

OKSIDACIJSKI STRES U SPORTSKIH KONJA

**Maja Sakač, Marcela Šperanda, Mirjana Baban, P. Mijić,
M. Đidara, Tina Bobić**

Sažetak

Gotovo sva suvremena istraživanja bave se patološkim stanjima koje izaziva oksidacijski stres s ciljem smanjenja stupnja oštećenja organizma i pojave istog. Oksidacijski stres zauzima sve veću važnost u reprodukciji i zdravlju sportskih konja. Oksidacijski stres definira se kao pomak ravnoteže u staničnim oksidativno-redukcijskim reakcijama u smjeru oksidacije. Može se javiti kod neučinkovitosti antioksidativnih sustava, tj. pri naglom povećanju količine oksidanata ili nedovoljne sinteze antioksidanata. Antioksidansi služe kao obrambeni sustav protiv oksidanata, u koje spadaju: 1) sustavi koji sprječavaju nastanak ROS generacije, 2) antioksidativni sustavi koji inaktiviraju oksidante i 3) sustavi koji smanjuju štete nastale djelovanjem oksidanata i saniraju nastala oštećenja oksidativnim djelovanjem. Postoji poveznica između upale dišnih puteva i izazivanja plućnog oksidacijskog stresa koji ovisi o težini upalnog procesa, a za posljedicu ima sistemski (krvožilni) oksidacijski stres. Induciranim radom dolazi također do promjene oksidacijsko/antioksidacijske ravnoteže zbog povećanja razine elektrona u mitohondrijima unutar mišićnih stanica. Brojne su studije pokazale da oksidativno/antioksidativne promjene pri treniranju konja mogu varirati ovisno o vrsti treninga i markerima koje pratimo u krvi, te je zaključeno da fizički napor značajno inducira oksidativnu-antioksidativnu ravnotežu. Izloženost oksidantima utjecalo je na razvoj niza obrambenih mehanizama, uključujući preventivne mehanizme, mehanizme popravka, fizičku i antioksidacijsku obranu. Antioksidativna terapija može se smatrati učinkovitom u liječenju određenih patoloških stanja, osobito kroničnih upala. Danas je neizbježna antioksidativna dopuna u vrhunskom konjičkom sportu, a dokazan je pozitivan učinak antioksidativne dopune vitaminima i elementima u tragovima.

Ključne riječi: konj, oksidacijski stres, antioksidansi.

Uvod

Oksidacijski stres definira se kao pomak ravnoteže u staničnim oksidativno-redukcijskim reakcijama u smjeru oksidacije. Može se javiti kod neučinkovitosti antioksidativnih sustava, tj. pri naglom povećanju količine oksidanata ili nedovoljne sinteze antioksidanata. Davies i sur. (1982) prvi su dokazali da se fizičkim radom generiraju slobodni radikali i od tada postoji veće zanimanje za njihovu ulogu i utjecaj.

Maja Sakač, dipl. inž, prof. dr. sc. Marcela Šperanda, prof. dr. sc. Mirjana Baban, prof. dr. sc. Pero Mijić, Mislav Đidara dr. med. vet., Tina Bobić, dipl. inž. - Poljoprivredni fakultet, Trg sv. Trojstva 3, 31000 Osijek, kontakt mail adresa: msakac@pfos.hr.

Spoznaje o ulozi oksidanata i antioksidanata kontinuirano rastu, a neki se oksidacijski procesi smatraju budućim terapijskim metodama. Najvažnija literatura iz područja oksidacijskog stresa u konja objavljena je u posljednjem desetljeću.

