMSSD és az SDNN mutatókat elemezték. A lovak sportlovak voltak, amelyeket a versenyre (ha nem is azon a napon), de egy idegen lovardából szállítottak az díjugratás- illetve díjlovas verseny helyszínére. Az RMSSD szignifikáns csökkenését figyelték meg a második és harmadik versenynap reggelén, de az első napon ez nem volt még észlelhető. Én a rövid elemzési szakasz-hosszúság, illetve a fenti kísérlet alapján SDNN-t nem, de RMSSD-t számoltam. Az RMSSD jelen kísérletben nem különbözött a verseny reggelén egy átlagos reggeli értékhez képest. Ennek oka valószínűleg nem az anticipációs stressz hiánya, mintsem inkább, hogy ez a mutató nem alkalmas az ilyen „látens” stressz-helyzet kimutatására. Az RMSSD más szerzők szerint a fáradás egyik markere lehet. Véleményem szerint a fenti kísérletben leírt 3 napos verseny során a 2. és 3. napon mért RMSSD csökkenés inkább a kifáradásnak, mintsem a mentális stressznek köszönhető.

A spektrális elemzéssel mért paraméterek alapján ezzel szemben a verseny előtti stressz szignifikánsan kimutatható volt. Magasabb LFn ( $P < 0,001$ ) ill. LF/HF ( $P = 0,009$ ) és alacsonyabb HFn ( $P < 0,001$ ) értéket mértem a verseny reggelén. A kísérleti lovak jelen vizsgálatban a versenypályán is tréningeztek, vagyis környezetváltozásra, szállításra nem került sor a verseny előtt. Ezzel együtt a Kincsem Parkban évek óta rendszeresen szerdán és szombaton írnak ki ügető versenynapot, így a lovak belső biológiai órájuk alapján könnyen lehet, hogy számon tartják ezeket a napokat. Jó kérdés, hogy az aznap nem induló lovakban is megváltozott HRV mutatókat találnék-e ezeken a reggeleken, vagy egyéb jelekből a startra szánt egyedek külön megérik a nap kitüntetett jellegét. A trénerek elmondása szerint a verseny előtti napi pihenő, és megváltozó takarmányozás (plusz energia az esti abrakban) miatt a legtöbb ló egyértelműen megéri a másnapi versenyt és pozitívan vagy negatívan, de megváltozott viselkedéssel reagál rá. Mindemellett a verseny reggelén a lóval foglalkozó emberek megváltozott viselkedése, a hajtót érintő esetleges anticipációs stressz és egyéb emberi tényezők, mint „okos Hans” jelenség közrejátszhatnak a

megváltozott szimpatoparaszimpatikus egyensúlyban. Eredményeim alapján mindenesetre úgy tűnik, hogy az anticipációs stressz ügetőkben is mérhető.

Az állandósult állapotban végzett aerob edzés során az LF/HF érték 95% eséllyel 0,98 és 1,11 közé esett ( $P < 0,001$ ), vagyis az állandósult állapotban végzett edzés HRV elemzéssel is igazolható. Ebben az állapotban az LFn és a HFn is állandósult egyforma, 50 körüli értékre áll be, ami 1 körüli LF/HF értéket eredményez. Kizárólag pulzus alapján - habár sok edző használja ezt a módszert - ez a steady state állapot kétséget kizáróan nem igazolható, előfordulhat állandó pulzus mellett is laktát-emelkedés. A laktát-mérés invazív jellege miatt viszont nem megoldható minden edzés során, vagyis a steady state állapot nem invazív igazolása még nem megoldott lovakban. Az edzésen megfigyelt LFn-HFn kiegyenlítődés, vagyis az LF/HF 1-es érték körülre való beállása az autonóm idegrendszer steady state állapotban beálló teljes egyensúlyára is utalhat, de a HFn légzésszám-növekedésből adódó emelkedésének állandósult légzésszám melletti középértéke is lehet. Abból a szempontból nem lényeges a kettő elkülönítése, hogy ha több lovon is bizonyítjuk, hogy steady state állapotban az LF/HF (valós vagy légzési műtermék okozta) értéke=1, az a trénereknek nagy segítséget nyújthat az adott lónál egy állandósult aerob edzésprogram nem invazív módszerrel végezhető beállításában.

Maximális terhelés mellett, vagyis a versenyfutam alatt az LFn és az LF/HF 0 közeli értékre váltott (95% CI 0,00-0,24;  $P < 0,001$ ), vagyis a magas légzésszám okozta HF emelkedés ügetőkben is eluralta a HRV-t. Az eredményeken jól látható, hogy a lovak pulzusa jóval elhagyta a Physick-Sheard és mtsai (2000) által meghatározott még értelmezhető 130/perces értéket, vagyis ez az eredmény úgymond várható volt. A tény azonban, hogy aerob steady state munkavégzéskor még 1 körüli, majd anaerob energianyeréskor már közel 0 az LF/HF értéke, alátámasztja annak a lehetőségét, hogy az LF/HF 1 alá esése lovakban is a légzési küszöb jelzője lehet. Nagyobb egyedszámmal és légzésfunkció-méréssel végzett kísérlet alapján ez a tudományos megállapítás úttörő lenne a ló-sportélettan területén. Terveim között szerepel egy ilyen kísérlet elvégzése.

További érdekesség, hogy méréseimben a nyugalmi LF/HF egy vizsgált lóban sem volt 1 vagy az alatti érték ( $P < 0,001$ ), sőt inkább 2-3 körül alakult. Vagyis a lovakat jellemző erős paraszimpatikus túlsúly nem manifesztálódott olyan határozottan, mint emberekben. Kuwahara és mtsai. (1999) kimutatták, hogy lovakban - a humán sportolókkal szemben - megfelelő edzésprogram hatására az LF érték - a HF változatlanul maradása mellett - emelkedik. Vagyis a lovak erős paraszimpatikus tónusa már nem erősíthető edzéssel sem, ami egy relatív LF/HF emelkedéshez vezet jól edzett lovakban. Mivel kísérletünkben folyamatosan tréningben lévő, aktív versenylovakat vizsgáltunk, valószínűsíthető, hogy ezen eredmény oka ez a már ismert jelenség: a lovakat jellemző erős paraszimpatikus túlsúly megszűnt és enyhe szimpatikus dominancia váltotta fel.

### 3.4. Általános értékelés

Kísérleteim során a lóverseny fizikális és mentális kihívásainak stressz hatását vizsgáltam kortizol hormon mérések és HRV analízis alapján Magyarországon versenyző ügető és galopp versenylovakon. Alaputatásként kimutattam, hogy a szérum- és a nyálkortizol-koncentráció is napi cirkadián ritmust mutat, vagyis a versenylovak stresszvizsgálatait mindenképpen azonos napszakban kell elvégezni. A nyálmintavétel használhatóságát a szérum és nyál kortizol koncentrációjának gyenge korrelációja miatt sem alátámasztani sem megcáfolni nem tudtam, ehhez további vizsgálatok szükségesek.

Angol telivér galopplovak terhelésre adott kortizolválasza korábbi kísérletek eredményeihez hasonlóan az én vizsgálatomban sem a terhelés intenzitásától függött. Értékelve azonban a lovak alaptermészetét, habitusát is, kísérletem alapján úgy tűnik, hogy a ló „stressztűrőképessége” fontos tényező lehet a terhelésre mutatott kortizolemelkedés ütemének tekintetében. Túledzettség diagnosztika, vagy egyéb okból végzett terheléses kortizolmérés során ezt a szempontot is mérlegelni kell, és ilyenformán megkérdőjelezhető, hogy a kortizol hormon az edzettség meghatározására alkalmas mutató-e.

Versenyző ügető lovak HRV analízise biztató eredményeket hozott, mind a verseny előtti, a lovakat is érintő anticipációs stressz megítélése, mint a terheléses HRV vizsgálat sportélettani jelentősége terén. Habár kétséget kizáró konklúziók levonásához a kísérletben vizsgált egyedszám ( $n=7$ ) túlságosan alacsony volt, úgy tűnik, hogy az anticipációs stressz ügető lovakban kimutatható a verseny előtti HRV adatok spektrális elemzésével. Ennél is jelentősebb tudományos újítás lehetőségével kecsegtet az az eredmény, hogy az ügetők steady state állapotban végzett aerob edzése során az LF/HF érték 1 körüli értéken állandósult, míg maximális terhelés esetén, valós versenyen szinte 0-ára csökkent. A légzési küszöb non invazív mérési módja hiánypótló újítás lehetne lovakban. Emberekben bizonyított tény, hogy erős terhelés során a terhelés elején megemelkedett LF/HF érték 1-re történő visszaesése a légzési küszöb pillanatát jelöli. A fenti eredményeink azt sugallják, hogy ez a mechanizmus lovakban is hasonló lehet, vagyis érdemes e célból a HRV adatokat vér- és respirációs paraméterekkel együtt több ló bevonásával újravizsgálni.

