

**Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola**

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

PhD értekezés tézisei

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

Tartalom

Bevezetés	4
Vizsgálataink célja	6
Saját vizsgálatok	7
1. Kortizol érték napi ingadozása nyugalmi állapotban	7
<i>Anyag és módszer.....</i>	<i>7</i>
<i>Eredmények.....</i>	<i>8</i>
<i>Megbeszélés.....</i>	<i>8</i>
2. A versenyló alaptermészetének hatása a terheléskori kortizol szintekre	9
<i>Anyag és módszer.....</i>	<i>9</i>
<i>Eredmények és megbeszélés.....</i>	<i>10</i>
3. Szívfrekvencia-variabilitás vizsgálata terhelés alatt.....	11
<i>Anyag és módszer.....</i>	<i>11</i>
<i>Eredmények.....</i>	<i>12</i>
<i>Megbeszélés.....</i>	<i>13</i>
Új tudományos eredmények	15
Publikációs lista	15
Köszönetnyilvánítás	17

Bevezetés

Napjainkban a versenyek számának gyarapodása, a gyakoribb szállítás és környezetváltozás egyre több stressznek teszi ki a verseny- és sportlovakat. A stressz a szervezet nem specifikus válaszreakciója bármilyen igénybevételre, stresszorra. A sport, mint fizikai terhelés a stresszorok között is kitüntetett szerepben van, hiszen a szervezetnek egyaránt jelent mentális és fizikális stressz helyzetet.

Mind emberekben, mind állatokban a kortizolkoncentráció mérése az egyik legelterjedtebb módszer a hipotalamusz-hipofízis-mellékvesekéreg tengely (HPA tengely) és az autonóm idegrendszer (ANS) stresszre adott pszicho-fiziológiai válaszána felmérésére. A nyugalmi és terheléses kortizol hormonkoncentrációkat mérő vizsgálatok gyakoriak a lovakkal foglalkozó sporttudományban, az eredmények azonban egyelőre meglehetősen ellentmondásosak.

Nyugalmi vizsgálatokkal már többen bizonyították például a plazmában és a nyálban is a kortizol cirkadián ritmusát. A leírt kísérletek között a mintavétel gyakoriságában (1-6 óra) és a használt lovak számában (4-18 ló) volt csak eltérés, az eredmények mégsem egybeváogók. Egyesek viszonylag nagy különbségeket találtak a reggeli és az esti plazmakortizol-koncentrációk között, míg mások nem tudták megerősíteni ezt a megállapítást, vagy csak alkalmanként jelentkező cirkadián változásokat mutattak ki. A kortizolkoncentráció gyakorlati körülmények közötti használatához ezen ellentmondások tisztázása elengedhetetlen, ami csak precíz, nagyobb egyedszámmal végzett ismétlővizsgálat elvégzésével lehetséges.

Terheléses kortizol vizsgálatok nyomán szintén sok kérdés vetődik fel. Kimutatták bár, hogy az ACTH és a kortizol koncentrációja megerőltető és hosszantartó fizikai munkavégzés hatására is emelkedik, az emelkedés mértékére hivatalos referencia nincs. Eleve kérdéses, hogy a kortizolkoncentráció emelkedése a terhelés mértékétől, vagy sokkal inkább a munkavégzés időtartamától függ-e. Bár több kutatás is leírta, hogy a ló teljesítőképessége felmérhető a kortizolválasz alapján, miszerint edzettebb egyedekben alacsonyabb a HPA aktivitás, ellenkező eredményeket is találtak. A sok ellentmondás miatt még nem terjedt el a kortizol mérése, mint az edzettség felmérésének módszere. Kérdés, hogy a tanulmányok közötti különbségekért a kísérleti tervekben alkalmazott szabványok hiánya, az eleve stresszel járó terhelési formák (futópad, verseny) alkalmazása, vagy a vizsgált egyedekhez kapcsolódó egyéni faktorok eltérései-e a felelősek.

A stressz mérésének másik lehetősége a szívfrekvencia-változékonyság vizsgálata (HRV analízis). Szívfrekvencia változékonyságnak nevezzük azt az élettani jelenséget, miszerint a szívverések – egészséges szív működés esetén – a hallható ritmusosság ellenére, szabálytalan időközönként követik egymást. Ezt a szabálytalanságot/

változékonyságot az autonóm idegrendszer leszálló (efferens) és felszálló (afferens) ágainak összehangolt működése, illetve más mechanikai, hormonális és élettani mechanizmusok együttes jelenléte határozzák meg. A hagyományosan használt HRV paraméterek módszertani szempontból időbeli különbségek alapján illetve az RR-távolság különbségek teljesítményeloszlása alapján elemezhetők, míg fiziológiai szempontból a pillanatnyi, a cirkadián és az össz-HRV írható le a vizsgált egyedről.