Stvaranje i fiziološka uloga oksidanata i antioksidanata

Svi organizmi neprestano su izloženi egzogenim i endogenim oksidantima. Endogeni slobodni radikali u organizmu mogu nastati tijekom metabolizma kisika, fagocitoze, kemotaksije, apoptoze, koagulacije, hipoksije ili hiperoksije. Egzogeni razvoj slobodnih radikala mogu potaknuti lijekovi (prilikom prevencije ili terapije bolesti), hranidba, pesticidi (tretiranje egzogenih parazita), ionizirajuća zračenja. Izlaganje egzogenim oksidantima od posebnog je značaja za dišne putove i pluća, koji su izloženi inhalacijskim oksidantima kao što su ozon i endotoksini. Iako je antioksidacijski obrambeni sustav dišnih puteva posebno dobro razvijen (Mudway i Kelly, 2000), plućni oksidacijski stres javlja se kao važan faktor u patogenezi bolesti dišnog sustava (Rahman, 2005). Glavni izvor endogenih oksidanata je lanac prijenosa elektrona u mitohondrijima, gdje se O_2 može formirati u superoksid (O_2^-). Kirschvink i sur. (2008) izvijestili su da je ovaj put stvaranja oksidanata posebno važan tijekom napora u kojem se potrošnja kisika u konja može povećati 40 puta. Sekundarni izvor za sintezu oksidanata su enzimi kao što su ksantin oksidaze, membranske oksidaze, mijeloperoksidaza itd., koje proizvode fagociti tijekom obrambenih reakcija, čime uništavaju mikroorganizme. Reaktivni oblici kisika (*engl. reactive oxygen species*, ROS) zajednički su naziv za radikale kisika i njegove reaktivne neradikalne derivate: superoksidni anion (O_2^-), perhidroksilni radikal (HOO^*), hidroksilni radikal (OH^*), vodikov peroksid (H_2O_2), hipokloritna kiselina (HClO) i dr. (Kirschvink i Lekeux, 2002). Važnost imaju i reaktivni oblici dušika (*engl. reactive nitrogen species*, RNS), u koje se ubrajaju dušikov (II) oksid (NO^*) i dušikov (IV) oksid (NO_2^*) te nitrozilni kation (NO^+) i peroksinitrit ($ONOO^-$). Antioksidansi služe kao obrambeni sustav protiv oksidanata, a tu spadaju: 1) sustavi koji sprječavaju nastanak ROS generacije, 2) antioksidativni sustavi koji inaktiviraju oksidante i 3) sustavi koji smanjuju štete nastale djelovanjem oksidanata i saniraju nastala oštećenja oksidativnim djelovanjem. Prevencija nastanka ROS pojavljuje se uglavnom u mitohondrijskom respiratornom lancu enzimskih kompleksa u

kojem je potrebno inaktivirati prolaz elektrona. Proteini koji vežu slobodno željezo i bakar, kao što su transferin, feritin, ceruloplasmin ili albumin, smanjuju stanične kapacitete za ROS (Kirschvink i sur., 2008). Veći dio antioksidansa uključen je u inaktivaciju ili transformaciju ROS-a. Oksidant može biti promijenjen antioksidativnim enzimima u manje reaktivnih oblika ili može reagirati s kemijski stabilnijim antioksidativnim molekulama. Najvažniji antioksidacijski enzimi su: superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutation peroksidaza (GPx) (Kirschvink i Lekeux, 2002). Katalitička aktivnost ovih enzima omogućuje transformaciju superoksid aniona u vodik peroksid i vodu, čime se inaktiviraju značajne količine ROS. Elementi u tragovima (selen, cink, bakar i mangan) imaju važnu ulogu za katalitičko enzimsku aktivnost GPx (Se) i SOD (Zn, Mn, Cu) (Maughan, 1999). Slobodni radikali zbog nesparenog elektrona kemijski su jako reaktivni pa im je niska specifičnost za reaktante. Kao posljedica toga u kemijskoj reakciji oksidacije brzo se i nepredvidivo spajaju s bilo kojom prostorno bliskom molekulom proteina, lipida, ugljikohidrata ili nukleinske kiseline. Vežanjem slobodnih radikala na spomenute organske molekule mogu nastati novi radikali s mogućnošću pokretanja novog niza neenzimskih lančanih reakcija. Dokle god se problem oksidanta može balansirati pomoću obrambenog sustava antioksidanata, ROS molekule će imati fiziološku ulogu u organizmu. Međutim, ako se ta ravnoteža poremeti, poraste koncentracija oksidanata i dolazi do ireverzibilne stanične štete i/ili stalne aktivacije patoloških procesa.