## 4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A témában megjelent ellentmondásos eredmények tisztázását célozva nagyobb egyedszámmal (n=20 ló) és sűrűbb mintavételezéssel (2 óránként) vizsgálva írtam le a lovakban kimutatható szérum- és nyálkortizol-koncentráció napi cirkadián mintázatát. A vér- és nyálkortizol-koncentráció gyenge korrelációját tudtam kimutatni.

2. Én vizsgáltam először a lovak alaptermészetének és terhelésre adott kortizolkoncentráció emelkedésének összefüggését. Megállapítottam, hogy az alaptermészet fontos befolyásoló tényező a kortizolválasz tekintetében. Eredményemmel megkérdőjeleztem a kortizol hormon használhatóságát az akut terhelés mértékének megítélésében.

3. Először mutattam ki HRV mutatókkal versenylovakban a verseny reggelén mérhető, anticipációs mentális stresszt.

4. Vizsgálataim arra utalnak, hogy mind az állandósult állapotban végzett aerob edzés, mind az anaerob küszöb kimutatható és behatárolható HRV mutatók alapján. Eredményeim alapján mindenképp indokolt és terveim között szerepel egy nagyobb egyedszámmal végzett kísérlet elvégzése.

## 5. IRODALOM JEGYZÉK

Achten J., Jeukendrup A.E.: Heart Rate Monitoring - Applications and Limitations, *Sports Med.*, 33:7. 517-538, 2003.

Ahmed A.K., J.B. Harness, A.J. Mearns: Respiratory Control of Heart Rate, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 50. 95-104, 1982.

Alexander S.L., Irvine C.H., Donald R.A.: Dynamics of the regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis determined using a nonsurgical method for collection pituitary venous blood from horses, *Front. Neuroendocrin.*, 17. 1-50, 1996.

Alexander S.L., Irvine C.H.: The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: The importance of monitoring corticosteroid binding globulin capacity, *J. Endocrinol.*, 157. 425-432, 1998.

Anosov O., Patzak A., Kononovich Y., Persson P.B.: High-frequency oscillations of the heart rate during ramp load reflect the human anaerobic threshold, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 83. 388-394, 2000.

Arai Y., Saul J.P., Albrecht P., Hartley L.H., Lilly L.S., Cohen R.J., Colucci W.S.: Modulation of cardiac autonomic activity during and immediately after exercise, *Am. J. Physiol.*, 256. 132-141, 1989.

Armstrong L.E., Van Heest J.L.: The unknown mechanism of the overtraining syndrome: clues from depression and psychoneuroimmunology, *Sports Med.*, 32. 185-209, 2002.

Art T., Demecht D., Amory H., Lekeux P.: Synchronization of locomotion and respiration in trotting ponies, *Zentralb. Vet. Riehe A.*, 37. 95-103, 1990.

Aubert A.E., Seps B., Beckers F.: Heart rate variability in athletes, *Sports Med.*, 33. 889-919, 2003.

Bachmann I., Bernasconi P., Herrmann R., Weishaupt M.A., Stauffacher M.: Behavioural and physiological responses to an acute stressor in crib-biting and control horses, *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 82. 297-311, 2003.

Bartels M.N., Jelic S., Ngai P., Gates G., Newandee D., Reisman S.S., Basner R.C., De Meersman R.E.: The effect of ventilation on spectral analysis of heart rate and blood pressure variability during exercise, *Resp. Physiol. Neurobi.*, 144. 91-98, 2004.

Baumert M., Brechtel L., Lock J., Voss A.: Changes in heart rate variability of athletes during a training camp, *Biomed. Tech.*, 51. 201-204, 2006.

- Becker-Birck M., Schmidt A., Lasarzik J., Aurich J., Möstl E., Aurich C.: Cortisol release and heart rate variability in sport horses participating in equestrian competitions, *J. Vet. Behav.*, 8. 87-94, 2013.
- Beerda B., Schilder M.B.H., Janssen N.S.C.R.M., Mol J.A.: The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs, *Horm. Behav.*, 30. 272-279, 1996.
- Berbalk A., Bauer S.: Diagnostische Aussage der Herzfrequenzvariabilität in Sportmedizin und Trainingswissenschaft, *Z. Angew. Trainingswiss.*, 2. 156-176, 2001.
- Bernardi L., Salvucci F., Suardi R., Soldá P.L., Calciati A., Perlini S., Falcone C., Ricciardi L.: Evidence for an intrinsic mechanism regulating heart rate variability in transplanted and the intact heart during submaximal dynamic exercise, *Cardiovasc. Res.*, 24. 969-981, 1990.
- Berntson G.G., Bigger J.T.Jr., Eckberg D.L., Grossman P., Kaufmann P.G., Malik M., Nagaraja H.N., Porges S.W., Saul J.P., Stone P.H., van der Molen M.W.: Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats, *Psychophysiol.*, 34:6. 623-648, 1997.
- Berntson G.G., Bigger J.T.Jr., Eckberg D.L. et al.: Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats, *Psychophysiol.*, 34. 623-648, 1997.
- Blascovich J., Tomaka J.: The biopsychosocial model of arousal regulation, *Adv. Exp. Soc. Psychol.*, 28. 1-51, 1996.
- Bohák ZS., Langer D., Kutasi O.: Lovak teljesítmény-élettana, *Irodalmi áttekintés, Magy. Állatorv.*, 131. 579-585, 2009.
- Bohák ZS., Szabó F., Beckers J.F., Melo de Sousa N., Kutasi O., Nagy K., Szenci O.: Monitoring the circadian rhythm of serum and salivary cortisol concentrations in the horse, *Domest. Anim. Endocrin.*, 45. 38-42, 2013.
- Bondaduce D., Peetretta M., Cavallaro V.: Intensive training and cardiac autonomic control in high level athletes, *Med. Sci. Sport Exer.*, 30. 691-696, 1998.
- Bousquet-Mélou A., Formentini E., Picard-Hagen N., Delage L., Laroute V., Toutain P.L.: The adrenocorticotropin stimulation test: Contribution of a physiologically based model developed in horse for its interpretation in different pathophysiological situations encountered in man, *Endocrinology*, 147. 4281-4291, 2006.
- Bowen M.: Ambulatory electrocardiography and heart rate variability. In: *Cardiology of the horse 2nd ed.* Szerk.: Marr C., Bowen M. New York: Elsevier Health Sciences, 2011.



320. Martinez R., Godoy A., Naretto E., White A.: Neuroendocrine changes produced by competition stress on the Thoroughbred race horse, *Comp. Biochem. Physiol. A. Comp. Physiol.*, 91. 599-602, 1988
- Bowen I.M., Marr C.M.: The effects of glycopyrrolate and propranolol frequency domain analysis of heart rate variability in the horse, *J. Vet. Intern. Med.*, 12. 255, 1998.
- Breitenbach C.: Die gesundheitsbezogene Lebensqualität und das kardiovaskuläre Regulationsverhalten, Berlin: Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin, 19, 2013.
- Brown T.E., Beightol L.A., Koh J., Eckberg D.L.: Important influence of respiration on human R-R interval power spectra is largely ignored, *J. Appl. Physiol.* (1985), 75:5. 2310-2317, 1993.
- Bruin G., Kuipers H., Keizer H.A., Vander Vusse G.J.: Adaptation and overtraining in horses subjected to increasing training loads, *J. Appl. Physiol.*, 76. 1908-1913, 1994.
- Carroll T., Raff H., Findling J.W.: Late-night salivary cortisol measurement in the diagnosis of Cushing's syndrome, *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.*, 4. 344-350, 2008.
- Carter J.B., Banister E.W., Blaber A.P.: Effect of Endurance exercise on Autonomic Control of Heart Rate, *Sports Med.*, 33:1. 33-46, 2003.
- Carvalho de T.D., Pastre C.T, Rossi R.C., Abreu de L.C., Valenti V.E., Vanderlei L.C.M.: Geometric index of heart rate variability in chronic obstructive pulmonary disease, *Rev. Port. Pneumol.*, 17. 260-265, 2011.
- Casadei B., Cochrane S., Johnston J., Conway J., Sleight P.: Pitfalls in the interpretation of spectral analysis of the heart rate variability during exercise in humans, *Acta. Physiol. Scand.*, 153. 125-131, 1995.
- Casadei B., Moon J., Johnston J., Caiazza A., Sleight P.: Is respiratory sinus arrhythmia a good index of cardiac vagal tone in exercise?, *J. Appl. Physiol.*, 81. 556-564, 1996.
- Cavallone E., Giancamillo M.D., Secchiero B., Belloli A., Pravettoni D., Rimoldi E.M.: Variations of serum cortisol in Argentine horses subjected to ship transport and adaptation stress, *J. Equine Vet. Sci.*, 22. 541-545, 2002.
- Cayado P., Muñoz-Escassi B., Domínguez C., Manley W., Olabarri B., Sánchez de la Muela M., Castejon F., Marañón G., Vara E.: Hormone response to training and competition in athletic horses, *Equine Vet. J. Suppl.*, 36. 274-278, 2006.