Az időbeli különbségek alapján számolt mutatók közül a legjelentősebbek az alábbiak:

- RMSSD: a szomszédos R-R-távolságok különbségeinek négyzetgyöke
- SDNN: az R-R-távolságok teljes jelszakaszra számított szórása
- pNN50: az egymástól 50 ms-nál nagyobb mértékben eltérő R-R-távolságok százalékos aránya
- SD1: a Poincaré-grafikon pontjainak azonosságegyenesre merőleges szórása
- SD2: a Poincaré-grafikon pontjainak azonosságegyenessel párhuzamos szórása

Az frekvenciatartományban végzett elemzés leggyakrabban használt mutatói az alábbiak:

- LF: a HRV alacsonyfrekvenciás komponense
- HF: a HRV nagyfrekvenciás komponense
- LF/HF: az alacsony- és nagyfrekvenciás komponensek hányadosa

Bár a HRV mutatók gyakorlati felhasználhatósága sok külső körülménytől is függ, összességében elmondható, hogy stressz-helyzetekben a szívfrekvencia variabilitásának csökkenésére lehet számítani.

A terhelés közbeni-, illetve az edzettség okozta nyugalmi HRV analízis, aktívan kutatott területe a humán sporttudománynak. Az egyre sokatmondóbb eredmények arra utalnak, hogy ló- és lovas-sportok felmérésére, segítésére is érdemes lenne átvinni és értelmezni ezt a nem invazív mérési technikát.

Humán sportolóknál például szignifikáns összefüggést találtak a terhelés alatti HRV mutatók és egyes küszöbértékek (pl. aerob-anaerob küszöb) között. A küszöböt meghaladó terhelésintenzitás esetén ugyanis a magas légzésszám vagus-szerű hatása miatt, a spektrális HRV paraméterek nem értékelhetők, vagyis tulajdonképpen az értelmezhető HRV eltűnése pontosan meghatározza a légzési küszöböt. Ezt a 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.

A kifáradás HRV profilját is leírták már emberekben, sőt ezt már lovakra átültetve is vizsgálták. Az eredmények egybevágnak. Az RMSSD (ami az intervallum-eltérésekből származó leggyakrabban használt mutató) és az SD2 (az RR-moduláció hosszú távú változékonyságát tükröző geometriai mutató) síelés után vizsgált emberekben, illetve

ügetőkben és távlovakban is csökkent a terhelés időtartamának / ismétlésszámának növekedésével párhuzamosan. Sőt, távlovakban a magasabb RMSSD értékkel célba ért lovakban a pihenéskori pulzusszám-csökkenés üteme gyorsabb volt, ami a távlovaglás sportágában a versenyszabályzat miatt kiemelt fontosságú szempont. Az RMSSD és SD2 értékek lovakban is a kifáradás jelzői lehetnek, így rendszeres HRV méréssel a teljesítménycsökkenés is időben észrevehető, illetve az edzésterv is az adott ló teljesítőképeségéhez igazítható.

Számos humán és lovas kísérletet végeztek már a versenyhelyzet fizikai és pszichikai hatásainak elkülönítése céljából is. Az eredmények nem egységesek, ráadásul mindössze 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 ugró- és díjlovak 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 ugrólovak 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.

Vizsgálataink célja

A leírt irodalom alapján megfogalmazódott bennem, hogy habár a kortizol mérés, és a HRV elemzés egyaránt használatos fizikai és mentális stressz helyzetek 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 mentális stressz hatását, illetve a lovak általános emocionális állapotát kívántam részletesebben vizsgálni. Emellett a lovak vér- és nyál kortizol koncentrációjának napi ingadozásának jelenléte, mértéke, üteme és összefüggése sem egyértelműen leírt, vitathatatlan tény, úgy gondoltam alapkutatóként ezt is érdemes újravizsgálni.

1. Céлом tehát a szérum- és nyálkortizol-koncentráció cirkadián ritmusának leírása lovakban, illetve a szérum össz-kortizol koncentrációjának, a nyálban mért kortizol-koncentrációval való összevetése.