Shema 1. – FIZIOLOŠKE AKTIVNOSTI STANICE KOJA DOVODE DO OKSIDACIJSKOG STRESA (Kirschvink i Lekeux, 2002)
Scheme 1. – PHYSIOLOGICAL CELLS ACTIVITIES THAT LEAD TO OXIDATIVE STRESS (Kirschvink and Lekeux, 2002)

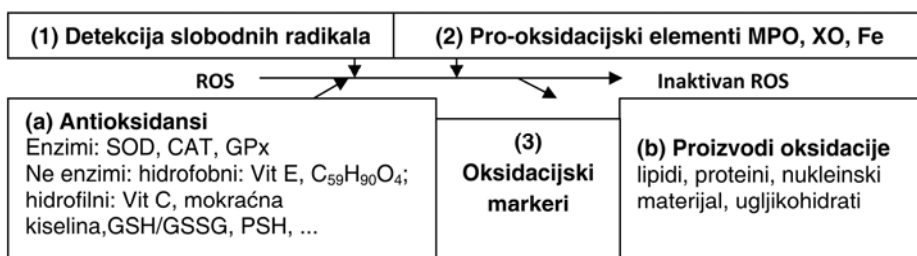


Dijagnoza oksidacijskog stresa

Opći pristup ravnoteži oksidacije i antioksidacije temelji se na procjeni slobodnih radikala, antioksidanata, pro-oksidativnih elemenata i markera oksidacije (Kirschvink i sur., 2008). Otkrivanje slobodnih radikala omogućuje identifikaciju i lokalizaciju ROS-a, ali zahtijeva vrlo složenu opremu koja je rijetko dostupna. Konji se koriste u sportu dulje životno razdoblje, stoga su specifične životinje za uzorkovanje, a znanstveniku je često ograničeni pristup uzimanju uzoraka (npr. biopsija mišića). Tablica 1. prikazuje najčešće uzorkovani materijal korišten u konja, ograničavajuće čimbenike i najčešće korištene markere. Postoje dvije kategorije markera oksidacijskog stresa: (1) Antioksidansi, koje čine enzimi (SOD, CAT, GPx) i ne enzimi; (2) Proizvodi oksidacije, kao što su lipidi, proteini ili nukleinske kiseline od strane ROS-a.

Shema 2. – METODE DIJAGNOSTIKE OKSIDACIJSKOG STRESA (Kirschvink i Lekeux, 2002)

Scheme 2. – THE DIAGNOSTICES METHODS OF OXIDATIVE STRESS (Kirschvink and Lekeux, 2002)



(1) Dokazivanje slobodnih radikala (2) Prepoznavanje pro-oksidativnih elemenata: MPO: mijeloperoksidaze, XO: ksantin oksidaze, Fe: željezo, (3) Detekcija markerima oksidacijskog stresa: (a) antioksidansi: SOD: superoksid dismutaze, CAT: katalaze i GPx: glutation peroksidaze i ne enzimi pr. vitamina, Glutacion - GSH: reduciranom i GSSG: oksidiranom obliku (b) proizvodi oksidacije.

Bolesna stanja koja dovode do oksidacijskog stresa u konja

Gotovo sva današnja istraživanja bave se patološkim stanjima koje izaziva oksidacijski stres s ciljem smanjenja stupnja oštećenja organizma i pojave istog. Oksidacijski stres zauzima sve veću važnost u reprodukciji i zdravlju sportskih konja. Nutricionistima postaje neizbježan pokazatelj tijekom sastavljanja obroka. Mills i sur. (1996) objavili su rad o oksidacijskim procesima kod upale dišnih puteva mladih trkaćih konja. Rezultat korelacija između težine