- Cerutti S., Bianchi A.M., Mainardi L.T.: Spectral analysis of the heart rate variability signal, In: *Heart rate variability*. Szerk.: Malik M., Camm A.J. New York, USA: Futura Publishing, 1995. 63-74.
- Christensen J.W., Ahrendt L.P., Lintrup R., Gaillard C., Palme R., Malmkvist J.: Does learning performance in horses relate to fearfulness, baseline stress hormone, and social rank?, *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 140. 44-52, 2012.
- Christensen J.W., Beekmanns M., van Dalum M., VanDierendonck M.: Effects of hyperflexion on acute stress response in ridden dressage horses, *Physiol. Behav.*, 128. 39-45, 2014.
- Church D.B., Evans D.L.: The effect of exercise on plasma adrenocorticotrophin, cortisol and insulin in the horse and adaptations with training. In: *Equine Exercise Physiology 2*. Szerk.: Gillepsie J.R., Robinson N.E. New York: Edward Bros, 1987. 506-515.
- Clément F., Barrey É.: Fluctuations de la fréquence cardiaque chez le cheval au repos: (2) facteurs de variation biologiques liés au profil comportemental. Heart rate fluctuations in horse at rest: biological factors of variation related to behavioural patterns, *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie/Life sciences, Séries III* 318. 867-872, 1995.
- Cole C.R., Blackstone E.H., Pashkow F.J., Snader C.E., Lauer M.S.: Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality, *New Engl. J. Med.*, 341. 1351-1357, 1999.
- Cordero M., Brorsen B.W., McFarlane N.: Circadian and circannual rhythms of cortisol, ACTH, and melanocyte-stimulating hormone in healthy horses, *Dom. Anim. Endocrin.*, 43. 317-324, 2012.
- Cottin F., Médigue C., Lopes P., Petit E., Papelier Y., Billat V.L.: Effect of exercise intensity and repetition on heart rate variability during training in elite trotting horse, *Int. J. Sports Med.*, 26:10. 859-867, 2005.
- Cottin F., Papelier Y., Escourrou P.: Effects of exercise load and breathing frequency on heart rate and blood pressure variability during dynamic exercise, *Int. J. Sports Med.*, 20. 232-238, 1999.
- Cottin F., Barrey E., Lopes P., Billat V.: Effect of repeated exercise and recovery on heart rate variability in elite trotting horses during high intensity interval training, *Equine Vet. J.*, 36. 204-209, 2006.
- Cottin F., Médigue C., Leprêtre P.M., Papelier Y., Koralsztein J.P., Billat V.: Heart rate variability during exercise performed below and above ventilatory threshold, *Med. Sci. Sport Exer.*, 36:4. 594-600, 2004.

- Cravana C., Medica P., Prestopino M., Fazio E., Ferlazzo A.: Effects of competitive and noncompetitive show jumping on total and free iodothyronines,  $\beta$ -endorphin, ACTH and cortisol levels of horses, *Equine Vet. J. Suppl.*, 38. 179-184, 2010.
- Curley K.O.Jr., Neuendorff D.A., Lewis A.W., Cleere J.J., Welsh T.H., Randel R.D.: Functional characteristics of the bovine hypothalamic-pituitary-adrenal axis vary with temperament, *Horm. Behav.*, 53. 20-27, 2008.
- Dallaire A., Ruckebusch Y.: Sleep and wakefulness with housed pony under different dietary conditions, *Can. J. Comp. Med.*, 28. 65-71, 1974.
- De Graaf Roelfsema E., Keizer H.A., van Breda E., Wijnberg I.D., van der Kolk J.H.: Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining a review with emphasis on the horse, *Vet. Quart.*, 29:3. 82-101, 2007.
- Desmecht D., Linden A., Amory H., Art T., Lekeux P.: Relationship of plasma lactate production to cortisol release following completion of different type of sporting events in horses, *Vet. Res. Commun.*, 20. 371-379, 1996.
- Dienstbier R.A.: Arousal and physiological toughness: Implications for mental and physical health, *Psychol. Rev.*, 96. 84-100, 1989.
- Dorin R.I., Pai H.K., Ho J.T., Lewis J.G., Torpy D.J., Urban F.K. 3rd, Qualls C.R.: Validation of a simple method of estimating plasma free cortisol: Role of cortisol binding to albumin, *Clin. Biochem.*, 42. 64-71, 2009.
- Duclos M., Corcuff J.B., Arsac L., Moreau-Gaudry F., Rashedi M., Roger P., Tabarin A., Manier G.: Corticotroph axis sensitivity after exercise in endurance-trained athletes, *Clin. Endocrinol.*, 48. 493-501, 1998.
- Eager R.A., Norman S.E., Waran N.K., Price J.P., Welsh E.M., Marlin D.J., 2004. In: *Repeatability Diurnal Variation and Temperament: Factors Affecting Heart Rate Variability in Horses*. Szerk.: Hänninen L., Valros A. International Congress of the ISAE, Helsinki, 2004. 235.
- Edwards D.A., Kurlander L.S.: Women's intercollegiate volleyball and tennis: effects of warm-up, competition, and practice on saliva levels of cortisol and testosterone, *Horm. Behav.*, 58. 606-613, 2010.
- Eiler H., Goble D., Oliver J.: Adrenal gland function in the horse: effects of dexamethasone on hydrocortisone secretion and blood cellularity and plasma electrolyte concentrations, *Am. J. Vet. Res.*, 40. 727-729, 1979.

- Elsaesser F., Klobasa F., Ellendorff F.: Evaluation of salivary cortisol determination and of cortisol responses to ACTH as markers of the training status/fitness of warm blood sports horses, *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 108. 31-36, 2001.
- Esperer H.D.: Die Herzfrequenzvariabilität, ein neuer Parameter für die nichtinvasive Risikostratifikation nach Myokardinfarkt und arrhythmogener Synkope, *Herzschrittmacher Elektrophysiol.*, 3. 1-16, 1992.
- Evans J.W., Winger C.M., Pollak E.J.: Rhythmic cortisol secretion in equine: analysis and physiological mechanism, *J. Interdiscipl. Cycle. Res.*, 8:2. 111-121, 1977.
- Fazio E., Medica P., Cravana C., Ferlazzo A.: Effects of competition experience and transportation on the adrenocortical and thyroid responses of horses, *Vet. Rec.*, 163. 713-716, 2008.
- Ferlazzo A., Medica P., Cravana C., Fazio E.: Circulating  $\beta$ -endorphin, adrenocorticotropin, and cortisol concentrations of horses before and after competitive show jumping with different fence heights, *J. Equine Vet. Sci.*, 32. 740-746, 2012.
- Fleisher L.A.: Heart Rate Variability as an assessment of cardiovascular status, *J. Cardiothor Vasc. An.*, 10. 659-671, 1996.
- Foster C., Lehman M.: Overtraining syndrome. In: *Running Injuries*. Szerk.: Guten G.N. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997. 173-188.
- Foster C.: Monitoring training in athletes with reference to overtraining syndrome, *Med. Sci. Sport Exer.*, 30. 1164-1168, 1998.
- Freestone J.F., Wolfsheimer K.J., Kamerling S.G., Church G., Hamra J., Bagwell C.: Exercise induced hormonal and metabolic changes in Thoroughbred horses: effects of conditioning and acepromazine. *Equine Vet. J.*, 23. 219–223, 1991.
- Furlan R., Guzetti S., Crivellaro W., Dassi S., Tinelli M., Baselli G., Cerutti S., Lombardi F., Pagani M., Malliani A.: Continuous 24-hour assessment of the neural regulation of systemic arterial pressure and RR variabilities in ambulant subjects, *Circulation*, 81. 537-547, 1990.
- Garde A.H., Hansen A.M.: Long-term stability of salivary cortisol, *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 65. 433-436, 2005.
- Gehrke E., Baldwin A., Schlitz P.: Heart Rate Variability in Horses Engaged in Equine-Assisted Activities, *J. Equine Vet. Sci.*, 31:2. 78-84, 2011.
- George E. Billman: Heart rate variability-a historical perspective, *Front. Physiol.*, 2:86, 2011.