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

3. Fontosnak tartom a lóversenyzés kapcsán is megvizsgálni versenyzők „izgalmi” állapotát. 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 verseny nap kitüntetett jellegével, és a versenyhelyzet különleges mentális stresszt jelent állatokban is. Ennek az anticipációs jelenségnek meglétét vagy hiányát HRV adatrögzítéssel kívánom vizsgálni.

4. A terhelés közben mért HRV mutatók relevanciája kapcsán állásfoglalásomat az enyhe illetve maximális terhelés közben rögzített HRV adatok feldolgozása és összehasonlítása alapján kívánom meghozni.

Saját vizsgálatok

1. Kortizol érték napi ingadozása nyugalmi állapotban

Anyag és módszer

A kísérletben húsz klinikailag egészséges lovat (n=3 angol telivér, n=4 shagya-arab és n=13 magyar sportló) használtam. Az állatok életkora 3 és 13 év között volt, n=8 kancát, n=7 heréltet illetve n=5 mént vizsgáltam. A lovak azonos körülmények között voltak tartva. 14:00 órától kezdődően 24 órán át, 2 óránként vér és nyál mintát vettem mind a 20 lótól. Különös figyelmet fordítottam a mintavétel során a stressz minimalizálására. A kortizolvizsgálatot a University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology of Reproduction laboratóriuma radioimmunoassay módszerrel végezte el

A mért szérum- és nyál-kortizol koncentrációk 24 órás adatsorainak ritmus analíziséhez Refinetti és mtsai. Cosinor programját használtam. A cirkadián változókat, mint az akrofázis (az illesztett görbe maximum-értékének helye), a mezor (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 szérum kortizol 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.

Eredmények

A csoportos átlagok cosinor analízise szignifikáns cirkadián komponenszt igazolt mind a szérumban, mind a nyálkortizol-koncentrációkra vonatkozóan (mindkét esetben $P < 0,001$). A szérumban kortizol cirkadián ritmusának akrofázisa 10:50-kor volt mérhető (95% konfidencia intervallum (CI), 10:00-11:40), a mérték: 22,67 ng/ml, az amplitúdó: 11,93 ng/ml volt. A nyálkortizol cirkadián ritmusának akrofázisa 10:00-kor következett be (95% CI, 9:00-11:00), mérték: 0,52 ng/ml, amplitúdó 0,12 ng/ml volt. A nyál és a szérumban kortizol koncentráció között szignifikáns, de gyenge összefüggést találtam; a Pearson korrelációs koefficiens 0,32 ($P < 0,001$) volt.

Megbeszélés

Jelen tanulmány megerősítette a szérumban kortizol koncentráció cirkadián ritmusának létezését lovakban. A korábbi eredményekkel összhangban, a kortizol maximális koncentrációja reggel, míg a legalacsonyabb értékek esténként voltak mérhetőek. Meg kell említeni, hogy a cosinor analízis és a cirkadián ritmus meghatározása egynél több adatciklus esetén a leghatékonyabb. Ez vizsgálatom egyik limitáló tényezője, biztosabb adatokhoz több napon át tartó mintavételezés szükséges.

A nyálkortizol-koncentráció szintén szignifikáns cirkadián ritmust mutatott, azonban a szérumban és a nyálkortizol koncentráció között csak gyenge korreláció volt megfigyelhető. Ezzel szemben Peeters és mtsai. (2011) erős, de nemlineáris összefüggést találtak ($r^2 = 0,8$, $P < 0,001$), míg Elsaesser és mtsai. (2001) illetve Pell és mtsai. (1999) egyáltalán nem tudtak kimutatni szignifikáns összefüggést a nyál és a szérumban kortizol koncentrációk 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 szérumban kortizol szintjének emelkedését a nyálkortizol szintje csak 20 perccel később követi. Stimulációs teszt nélkül ez a „követési idő” emelkedhet vagy egyszerűen változatosabbá válhat. Mindez a szérumban és a nyálkortizol szintjének cirkadián ritmusa közötti korrelációt könnyen megzavarhatja vagy akár el is tüntetheti.

Az ellentmondásokat a kötött és a szabad kortizol szint közötti különbség is okozhatja. A szérumban kortizol egy része a kortikoszteroid kötő globulinhoz (CBG) kötődik, de a hormon biológiai hatásáért csak a szabad kortizol felelős. A szabad és kötött kortizol tényleges arányát nagyon nehéz megmérni a plazmában, ugyanis a szabad kortizol szint nem arányos a szérumban össz-kortizollal: a CBG koncentrációja és a CBG telítési állapota sem állandó.