upale dišnih puteva i oksidacije GSH bio je prvim znakom povezanosti upale dišnih puteva i oksidacijskog stresa kod konja. Art i sur. (2006) dokazali su povezanost povratne opstrukcije donjih dišnih puteva sa ROS-om. Kirschvink i Lekeux (2002) istraživali su zdrave i sipljive konje u kliničkoj remisiji, u kliničkoj krizi ili u napadaju. Postoji poveznica između upale dišnih puteva, izazivanja plućnog oksidacijskog stresa koji ovisi o težini upalnog procesa, a za posljedicu ima sistemski (krvožilni) oksidacijski stres. Rezultat također pokazuje da se oksidacijski stres događa u sipljivih konja te je u korelaciji s upalom dišnih puteva i radom pluća. Kirschvink i Lekeux (2002) istraživali su učinak prirodnih antioksidanata pri upali dišnih organa i oksidacijski status u krvi i bronhoalveolarnoj tekućini testiranih u sipljivih konja koji su bili u kliničkoj remisiji. Na osnovu rezultata može se zaključiti da pojačana količina nutritivnih antioksidanata u hranidbi konja smanjuje simptome oksidacijskog stresa ili sprječava pojavu istih. Bolest motornog neurona u konja (EMND, eng. *equine motor neuron disease*) je sporadična bolest nepoznate neurodegenerativne etiologije za koju se vjeruje da je povezana s oksidacijskim stresom. Delguste i sur. (2002) dokazali su da konji oboljeli od EMND-a imaju smanjene serumske koncentracije vitamina E. Polack i sur. (2000) utvrdili su povećanje koncentracije bakra u krvi konja oboljelih od EMND-a, što se smatra pro-oksidacijskim elementom. Kliničko poboljšanje toga stanja zamjećuje se kod konja čiji je obrok bogat vitaminom E i selenom (Kirschvink i Lekeux, 2002). Mohammed i sur. (2007) razjasnili su ulogu nedostatka vitamina E na porast rizika od razvoja EMND-a te uočili veliku varijabilnost u razinama vitamina A i C, β -karotena, glutationa i superoksida dismutaze, koji su čimbenici razvoja oksidacijskog stresa.

Vjeruje se također da oksidacijski stres igra ulogu u konačnoj patogenezi induciranih plućnih krvarenja EIPH (eng. *exercise-induced pulmonary hemorrhage*). Oslabljena pluća mogu za vrijeme intenzivnog napora dovesti do EIPH te do pojačane upale donjih dišnih putova i potaknuti stvaranje ROS (Kirschvink i sur., 2008 i Niedzwiedz i sur., 2011). Jedan od faktor razvoja EIPH je način vezanja O_2 za hemoglobin koji se ne zakreću kod vezanja zadnje tri molekule O_2 , a eritrociti postaju kruti. Fluidnost membrana eritrocita značajno smanjuje simptome napornog treninga, a postoji i korelacija njezine fluidnosti s oksidacijskim markerima (Portier i sur., 2007 i Portier i sur., 2009). Daljnja istraživanja usmjerena su na smanjenje krutosti eritrocita uzrokovanih treningom, u svim uvjetima u kojima su perfuzijski poremećaji povezani s neravnotežom oksidacije i antioksidacije. Vjeruje se da neravnoteža oksidacije/antioksidacije igra ulogu u patofiziologiji pašne tetanije konja,

konjske bolesti motornog neurona (EMND) (Kirschvink i sur., 2008) te kod konjske degenerativne mijeloencefalopatije.

Tablica 1. – BIOLOŠKI MARKERI, PROCJENE OKSIDACIJSKOG STRESA KONJA I UVJETI/STANJA U KOJIMA JE PROCJENA IZVRŠENA (prema Kirschvink i sur., 2008)
Tabel 1. – BIOLOGICAL MARKERS, ASSESSMENT OF OXIDATIVE STRESS IN HORSES AND THE CONDITIONS/SITUATIONS IN WHICH THE ESTIMATE IS MADE (by Kirschvink et al., 2008)