- Goeders N.E.: The impact of stress on addiction, *Eur. Neuropsychopharm.*, 13. 435-441, 2003.
- Gold P.W., Chrousos G.P.: Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states, *Mol. psychiatr.*, 7. 254-275, 2002.
- Goldberger J.J., Challapalli S., Tung R., Parker M.A., Kadish A.H.: Relationship of heart rate variability to parasympathetic effect, *Circulation*, 103. 1977-1983, 2001.
- Goldsmith R.L., Bigger J.T.Jr., Steinman R.C., Fleiss J.L.: Comparison of 24-hour parasympathetic activity in endurance-trained and untrained young men, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 20. 552-558, 1992.
- Golland L.C., Evans D.L., Stone G.M., Tyler C.M., Rose R.J., Hodgson D.R.: The effect of overtraining on plasma cortisol concentrations at rest and in response to exercise and administration of synthetic adrenocorticotropin in Standardbred racehorses, *Pferdeheilkunde*, 12. 531-533, 1996.
- Gordon M.E., McKeever K.H., Bokman S., Betros C.L., Manso Filho H.C., Liburt N., Streltsova J.: Exercise-induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses, *Vet. J.*, 173. 532-540, 2007.
- Gregoire J., Tuck S., Yamamoto Y., Hughson R.L.: Heart rate variability at rest and exercise: influence of age, gender, and physical training, *Can. J. Appl. Physiol.*, 21. 455-470, 1996.
- Guyton A.C., Hall J.E.: *Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia: Elsevier Saunders., 2006. 950-957.
- Guzik P., Piskorski J., Krauze T., Schneider R., Wesseling K.H., Towicz A.W., Wysocki H.: Correlations between the Poincaré Plot and conventional heart rate variability parameters assessed during paced breathing, *J. Physiol. Sci.*, 57. 63-71, 2007.
- Hada T., Ohmura H., Mukai K., Eto D., Takahashi T., Hiraga A.: Utilisation of the time constant calculated from heart rate recovery after exercise for evaluation of autonomic activity in horses, *Equine Vet. J.*, 38. 141-145, 2006.
- Hainsworth R.: The control and physiological importance of heart rate. In: *Heart rate variability*. Szerk.: Malik M, Camm AJ, New York: Futura Publ. Comp., 1995. 3-19.
- Halberg F., Tong Y.L., Johnson E.A.: Circadian system phase, an aspect of temporal morphology: procedures and illustrative examples. In: *The Cellular Aspects of biorhythms*. Szerk.: Mayersbach H.V. Berlin: Springer, 1967. 22-48.

- Hales S.: *Statistical Essays: Concerning Haemastatics; or, an Account of some Hydraulic and Hydrostatical Experiments made on the Blood and Blood-Vessels of Animals.* London: W. Innys and R. Manby, 1733.
- Hamlin, M.J., Shearman J.P., Hopkins W.G.: Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses. *Equine Vet. J.*, 34, 383-388, 2002.
- Hautala A., Mäkikallio T.H., Seppänen T., Huikuri H.V., Tulppo M.P.: Short-term correlation properties of R-R interval dynamics at different exercise intensity levels, *Clin. Physiol.*, 23, 215-223, 2003.
- Hautala A., Tulppo M.P., Mäkikallio T.H., Laukkanen R., Nissilä S., Huikuri H.V.: Changes in cardiac autonomic regulation after prolonged maximal exercise, *Clin. Physiol. Oxf. Engl.*, 21. 238-245, 2001.
- Hellhammer D.H., Wüst S., Kudielka B.M.: Salivary cortisol as a biomarker in stress research, *Psychoneuroendocrinol.*, 34. 163-171, 2009.
- Hirsh J.A., Bishop B.: Respiratory sinus arrhythmia in humans; how breathing pattern modulates heart rate, *Am. J. Physiol.*, 241. 620-629, 1981.
- Hoffsis G.F., Murdick P.W., Tharp V.L., Ault K.: Plasma concentrations of cortisol in the normal horse, *Am. J. Vet. Res.*, 31. 1379-1387, 1970.
- Hon E.H., Lee S.T.: Electronic evaluations of the fetal heart rate patterns preceding fetal death: further observations, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 87. 814-826, 1965.
- Houle M.S., Billman G.E.: Low-frequency component of the heart rate variability spectrum: a poor marker of sympathetic activity, *Am. J. Physiol.*, 276. 215-223, 1999.
- Iellamo F.: Neural mechanisms of cardiovascular regulation during exercise, *Auton. Neurosci-basis*, 90. 66-75, 2001.
- Irvine C.H., Alexander S.R.: Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse, *Domest. Anim. Endocrin.*, 11. 227-238, 1994.
- Jimenez M., Hinchcliff K.W., Farris J.W.: Catecholamine and cortisol responses of horses to incremental exertion, *Vet. Res. Commun.*, 22. 107-118, 1998.
- Jonckheer-Sheehy V.S.M., Vinke C.M., Ortolani A.: Validation of Polar human heart rate monitor for measuring heart rate and heart rate variability in adult dogs under stationary conditions, *J. Vet. Behav.*, 7. 205-212, 2012.
- Kardos A., Gingl Z.: A szisztémás vérnyomás és a pulzusvariabilitás folyamatos, nem invazív, on-line vizsgálata emberben, *Cardiologia Hungarica*, 2. 39-52, 1994.

- Kędzierski W., Cywińska A.: The effect of different physical exercise on plasma leptin, cortisol, and some energetic parameters concentrations in purebred Arabian horses, *J. Equine Vet. Sci.*, 34. 1059-1063, 2014.
- Keizer H.A.: Neuroendocrine aspects of overtraining. In: *Overtraining in Sport*. Szerk.: Kreider R.B., Fry A.C., O'Toole M.L. Champaign: Human Kinetics, 1998. 145-168.
- Kember G., Fenton G.A., Armour J.A., Kalyaniwalla N.: Competition model for aperiodic stochastic resonance in a Fitzhugh-Nagumo model of cardiac sensory neurons, *Phys. Rev. E.*, 63. 41-91, 2001.
- Kindermann W., Schnabel A., Schmitt W.M., Biro G., Cassens J., Weber F.: Catecholamines, growth hormone, cortisol, insulin, and sex hormones in anaerobic and aerobic exercise, *Eur. J. Appl. Phys.*, 49. 389-400, 1982.
- Kingsley M., Lewis M.J., Marson R.E.: Comparison of Polar 810s and an ambulatory ECG system for RR interval measurement during progressive exercise, *Int. J. Sports Med.*, 26. 39-44, 2005.
- Kinnunen H., Heikkilä I.: The timing accuracy of the Polar Vantage NV heart rate monitor, *J. Sport. Sci.*, 16. 107-110, 1998.
- Kinnunen S., Laukkanen R., Haldi J., Hanninen O., Atalay M.: Heart rate variability in trotters during different training periods, *Equine Vet. J.*, 38. 214-217, 2006.
- Kiviniemi A.M., Hautala A.J., Kinnunen H., Tulppo M.P.: Endurance training guided individually by daily heart rate variability measurements, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 101:6. 743-751, 2007.
- Kjellgren O., Gomes J.A.: Heart rate variability and baroreflex sensitivity in the myocardial infarction, *Am. Heart J.*, 125. 204-215, 1993
- Kleiger M.D., Phyllis K., Stein D., Bigger J.T.: Heart Rate Variability: Measurement and Clinical Utility, *Ann. Noninvas. Electro.*, 10:1. 88-101, 2005.
- Kohl P., Kamkin A.G., Kiseleva I.S., Streubel T.: Mechanosensitive cells in the atrium of frog heart, *Exp. Physiol.*, 77. 213-216, 1992.
- Kovács L., Kézér F.L., Kulcsár-Huszenicza M., Ruff F., Szenci O., Jurkovich V.: Hypothalamic-pituitary-adrenal and cardiac autonomic responses to transrectal examination differ with behavioral reactivity in dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 99. 7444-7457, 2016.
- Kraemer R.R., Acevedo E.O., Synovitz L.B., Durand R.J., Johnson L.G., Petrella E., Fineman M.S., Gimpel T., Castracane V.D.: Glucoregulatory endocrine responses to

intermittent exercise of different intensities: plasma changes in a pancreatic beta-cell peptide, amylin, *Metabolis.*, 51. 657-663, 2002.

Kuipers H., Keizer H.A.: Overtraining in elite athletes: review and directions for the future, *Sports Med.*, 6. 79-92, 1998.

Kuipers H.: Training and overtraining: an introduction, *Med. Sci. Sport Exer.*, 30:7. 1137-1139, 1998.

Kuno Hottenrott, Olaf Hoos, Hans Dieter Esperer: Herzfrequenzvariabilität und Sport, *Herz*, 31. 544-552, 2006.

Kuwahara M., Hashimoto S., Ishii K., Yagi Y., Hada T., Hiraga A., Kai M., Kubo K., Oki H., Tsubone H., Sugano S.: Assessment of autonomic nervous function by power spectral analysis of heart rate variability in the horse, *J. Autonom. Nerv. Syst.*, 60. 43-48, 1996.

Kuwahara M., Suzuki A., Tsutsumi H., Tanigawa M., Tsubone H., Sugano S.: Power Spectral Analysis of Heart Rate Variability for Assessment of Diurnal Variation of Autonomic Nervous Activity in Miniature Swine, *Lab. Anim. Sci.*, 49:2. 202-208, 1999a.

Kuwahara M., Hiragat A., Kalt M., Tsubone H., Sugano S.: Influence of training on autonomic nervous function in horses: evaluation by power spectral analysis of heart rate variability, *Equine Vet. J.*, 30. 178-180, 1999b.

Lansade L., Simon F.: Horses' learning performances are under the influence of several temperamental dimensions, *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 125. 30-37, 2010.