Érdekes felvetés továbbá, hogy vajon hogyan befolyásolja a nyál kortizol szintjét a megnövekedett vagy csökkent nyáltermelés.

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

A szérum és nyál napi legmagasabb és legalacsonyabb kortizol koncentrációi tekintetében más kutatók is hozzám hasonló eredményeket találtak lovakban, mindazonáltal ezen csúcsok időpontja nem egyezik a humán cirkadián kortizol ingadozás maximumának és minimumának időpontjával.

A megállapított ellentmondások ellenére jelen tanulmány igazolhatja a nyál- kortizol koncentráció használatának létjogosultságát a lovak HPA-tengely aktivitásának vizsgálatára.

2. A versenyló alaptermészetének hatása a terheléskori kortizol szintekre

Anyag és módszer

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 kérdőív alapján a lovakat "nyugtalan" (0-2 pontszám, átlag \pm SD = $1,2 \pm 0,3$), "átlagos" (3-4 pont, \pm SD = $3,4 \pm 0,2$) és "nyugodt" 5-7, \pm SD = $5,2 \pm 0,3$) 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. Azonos körülmények között tartották őket és az összes lóval ugyanaz az idomár foglalkozott, a kérdőívet is ő töltötte ki. Az adatokat június 10. és 25. között gyűjtöttem hajnali 05:00 és 07:00 óra között, biztosítva, hogy a vizsgálatok során a hőmérséklet $18-23^{\circ}\text{C}$ között maradjon. A lovakat Polar Equine RS800CX Multi pulzuszórával (Polar Ltd, New York, USA) szereltem fel. A pulzus mellett a megtett távolságot és a sebességet is rögzítettem. A lovak 10 perces bemelegítő ügetést követően, egy homokos pályán 2300 m-t galoppoztak. 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 szokéja volt. Minden ló egyedül futott a pályán a vizsgálat során.

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

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

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 az akkori SZIE ÁOTK Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika Endokrinológiai Laboratóriumában közvetlen radioimmunoanalízissel végezték.

Az eredmények elemzéseit R 3.2.3 statisztikai szoftver használatával végeztem. A hipotézis-vizsgálathoz egy lineáris kevert modellt alkalmaztam. A többszörös összehasonlításhoz kontrasztot teszteltem, és a Tukey-módszert alkalmaztam az 1. típusú hibák felhalmozódásának elkerülése érdekében.

Eredmények és megbeszélés

A sebesség és szívverés szám alapján megállapítottam hogy a vizsgált lovak a zsokek befolyása nélkül is szignifikánsan megegyező terhelést kaptak. Terhelésre mind a nyugtalan, mind a nyugodt lovak esetében megfigyelhető volt a szérum kortizol koncentrációjának növekedése. Jelen vizsgálatomban a maximális kortizol szintet a nyugtalan csoportba tartozó lovaknál az edzés befejezése után 30 perccel mértem, nyugodt természetű lovakban pedig közvetlenül a terhelés végén. A kortizolkoncentráció maximuma nyugodt lovakban $105,1 \pm 15,3$ nmol/l volt, ez 22,6%-kal magasabb a kiinduló értéknél, míg a nyugtalanabb állatokban $119,9 \pm 16,9$ nmol/l volt, ami pedig a nyugalmi érték 43,1%-kos emelkedését jelenti. Eredményeim ellentmondanak Nagata és mtsai. (1999) megállapításának, akik terheléskor már a bemelegedési szakaszban kortizol csúcsot mértek. Az említett eredményt azonban valószínűleg befolyásolta, hogy azok a lovak futópádon dolgoztak, így a korai magas kortizol a futópádon okozta stressz hatása is lehet.

Szarvasmarhákön végzett közelmúltbeli megfigyelésekkel összehangban 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. Ezután annak ellenére, hogy nem volt szignifikáns,

a csoportok közötti különbség már az S1 és S2 mintavételeken ($P=0,084$ és $P=0,141$) látható volt, míg a galopp fázis után fél órával (S3) a kortizol-szintek szignifikánsan magasabbak voltak a nyugtalan lovakban, mint a nyugodtakban ($P=0,036$).

A fizikai edzés nem csak élettani stresszt jelent a lovak számára. A lovak környezeti, szociális és pszichológiai tényezőknek is ki vannak téve a napi edzés során. Eredményeim alapján ezeknek a hatásoknak a válaszfoka független lehet a terhelés intenzitásától, így befolyásolhatja a kortizol válasz erősségét.