Uzorak	Patološko stanje	Ograničavajući čimbenik	Markeri	Studije utvrđivanja markera
Eritrociti (u punoj krvi)	Naporom inducirani OS, pašna tetanija	o	CAT, GPx, SOD, GSH, GSSG	(Frankiewicz-Jozko i Szarska, 2000) (McGorum i sur., 2003) (De Moffarts i sur., 2004, 2005a,b) (Williams i Carlucci, 2006) (Mohammed i sur., 2007) (Portier i sur., 2009) (Niedzwiedz i sur., 2011)
Leukociti	Naporom inducirani OS	-	GPx, GSH apoptoza	(Williams i sur., 2004a,b)
Plazma / serum	Naporom inducirani OS, pašna tetanija, konjska bolest motornih neurona	-	Vit. A,E,C Antioksidativni kapacitet plazme, C ₉ H ₁₆ O ₂ LPO MDA MPO Protein karbonat TBARS Elementi u tragovima (Se, Cu, Mn)	(Frankiewicz-Jozko i Szarska, 2000) (White i sur., 2001) (McGorum i sur., 2003) (De Moffarts i sur., 2004) (Kinnunen i sur., 2005a,b) (Williams i sur., 2004a,b i 2005a,b) (McGorum i sur., 2006) (Art i sur., 2006) (Williams i Carlucci, 2006) (Mohammed i sur., 2007) (El-Deeb i El-Bahr, 2010)
Biopsija mišića	Naporom inducirani OS	Invazivnost, veličina uzorka	GPx GST Protein karbonat TBARS	(Kinnunen i sur., 2005a,b)
Izdahnuti zrak	Respiratorne bolesti, naporom inducirani OS	Složena i skupa izvedba prikupljanja uzorka	Hlapive tvari (pentanol, etanol i sl.)	(Wyse i sur., 2004)
Kondenzat izdahnutog zraka	Respiratorne bolesti	Mali uzorak, te pomanjkanje markera	H ₂ O ₂	(Deaton i sur., 2004)
Dušnička i bronhoalveolarna tekućina	Respiratorne bolesti	Varijabilno razrjeđenje zbog tehnike uzorkovanja	GSH-GSSG, C ₅ H ₄ N ₄ O ₃ 8- isoprostan Vit. C, Vit. E MPO	(Kirschvink i Lekeux, 2002) (Deaton i sur., 2004) (Art i sur., 2006) (Derksen i sur. 2009) (Portier i sur., 2009) (Niedzwiedz i sur., 2011)
Sinovijalna tekućina zglobova	Bolesti zglobova	Mali volumen uzorka	Karbonil proteini C ₉ H ₁₀ N ₂ O ₅ 8-isoprostan	(Dimock i sur., 2000) (Van der Harst i sur., 2006) (Daix i sur., 2007)

OS- oksidacijski stres, CAT - katalaza, GPx - glutation peroksidaza, GSH - glutation (reducirani oblik), GSSG - glutation (oksidirani oblik), GST - glutation-S-transferaza, LPO - lipidnih peroksidaza, MDA - malondialdehid, MPO - mijeloperoksidaza, SOD - superoksid dismutaza, TBARS - reaktivnih spojeva tiobarbiturne kiseline.

Nagađa se da povećanje metabolizma glukoze može biti razlogom smanjene razine vitamina E, što se otkrilo u konja sa EMND-om (Van der Kolk i sur., 2005). Živčano tkivo sadrži značajne količine lipida i vrlo je osjetljivo na peroksidaciju lipida. Cushingov sindrom javlja se zbog disfunkcije hipofize koje se smatra posljedicom oksidacijskog stresa. Bolest mišića u ždrebadi prvenstveno se javlja zbog nedostatka selena, vitamina E i često je povezana s neprikladnim treningom konja. Javlja se i kod povećanih količina nezasićenih masnih kiselina u obroku. Upala masnog tkiva (steatitis), polimiozitis i mišićna distrofija također se mogu povezati s nedostatkom selena i/ili vitamina E. Jasan odnos između mišićnih problema povezanih s hranidbom i/ili radom i deficita vitamina E ili selena još nije dokazano u konja, pa ipak su ova stanja tretirana s agresivnom terapijama antioksidantima (vitamini E i C, selen). Tijekom dužeg ležanja dolazi do kompresije mišića i postishemijskih hiperemije, čime je povećana koncentracija ROS, stanje može potrajati i do tjedan dana nakon reperfuzije mišića (ponovne opskrbe mišića krvlju nakon perioda ishemije) (Kirschvink i sur., 2008). Visoka koncentracija ROS-a vjerojatno uzrokuje peroksidaciju lipida membrane, membrana staničnih mišića i miopatije. Ishemija i reperfuzijski proces javljaju se za vrijeme kolika, te se može očekivati povećano stvaranje ROS-a. Laminitis je također bolest konja za koju se smatra da je povezana s oksidacijskim stresom. Jasno je utvrđeno da se javlja upalna reakcija u početnom stadiju laminitisa, a manje je jasno da li ROS ima ulogu u patofiziologiji ove bolesti (Lykkesfeldt i Svendsen 2007). Antioksidanti se često preporučuju kao preventiva i/ili lijek (Soffler, 2007). Baumber i sur. (2003) dokazali se poveznicu utjecaja ROS-a i dubokog smrzanja sperme pastuha na oštećenje DNA fragmenta u njoj.