Lebelt D., Schönreiter S., Zanella A.: Salivary cortisol in stallions: The relationship with plasma levels, daytime profile and changes in response to semen collection, *Pferdeheilkunde*, 12. 411-414, 1996.

Lehrer P.M., Vaschillo E., Vaschillo B., Lu S.E., Eckberg D.L., Edelberg R., Shih W.J., Lin Y., Kuusela T.A., Tahvanainen K.U., Hamer R.M.: Heart rate variability biofeedback increases baroreflex gain and peak expiratory flow, *Psychosom. Med.*, 65:5. 796-805, 2003.

Lewinski M., Biau S., Erber R., Ille N., Aurich J., Faure J.M., Möstl E., Aurich C.: Cortisol release, heart rate and heart rate variability in the horse and its rider: Different responses to training and performance, *Vet. J.*, 197. 229-232, 2013.

Lewis M.J., Kingsley M., Short A.L., Simpson K.: Influence of high-frequency bandwidth on heart rate variability analysis during physical exercise, *Biomed. Sign. Proc. and Contr.*, 2. 34-39, 2007.



- Linden A., Art T.: Effect of 5 different types of exercise, transportation and ACTH administration on plasma cortisol concentration in sport horses. In: *Equine exercise physiology* 3. Szerk.:Persson S.G., Lindholm A., Jeffcott L.B. CA: ICEEP Publications. Davis, 1991. 391-396.
- Lindner A., Fazio E., Ferlazzo Alida M., Medica P., Ferlazzo A.: Plasma cortisol concentration in Thoroughbred horses during and after standardized exercise tests on a treadmill and effect of conditioning on basal cortisol values, *Pferdeheilkunde*, 5. 502-510, 2000.
- Loimaala A., Sievänen H., Laukkanen R., Parkka J., Vuori I., Huikuri H.: Accuracy of a novel real-time microprocessor QRS detector for heart rate variability assessment, *Clin. Physiol.*, 19. 84-88, 1999.
- Lloyd A.S., Martin J.E., Bornett-Gauci H.L.I., Wilkinson R.G.: Evaluation of a novel method of horse personality assessment: Rater-agreement and links to behaviour, *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 105. 205-222, 2007.
- Luby J.L., Heffelfinger A.K., Mrakotsky C., Hessler M.J., Brown K.M., Hildebrand T.: Preschool major depressive disorder: preliminary validation for developmentally modified DSM-IV criteria, *J. Am. Acad. Child Psy.*, 41. 928-937, 2002.
- Macor F., Fagard R., Amery A.: Power spectral analysis of RR interval and blood pressure short-term variability at rest and during dynamic exercise: comparison between cyclists and controls, *Int. J. Sports Med.*, 17. 175-181, 1996.
- Malik M., Xia R., Odemuyiwa O., Staunton A., Poloniecki J., Camm A.J.: Influence of the recognition artefact in the automatic analysis of long-term electrocardiograms on time-domain measurement of heart rate variability, *Med. Biol. Eng. Comput.*, 31. 539-544, 1993.
- Malik M.: Heart Rate Variability, Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use: The force of The European Society of Cardiology and North American Society of Pacing and Electrophysiology, *Ann. Noninvas. Electro.*, 151-181, 1996.
- Malinowski K.: Effects of training/exercise/stress on plasma cortisol and lactate in Standardbred yearlings, *J. Anim. Sci.*, 65. 222, 1987.
- Malinowski K., Potter J.T., Dinger J.E.: Effects of exercise and competition on plasma cortisol and lactate concentrations and heart rate on Polo ponies. Proceedings of the 13th Equine Nutrition and Physiology Society Symposium, University of Florida, Gainesville. 1993.

- Malinowski K., Shock E.J., Rochelle P., Kearns C.F., Guirnalda P.D., McKeever K.H.: Plasma  $\beta$ -endorphin, cortisol and immune responses to acute exercise are altered by age and exercise training in horses, *Equine Vet. J.*, 36. 267-273, 2006.
- Malliani A. Association of heart rate variability components with physiological regulatory mechanisms. In: *Heart rate variability*. Szerk.: Malik M., Camm A.J. New York, USA: Futura Publishing, 1995. 173-88.
- Malliani A., Pagani M., Lombardi F., Cerutti S.: Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain, *Circulation*, 84. 1482-1492, 1991.
- Manteca X., Deag J.M.: Individual differences in temperament of domestic animals: A review of methodology, *Anim. Welfare*, 2. 247-268, 1993.
- Marc M., Parvizi N., Ellendorff F., Kallweit E., Elsaesser F. : Plasma cortisol and ACTH concentrations in the warmblood horse in response to a standardized treadmill exercise test as physiological markers for evaluation of training status, *J. Anim. Sci.*, 78. 1936-1946, 2000.
- Marchant-Forde R.M., Marlin D.J., Marchant Forde J.: Validation of a cardiac monitor for measuring heart rate variability in adult female pigs: accuracy, artefacts and editing, *Physiol. Behav.*, 80. 449-458, 2004. .
- Mason J.W.: A review of psychoendocrine research on the pituitary-adrenal cortical system, *Psychosom. Med.*, 30. 576-607, 1968.
- Mathew S.J., Coplan J.D., Goetz R.R., Feder A., Greenwald S., Dahl R.E., Ryan N.D., Mann J.J., Weissman M.M.: Differentiating depressed adolescent twenty-four hour cortisol secretion in light of their adult clinical outcome, *Neuropsychopharmacol.*, 28. 1336-1343, 2003.
- Matlina E.: Effects of physical activity and other types of stress on catecholamine metabolism in various animal species, *J. Neural Transm.*, 60. 11-18, 1984.
- Matsuura A., Tanaka M., Irimajiri M., Yamazaki A., Nakanowatari T., Hodate K.: Heart rate variability after horse trekking in leading and following horses, *Anim. Sci. J.*, 81. 618-621, 2010.
- Mayer M., Shafrir E., Kaiser N., Milholland R.J., Rosen F.: Interaction of glucocorticoid hormones with rat skeletal muscle: catabolic effects and hormone binding, *Metabolism*, 25. 157-167, 1976.
- McArdle W.D., Katch F.I.: *Essentials of Exercise Physiology*. Philadelphia: Lea & Faebiger. 1994.

- McKeever K.H.: The endocrine system and the challenge of exercise, *Vet. Clin. N. Am. - Equine*, 18. 321-353, 2002.
- Minero M., Zucca D., Canali E.: A note on reaction to novel stimuli and restraint by therapeutic riding horses, *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 97. 342-355, 2006.
- Mohr E., Witte E., Voss B.: Heart rate variability as stress indicator, *Arch. Tierz., Dummerstorf* 43. 171-176, 2000.
- Mourot L., Bouhaddi M., Tordi N.: Short- and long-term effects of a single bout of exercise on heart rate variability: comparison between constant and interval training exercises, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 92. 508-517, 2004.
- Munsters C.C.B.M., Gooijer J.W., van den Broek J., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M.M.: Heart rate, heart rate variability and behaviour of horses during air transport, *Vet. Rec.*, 172. 15-21, 2013.
- Murphy B.A., Martin A.M., Furney P., Elliot J.A.: Absence of a serum melatonin rhythm under acutely extended darkness in the horse, *J. Circ. Rhythms.*, 9. 3, 2011.
- Nagata S., Takeda F., Kurosawa M., Mima K., Hiraga A., Kai M., Taya K.: Plasma adrenocorticotropin, cortisol and catecholamines response to various exercises, *Equine Vet. J. Suppl.*, 30. 570-574, 1999.
- Nagy K., Bodó G., Bárdos G., Harnos A., Kabai P.: The effect of a feeding stress-test on the behaviour and heart rate variability of control and crib-biting horses (with or without inhibition), *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 121. 140-147, 2009.
- Nakamura Y., Yamamoto Y., Muraoka I.: Autonomic control of heart rate during physical exercise and fractal dimension of heart rate variability, *J. Appl. Physiol.*, 74. 875-881, 1993.
- Naveri H.: Blood hormone and metabolite levels during graded cycle ergometer exercise, *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 45. 599-604, 1985.
- Nicolson N., Storms C., Ponds R., Sulon J.: Salivary cortisol levels and stress reactivity in human aging, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 52. 68-75, 1997.
- Niskanen J.-P., Travainen M.P., Ranta-Aho P., Karjalainen P.A.: Software for advanced HRV analysis, *Comput. Meth. Prog. Bio.*, 76:1. 73-81, 2004.
- Oel C., Gerhards H., Gehlen H.: Einfluss von Schmerzstimuli auf die Herzfrequenzvariabilität bei Pferden in Allgemeinanästhesie (Influence of nociceptive stimuli on heart rate variability in equine general anesthesia), *Pferdeheilkunde*, 26. 232-238, 2010.