Vizsgálatom limitáló tényezője, hogy csak az edzés ideje alatt vettem mintát, nem vizsgáltam a kortizol szintjét legalább két órával a terhelés befejezése után. A kortizolválasz-görbe alatti területek összehasonlítása vagy a kiindulási szintekhez való visszatérés ideje több információval szolgálna a HPA-válasz nagyságrendjéről. Kísérletemben a kortizol szintek 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 szérum kortizol szekréció napi cirkadián ritmusának esetleges zavaró hatásait.

3. Szívfrekvencia-variabilitás vizsgálata terhelés alatt

Anyag és módszer

A mérést hét ügető 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. 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 sulkys ügető edzésük (3 alkalommal enyhébb, 2 alkalommal erős terhelést kaptak) a kísérletet megelőző 4 hónapban. A vizsgálatokat a Kincsem Parkban végeztem, 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. 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: 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.
- valós versenyen: A lovak a délelőtti órákban valós versenyen futottak 2300 m-t a szokásos hajtójukkal. A HRV adatrögzítést már a felszerelést megelőzően, nyugalmi állapotban elkezdtem a ló boxában.

Az RR-adatok elemzését a Tarvainen és Niskanen (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. A nyugalmi, a könnyű munka és a verseny során rögzített RR-adatokat is 1 perces szakaszok alapján, idő- és frekvenciatartományban is elemeztem. A frekvenciatartományokat egy korábbi, szintén ügetőkön, és szintén nagyobb terhelés mellett végzett kísérlet ajánlása alapján 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, ms^2/Hz mértékegységben írtam le. Az LF és HF értéket ezután normalizáltam és megadtam a teljes rövid távú spektrális energia (TP) %-os hányadaként is.

Az időtartományban végzett elemzéssel 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. 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.

Eredmények

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

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 laktát-szint drasztikusan emelkedett és minden ló az anaerob energianyerés fázisába került.

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) ($P < 0,001$).

További érdekesség, hogy méréseimben a nyugalmi LF/HF egy vizsgált lóban sem volt 1 alatti érték ($P < 0,001$).

Megbeszélés

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 ugró- 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 LF_n ($P < 0,001$) ill. LF/HF ($P = 0,009$) és alacsonyabb HF_n ($P < 0,001$) értéket mértem a verseny reggelén. A kísérleti lovak jelen vizsgálatban a versenypályán is tréningeztek, vagyis környezetváltásra, 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 megérzik 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 megérzi a másnapi versenyt és pozitívan vagy negatívan, de megváltozott viselkedéssel reagál rá. Eredményeim alapján mindenesetre úgy tűnik, hogy az anticipációs stressz jelenség ügetőkben is mérhető.

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 mind a laktát, mind a pulzus állandó értékre állt be a vizsgált lovaknál a teljes edzés alatt, vagyis jelen esetben valóban aerob állandósult tartományban végzett edzésterhelésről beszélhetünk. 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.

Jelen vizsgálatban 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 HF_n is állandósult egyforma, 50 körüli értékre áll be, ami 1 körüli LF/HF értéket eredményez. Az edzésen megfigyelt LFn-HFn kiegyenlítődés, vagyis az LF/HF stabil 1-es értékre való beállása az autonóm idegrendszer steady state állapotban beálló teljes egyensúlyára is utalhat, de a HF_n 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-ára váltott (95% CI 0,00-0,24; $P < 0,001$), vagyis a magas légzésszám okozta HF emelkedés ügetőkben is elurulta 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 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 edzett lovakban. Jó eséllyel versenyző ügetőink

eredményei is ezt a jelenséget igazolják: jól edzett állapotban csökken a paraszimpatikus túlsúly, egy enyhe szimpatikus dominancia váltja fel.

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 szérumszint- és nyálkortizol-koncentráció napi cirkadián mintázatát. A vérszint- 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.

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 – túledzettség, 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., Bartesch C., Szenci O.: Fizikai munkavégzés, illetve stressz hatása a kortizol hormon elválasztására ügető lovakban, In: Akadémiai beszámoló: Klinikumok. Budapest, Magyarország, 2015.01.26-29.

Bohák Zs., Kutasi O., Harnos A., Bartesch C., Szenci O.: Szívfrekvenciavariabilitás vizsgálata ügető 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.: Kortizol koncentráció 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.

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 (MTA-SZIE Nagyállatklinikai Kutatócsoport) a kísérletek tervezése és megvalósítása során nyújtott segítségével, 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 segítségét.

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.