- Ohmura H., Hobo S., Hiraga A., Jones J.H.: Changes in heart rate and heart rate variability during transportation of horses by road and air, *Am. J. Vet. Res.*, 73. 515-521, 2012.
- Oinuma S., Kubo Y., Otsuka K., Yamanaka T., Murakami S., Matsuoka O., Ohkawa S., Cornélissen G., Weydahl A., Holmeslet B., Hall C., Halberg F.: Graded response of heart rate variability, associated with an alteration of geomagnetic activity in a subarctic area, *Biomed. Pharmacother.*, 56(Suppl2). 284-288, 2002.
- Okazaki K., Iwasaki K., Prasad A., Palmer M.D., Martini E.R., Fu Q., Arbab-Zadeh A., Zhang R., Levine B.D.: Dose-response relationship of endurance training for autonomic circulatory control in healthy seniors, *J. Appl. Physiol.*, 99. 1041-1049, 2005.
- Orizio C., Perini R., Comandè A., Castellano M., Beschi M., Veicsteinas A.: Plasma catecholamines and heart rate at the beginning of muscular exercise in man, *Eur. J. Appl. Physiol. O.*, 57. 644-651, 1988.
- Padilla D.J., McDonough P., Kindig C.A., Erickson H.H., Poole D.C.: Ventilatory dynamics and control of blood gases following maximal exercise in the thoroughbred horse, *J. Appl. Physiol.*, 96. 2187-2193, 2004.
- Pajor F., Kovács A., Tózsér J., Póti P.: The influence of temperament on cortisol concentration and metabolic profile in Tsigai lambs, *Arch. Tierz.*, 56. 573-580, 2013.
- Parker M., Goodwin D., Eager R.A., Redhead E.S., Marlin D.J.: Comparison of Polar heart rate interval data with simultaneously recorded ECG signals in horses, *Comp. Exerc. Physiol.*, 6. 137-142, 2010.
- Pawan C., Shu-Mei C., Ishien L.: Saliva Cortisol and Heart Rate Variability as Biomarkers in Understanding Emotional Reaction and Regulation of Young Children—A Review, *Psychology*. 4:6A2, 19-26, 2013.
- Peeters M., Sulon J., Beckers J.F., Ledoux D., Vandenheede M.: Comparison between blood serum and salivary cortisol concentrations in horses using an adrenocorticotropic hormone challenge, *Equine Vet. J.*, 43. 487-493, 2011.
- Pell S.M., McGreevy P.D.: A study of cortisol and beta-endorphin levels in stereotypic and normal thoroughbreds, *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 64. 81-90, 1999.
- Pelletier N., Leith D.E.: Ventilation and carbon dioxide exchange in exercising horses: effect of inspired oxygen fraction, *J. Appl. Physiol.*, 78. 654-662, 1995.

- Perini R., Fisher N., Veicsteinas A., Pendergast D.R.: Aerobic training and cardiovascular responses at rest and during exercise in older men and women, *Med. Sci. Sport Exer.*, 34. 700-708, 2002.
- Persson S.G.B., Larsson M., Lindholm A.: Effects of training on adrenal-cortical function and red-cell volume in trotters, *Zbl. Vet. Med. A.*, 27. 261-268, 1980.
- Petruse C., Chirila A.B., Mot T., Ciulan V., Simiz F., Cristina R.T., Morar D.: Dynamic of plasma cortisol in response to physical training in Thoroughbred horses, *J. Biotechnol. Suppl.*, 208. 92-93, 2015.
- Physick-Sheard P.W., Marlin D.J., Thornhill R., Schroter R.C.: Frequency domain analysis of heart rate variability in horses at rest and during exercise, *Equine Vet. J.*, 32. 253-262, 2000.
- Pichon A.P., de Bisschop C., Roulaud M., Denjean A., Papelier Y.: Spectral analysis of heart rate variability during exercise in trained subjects, *Med. Sci. Sport Exer.*, 36. 1702-1708, 2004.
- Pinheiro J.C., Bates D. M.: *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*, Springer, 2000.
- Pomeranz B., Macaulay R.J.B., Caudill M.A., Kutz I., Adam D., Gordon D., Kilborn K.M., Barger A.C., Shannon D.C., Cohen R.J., Benson H.: Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis, *Am. J. Physiol.*, 248. 151-153, 1985.
- Porges S.W.: Orienting in a defensive world: Mammalian modifications of our evolutionary heritage. A polyvagal theory, *Psychophysiol.*, 32. 301-318, 1995.
- Porges S.W.: The polyvagal theory: Phylogenetic substrates of a social nervous system, *Int. J. Psychophysiol.*, 42. 123-146, 2001.
- Preuss D., Schoofs D., Schlotz W., Wolf O.T.: The stressed student: influence of written examinations and oral presentations on salivary cortisol concentrations in university students, *Stress*, 13. 221-229, 2010.
- Putignano P., Toja P., Dubini A., Pecori Giraldi F., Corsello S.M., Cavagnini F.: Midnight salivary cortisol versus urinary free and midnight serum cortisol as screening tests for Cushing's syndrome, *J. Clin. Endocr. Metab.*, 88. 4153-4157, 2003.
- R Core Team R. (2012): *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

- Radespiel-Troger M., Rauh R., Mahlke C., Gottschalk T., Mück-Weymann M.: Agreement of two different methods for measurement of heart rate variability, *Clin. Auton. Res.*, 13. 99-102, 2003.
- Refinetti R., Cornelissen G., Halberg F.: Procedures for numerical analysis of circadian rhythms, *Biol. Rhythm. Res.*, 38. 275-325, 2007.
- Riad-Fahmy D., Read G.F., Walker R.F., Griffiths K.: Steroids in saliva for assessing endocrine function, *Endocr. Rev.*, 3. 367-395, 1982.
- Rietmann T.R., Stauffacher M., Bernasconi P., Auer J.A., Weishaupt M.A.: The association between heart rate, heart rate variability, endocrine and behavioural pain measures in horses suffering from laminitis, *J. Vet. Med.*, 51. 218-225, 2004a.
- Rietmann T.R., Stuart A.E., Bernasconi P., Stauffacher M., Auer J.A., Weishaupt M.A.: Assessment of mental stress in warmblood horses: heart rate variability in comparison to heart rate and selected behavioural parameters, *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 88. 121-136, 2004b.
- Robinson B.F., Epstein S.E., Beiser G.D., Braunwald E.: Control of heart rate by the autonomic nervous system. Studies in man on the interrelation between baroreceptor mechanisms and exercise, *Circ. Res.*, 19. 400-411, 1966.
- Rose R.M.: Endocrine responses to stressful psychological events, *Psychiat. Clin. N. Am.*, 3. 251-276, 1980.
- Rosner W.: Plasma steroid-binding proteins, *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 20. 697-720, 1991.
- Rowell L. B. Human cardiovascular control. New York: Oxford University Press. 1993.
- Ruha A., Sallinen S., Nissilä S.: A real-time microprocessor QRS detector system with a 1-ms timing accuracy for the measurement of ambulatory HRV, *IEEE T. Bio-med. Eng.*, 44. 159-167, 1997.
- Sandercock G.R., Bromley P.D., Brodie D.A.: Effects of exercise on heart rate variability: inferences from meta-analysis, *Med. Sci. Sport Exer.*, 37. 433-439. 2005.
- Santucci A., Silk J.S., Shaw D.S., Gentzler A., Fox N., Cohn J.: Vagal tone and temperament as predictors of emotion regulation strategies in young children, *Dev. Psychobiol.*, 50. 205-216, 2008.
- Saul J.P., Albrecht P., Berger R.D., Cohen R.J.: Analysis of long-term heart rate variability: methods, 1/f scaling and implications. In: *Computers in Cardiology* Washington, DC: IEEE Computer Society Press, 1988. 419-422.

- Schmidt A., Aurich J., Möstl E., Müller J., Aurich C.: Changes in cortisol release and heart rate and heart rate variability during the initial training of 3-year-old sport horses, *Horm. Behav.*, 58. 628-636, 2010.
- Schmidt A., Biau S., Möstl E., Becker-Birck M., Morillon B., Aurich J., Faure J.M., Aurich C.: Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport, *Domest. Anim. Endocrin.*, 38. 179-189, 2010.
- Selye, H.: A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, 2:138, 32. 1936.
- Selye H.: *The Stress of Life*. London: Green and Co., 1950. 52-67.
- Selye H. : The general-adaptation-syndrome, *Annu. Rev. Med.*, 2. 327-342, 1951.
- Selye H.: What is stress?, *Metabolis.*, 5. 525-530, 1956.
- Shin K, Minamitani H, Onishi S, Yamazaki H., Lee M.: The power spectral analysis of heart rate variability in athletes during dynamic exercise - part II., *Clin. Cardiol.*, 18. 664-668, 1995a.
- Shin K., Minamitani H., Onishi S., Yamazaki H., Lee M.: The power spectral analysis of heart rate variability in athletes during dynamic exercise - part I., *Clin. Cardiol.*, 18. 583-586, 1995b.
- Simmons P.S., Miles J.M., Gerich J.E., Haymond M.W.: Increased proteolysis. An effect of increases in plasma cortisol within the physiologic range, *J. Clin. Invest.*, 73. 412-420, 1984.
- Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M., Clayton H.M.: Advantages and disadvantages of track vs. treadmill tests, *Equine Vet. J.*, 30. 645-647, 1999.
- Smith L.L.: Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress?, *Med. Sci. Sport Exer.*, 32:2. 317-331, 2000.
- Snow D.H, Rose R.J.: Hormonal changes associated with long distance exercise, *Equine Vet. J.*, 13. 195-197, 1981.
- Snow D.H., Mackenzie G.: Some metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptations with training, *Equine Vet. J.*, 9. 134-140, 1977.
- Starcke K., Wolf O.T., Markowitsch H.J., Brand M.: Anticipatory stress influences decision making under explicit risk conditions, *Behav. Neurosci.*, 122. 1352-1360, 2008.
- Stone M.H., Keith R.E., Kearney J.T., Fleck S.E., Wilson G.D., Triplett N.T.: Overtraining: a review of the signs, symptoms and possible causes, *J. Appl. Sport Sci. Res.*, 5. 35-50, 1991.

Stucke D., Ruse M.G., Lebelt D.: Measuring heart rate variability in horses to investigate the autonomic nervous system activity - Pros and cons of different methods, *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 166. 1-10, 2015.

Sulon J., Demey-Ponsart L., Beauduin P., Sodoyez J.C.: Radioimmunoassay of corticosterone, cortisol and cortisone: Their application to human cord and maternal plasma, *J. Steroid. Biochem.*, 9. 671-676, 1978.

Tarvainen M.P., Niskanen J.P.: *Kubios HRV Version 2.0 User's Guide*. Department of Physics, University of Kuopio, Kuopio, Finland, 2008.

Tarvainen M.P., Niskanen J.P., Lipponen J.A., Ranta-aho P.O., Karjalainen P.A.: *Kubios HRV - Heart rate variability analysis software*. *Comput. Meth. Programs. Biomed.*, 113. 210-220, 2014.

Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology: Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use, *Circulation*, 93. 1043-1065, 1996.

Taylor J.A., D.L. Eckberg: Fundamental relations between short-term R-R interval and arterial pressure oscillations in humans, *Circulation*, 8. 1527-1532, 1996.

Thayer J.F., Hahn A.W., Pearson M.A., Sollers J.J. 3rd, Johnson P.J., Loch W.E.: Heart rate variability during exercise in the horse, *Biomed. Sci. Instrum.*, 34. 246-251, 1997.

Tiller W.A., R. McCraty, M. Atkinson: Cardiac coherence: a new, noninvasive measure of autonomic nervous system order, *Altern. Ther. Health M.*, 2:1. 52-65, 1996.

Toichi M., Sugiura T., Murai T., Sengoku A.: A new method of assessing cardiac autonomic function and its comparison with spectral analysis and coefficient of variation of R-R interval, *J. Autonom. Nerv. Syst.*, 62. 79-84, 1997.

Tóthné Maros K., Tóth P., Janan J.: A viselkedés hatása az állatok szívműködésére. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 132. 285–294, 2010.

Tulppo M.P., Huikuri H.V.: Origin and Significance of Heart Rate Variability, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 43:12. 2278-2280, 2004.

Tulppo M.P., Mäkikallio T.H., Takala T.E., Seppänen T., Huikuri H.V.: Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise, *Am. J. Physiol.*, 271. 244-252, 1996.

Uhlendorf F.: *Vergleichende Untersuchung zu elektrokardiographischen Techniken und der Analyse der Herzfrequenzvariabilität mit dem Langzeit-EKG bei Warmblutpferden*. Klinik für Pferde, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, Germany. 2009.



- Urhausen A., Gabriel H., Kindermann W.: Blood hormones as markers of training stress and overtraining, *Sports Med.*, 20. 251-276, 1995.
- Valberg S., Gustavsson B.E., Lindholm A., Persson S.G.: Blood chemistry and skeletal muscle metabolic responses during and after different speeds and durations of trotting, *Equine Vet. J.*, 21. 91-95, 1989.
- Van der Kolk J.H., Nachreiner R.F., Schott H.C., Refsal K.R., Zanella A.J.: Salivary and plasma concentration of cortisol in normal horses and horses with Cushing's disease, *Equine Vet. J.*, 33. 211-213, 2001.
- Vanhelder W.P., Radomski M.W., Goode R.C., Casey K.: Hormonal and metabolic response to three type of exercise duration and external work output, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 54. 337-342, 1985.
- Vanitallie T.B.: Stress: a risk factor for serious illness, *Metabolis.*, 51. 40-45, 2002.
- Vincent I.C., Michell A.R.: Comparison of cortisol concentrations in saliva and plasma of dog, *Res. Vet. Sci.*, 53. 342-345, 1992.
- Viru A., Smirnova T.: Involvement of protein synthesis in the action of glucocorticoids on the working capacity of adrenalectomized rats, *Int. J. Sports Med.*, 6. 225-228, 1985.
- Visser E.K., van Reenen C.G., van der Werf J.T., Schilder M.B., Knaap J.H., Barneveld A., Blokhuis H.J.: Heart rate and heart rate variability during a novel object test and a handling test in young horses, *Physiol. Behav.*, 76. 289-296, 2002.
- Vitale V., Balocchi R., Varanini M., Sqorbini M., Macerata A., Sighieri C., Baragli P.: The effects of restriction of movement on the reliability of heart rate variability measurements in the horse (*Equus caballus*), *J. Vet. Behav.*, 8. 400-403, 2013.
- Von Borell E., Langbein J., Després G., Hansen S., Leterrier C., Marchant-Forde J., Marchant-Forde R., Minero M., Mohr E., Prunier A., Valance D., Veissier I.: Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals — A review, *Physiol. Behav.*, 92. 293-316, 2007.
- Voss B., Mohr E., Krzywanek H.: Effects of aqua-treadmill exercise on selected blood parameters and on heart-rate variability of horses, *J. Vet. Med. A*, 49. 137-143, 2002.
- Warren J.H., Jaffe R.S., Wraa C.E., Stebbins C.L.: Effect of autonomic blockade on power spectrum of heart rate variability during exercise, *Am. J. Physiol.*, 273. 495-502, 1997.
- Weitzman E.D., Zimmerman J.C., Czeisler C.A.: Cortisol secretion is inhibited during sleep in normal man, *J. Clin. Endocr. Metab.*, 56. 352, 1983.

Witte E.: Herzfrequenzvariabilität beim Pferd in Ruhe und nach Belastung (Heart Rate Variability in the Horse at Rest and After Stress). Institut für Veterinär-Physiologie, Fachbereich Veterinärmedizin, FU, Berlin, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany, 127. 2001.

Yamamoto Y., Hughson R.L., Nakamura Y.: Autonomic nervous system responses to exercise in relation to ventilatory threshold, *Chest.*, 101(5Suppl). 206-210, 1992.

Yamamoto Y., Hughson R.L., Peterson J.C.: Autonomic control of heart rate during exercise studied by heart rate variability spectral analysis, *J. Appl. Physiol.*, 71. 1136-1142, 1991.

Yi Gang, Malik M.: Heart rate variability Analysis in general medicine, *Indian Pacing and Electrophys. J.*, 3. 34-40, 2003.

Younes M., Robert C., Barrey E., Cottin F.: Effects of Age, Exercise Duration, and Test Conditions on Heart Rate Variability in Young Endurance Horses, *Front. Physiol.*, 7. 155, 2016.

Zebisch A., May A., Reese S., Gehlen H.: Effect of different head-neck positions on physical and psychological stress parameters in the ridden horse, *J. Anim. Physiol. An. N.*, 97. 1-7, 2013.

Zolovick A., Upson D.W., Eleftheriou B.E.: Diurnal variation in plasma glucocorticosteroid levels in the horse (*Equus caballus*), *J. Endocrinol.*, 35:3. 249-253, 1966.

Zuckerman M.: *Psychobiology of personality*, second ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

## 6. PUBLIKÁCIÓS LISTA

### Az értekezéshez kapcsolódó publikációk

**Bohák Zs.**, Beckers J.F., Melo de Sousa N., Kutasi O., Nagy K., Szenci O.: Monitoring the circadian rhythm of serum and salivary cortisol concentrations in the horse, *Dom. Anim. End.*, 45:1. 38-42. 2013.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Szenci O.: A kortizol hormon sportélettani szerepe lovakban: The role of cortisol hormone in equine exercise physiology, *Magyar Állatorvosok Lapja* 138. 643-652. 2016.

**Bohák Zs.**, Szenci O., Harnos A., Kutasi O., Kovács L.: The effect of temperament on the cortisol response to single exercise bout in Thoroughbred racehorses, *Acta Veterinaria Hungarica* – közlésre elfogadva

### Az értekezéshez kapcsolódó konferenciaközlemények

**Nyerges-Bohák Zs.**, Kutasi O., Szenci O.: Sportélettan és teljesítmény- Az endokrin rendszer - túledzetség, avagy jóból is megárt sok, XXIV. Lógyógyászati Kongresszus, Telki, Magyarország, 2016.12.2-3.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Szenci O.: Terhelésre adott szívfrekvencia-variabilitás és vér kortizol válasz összevetése angol telivér lovakban In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok. Budapest, Magyarország, 2016.01.25-28.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Harnos A., Bartsch C., Szenci O.: Fizikai munkavégzés, illetve stressz hatása a kortizol hormon elválasztására ügетő lovakban, In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok. Budapest, Magyarország, 2015.01.26-29.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Harnos A., Bartsch C., Szenci O.: Szívfrekvenciavariabilitás vizsgálata ügетő lovakon, In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok. Budapest, Magyarország, 2014.01.27-30.

**Bohák Zs.**, Szabó F., Nagy K., Boros B., Kutasi O., Melo de Sousa N., Beckers J.F., Szenci O.: Kortizolkoncentráció napi ingadozásának vizsgálata lovakban, In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok, Budapest, Magyarország, 2012.01.16-19.

**Bohák Zs.**, Csepi G., Kutasi O., Tóth P., Izing S., Szenci O.: Angol telivér versenylovak teljesítményvizsgálata, In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok, Budapest, Magyarország, 2012.01.16-19.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Hevesi Á., Szenci O.: Teljesítménycsökkenés tüneteivel érkezett klinikai beteg diagnosztikai vizsgálata, In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok, Budapest, Magyarország, 2011.01.24-27.

#### **Az értekezéshez nem kapcsolódó egyéb publikációk**

Joo K., Szenci O., **Bohák Zs.**, Povazsai A., Kutasi O.: Evaluation of overground endoscopy findings in sport and pleasure horses J. Equine Vet. Sci. 35:9. 756-762. 2015.

Moravszki L., Bakonyi T., Miko P., Sardi S., **Bohák Zs.**, Bódai E., Kutasi O.: Detection of equine herpesvirus 5 in different respiratory samples of horses, J. Vet. Int. Med. 29. 977-991. 2015.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Sárdi S., Moravszki L., Szenci O.: Successful Postnatal Care of a Premature Orphan Foal Delivered by Caesarean Section, Vet. Med. Res. Rep. Paper 162176. 2014.

Joó K., **Nyerges-Bohák Zs.**, Szenci O., Kutasi O.: Dinamikus felső légúti elváltozások endoszkópos kórjelzése lovakban: Irodalmi összefoglalás: Endoscopic examination of dynamic upper respiratory tract disorders in horses. Literature review, Magyar Állatorvosok Lapja 136:6. 323-334. 2014.

Kutasi O., Moravszki L., Sardi S., **Bohák s.**, Miko P., Balogh N, Nagy K., Bakonyi T.: Equine herpesvirus type 5 in bronchoalveolar lavage fluid of horses with equine multinodular pulmonary fibrosis (EMPF) and with other chronic respiratory disorders J. Vet. Int. Med. 28:2. 2014.

Kutasi O., Moravszki L., Sárdi S., **Bohák Zs.**, Biksi I., Baska F., Szenci O.: Systemic granulomatous disease in a Hungarian warmblood gelding J. Equine Vet. Sci. 34:6. 810-815. 2014.

Sassi G., **Bohák Zs.**, Fodor L., Tibold J., Szenci O.: Histophilus somni in eitrogen Vaginausscheidungen in einem ungarischen Holstein- Friesian Milchviehbetrieb Klauentierpraxis 4. 13-17. 2013.

Klein J.D., Szenci O., Iwersen M., **Bohák Zs.**, Szelényi Z., Drillich M., Baumgartner W.: Borjak hasmenéses megbetegedése. Irodalmi összefoglaló: Calf diarrhoea. Literature review, Magyar Állatorvosok Lapja 135:5. 278-284. 2013.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Csepi G., Harnos A., Szenci O.: A vénás vér parciális oxigénnyomásának elemzése angol telivér lovak munkavégzése során, Magyar Állatorvosok Lapja 135. 578-593. 2013.

**Bohák Zs.**, Langer D., Kutasi O.: Lovak teljesítmény-élettana: Irodalmi áttekintés, Magyar Állatorvosok Lapja 131. 579-585. 2009.

### **Értekezéshez nem kapcsolódó konferenciaközlemények, poszterek**

Joó K., Szenci O., Povázsai Á., **Bohák Zs.**, Kutasi O.: Overground endoszkópos vizsgálatok értelmezési nehézségei sport lovak esetében In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok. Budapest, Magyarország, 2015.01.26-29.

Joó K, Szenci O., **Bohák Zs.**, Kutasi O.: Dinamikus felső légúti elváltozások lovakban: előtanulmány vizsgálati protokollok felállításához In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok. Budapest, Magyarország, 2014.01.27-30.

Joó K, **Bohák Zs.**, Szenci O., Kutasi O.: The complex nature of dynamic upper airway obstructions, 14<sup>th</sup> WEVA Congress, Saarlouis, Németország, 2014.08.07-14.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Csepi G., Harnos A., Szenci O.: Respiratory responses to exercise - venous blood gas analysis, 13<sup>th</sup> WEVA Congress, Budapest, Magyarország, 2013.10.3-5.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Csepi G., Harnos A., Szenci O.: Vénás vérgáz elemzése sportlovak munkavégzése során In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok, Budapest, Magyarország, 2012.01.28-31.

Kutasi O., Moravszki L., Sardi S., **Bohak Zs.**, Miko P., Balogh N., Nagy K., Bakonyi T.: Equine herpesvirus type 5 in bronchoalveolar lavage fluid of horses with equine multinodular pulmonary fibrosis (EMPF) and with other chronic respiratory disorders, 6th Congress of the European College of Equine Internal Medicine: Equine Sports Medicine. Le Touquet, Franciaország, 2013.02.07.

**Bohák Zs.**, Kutasi O., Szenci O.: Respiratory responses to exercise -venous blood gas analysis, 5th BWB meeting, Brno, 2012.10.13.

**Bohák Zs.**, Langer D.: Teljesítményélettani áttekintés, XXVI. Lógyógyászati kongresszus, Hortobágy, Magyarország, 2008.11.13-15.

## 7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Dr. Szenci Ottó professzor úrnak a publikációimhoz, illetve a disszertációhoz kapcsolódóan megfogalmazott számos építő kritikai észrevételért és javaslatért, amelyek nagyban hozzájárultak a dolgozat végső formájának létrejöttéhez. Köszönettel tartozom társtémavezetőmnek, Dr. Kovács Leventének a kísérletek tervezése és megvalósítása során nyújtott segítségéért, valamint a dolgozat megírása során nyújtott messzemenő támogatásáért.

Dr. Szenci Ottó professzor úrnak külön köszönöm, hogy az MTA-SZIE Nagyállatklinikai Kutatócsoport tagjaként lehetőségem volt eredményeimet szélesebb körben is megvitatni, a kutatócsoport tagjaitól inspirációkat, tanácsokat kapni.

Köszönöm dr. Joó Kinga, dr. Constanze Bartsch, dr. Csepi Gábor Pál, dr. Boros Bálint, és Viczena Bettina barátaimnak és munkatársaimnak, hogy segítségemre voltak az adatgyűjtésben és feldolgozásban.

Köszönöm bátyámnak, Bohák Andrásnak a statisztikai elemzésben nyújtott gyors és hathatós segítségét.

Köszönöm Síposné Erzsébet és Tani Erzsébet (volt) laboratóriumi dolgozók (Állatorvostudományi Egyetem, Lógyógyászati Tanszék és Klinika Laboratórium) munkáját, illetve Dr. Huszeniczáné Dr. Kulcsár Margitnak (Állatorvostudományi Egyetem, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika, Endokrinológiai Laboratórium) a vérminták kortizol vizsgálata során nyújtott segítségét.

Köszönöm a Bábólna Nemzeti Ménesbirtok Kft.-nek, és Csordás Emilnek, hogy rendelkezésemre bocsátották versenyző lovaikat, illetve az Alagi Lóversenypálya és a Kincsem Park idomárainak, hajtóinak és zsokéinak a kísérletek gyakorlati megvalósításában nyújtott önzetlen segítségüket.

Köszönöm Dr. Székely Andrásnak angol nyelvű cikkeim alapos nyelvtani és stilisztikai átvizsgálását és a tanulmányok végső megfogalmazásában nyújtott segítségét.

Köszönöm Dr. Nagy Krisztinának, hogy kísérleteim kezdeti szakaszában a szívritmus-mérő órák és a HRV elemző program használatához sok hasznos tanáccsal látott el. Köszönöm neki és dr. Harnos Andreának a statisztikai elemzésekben nyújtott segítséget.

Hálásan köszönöm 3 éves kislányomnak, Nyerges Lottinak, az adatgyűjtés és a disszertáció megírása során tanúsított végtelen türelmét, illetve férjemnek és Szüleimnek, hogy személyes támogatásukkal segítették doktori kutatásaim sikeres megvalósítását.