Utjecaj rada konja na oksidacijski stres

Dokazano je da tijekom fizičkog rada u organizmu nastaju slobodni radikali. Induciranim radom dolazi do promjene oksidacijske/antioksidacijske ravnoteže zbog povećanja razine elektrona u mitohondrijima unutar mišićnih stanica. Brojne su studije pokazale da oksidativno/antioksidativne promjene pri treniranju konja mogu varirati ovisno o vrsti treninga i markerima koje pratimo u krvi, te je zaključeno da fizički napor značajno inducira oksidativnu-antioksidativnu ravnotežu. Pregled najreprezentativnijih studija provedenih na ovom području prikazane su u Tablici 2.

Tablica 2. – UTJECAJ RADA KONJA NA OKSIDACIJSKU/ANTIOKSIDACIJSKU RAVNOTEŽU (prema Kirschvink i sur., 2008)

Tabel 2. – THE IMPACT OF HORSES LABOR ON THE OXIDANT/ANTIOXIDANT BALANCE (by Kirschvink et al., 2008)

Konji (uzorak)	Evolucija markera u krvi (prije/poslije treninga)	Reference
Neutrenirani punokrvnjak (n = 4) pod napornim treningom	Povećanje mokraćnog MDA i hidroksiprolina 24 h nakon treninga	(Mills i sur., 1994)
Punokrvnjak (n = 11) / autodrom test	Povećanje TBARS, antioksidativnog kapaciteta u plazmi, ukupna antioksidativna reaktivnost 5 min nakon završetka utrke	(Avellini i sur., 1999)
Punokrvnjak (n = 6) / ergometar trening pod različitim uvjetima T ₀ i relativna vlažnost	Povećanje lipidnih peroksida, MK, RBC i GSSG u plazmi, smanjenje vezivanja kisika, antioksidativna aktivnost u plazmi odmah nakon trening	(Mills i sur., 1996)
Punokrvnjak (n = 30) / autodromu testa	Povećanje TBARS, PAOC i TAR u plazmi 5 min nakon treninga	(White i sur., 2001)
Eventing* konji (n = 14) / simuliranje trodnevnog natjecanja u dresuri, terenu i preponama	Povećana MK u plazmi 5 min nakon skakanja, smanjen TBARS i povećan RBC i GSH unutar 24 h nakon skakanja	(Balogh i sur., 2001)
Endurance** konji (n = 5) / utrka od 160 km	Smanjenje ukupnog antioksidacijskog status u plazmi i povećanje GPx u krvi nakon 60 km trke, povećanje TBARS u serumu i SOD u punoj krvi nakon utrke	(Frankiewicz-Jozko i Szarska, 2000)
Endurance** konji (n = 35) / utrka od 80 ili 160 km	Smanjenje vitamina C, RBC i GSH u plazmi te porast RBC i GPx za vrijeme i nakon utrke	(Hargreaves i sur., 2002a)
Endurance** konji (n = 30) / utrka od 80 km	Smanjena koncentracija RBC, GSH i vitamin C u plazmi, a nepromijenjena je koncentracija vitamin E, RBC i GPx u plazmi	(Hargreaves i sur., 2002b)
Endurance** konji (n = 40) / utrka od 140 km	Smanjena RBC, GSH i GSSG na kraju utrke; povećanje TBARS na kraju utrke; smanjenje koncentracija RBC, GSH, GSSG i GRR u plazmi 16 sati nakon utrke	(Marlin i sur., 2002)
Endurance** konji (n = 34, 11, 24) / tri utrke od 80 km	Povećanje lipidnih peroksida u plazmi, pad RBC GPx i tokoferol u plazmi odmah nakon završetka utrke	(Williams i sur., 2005a)
Standardni uzgoj (n = 6) / ergometar trening	Povećanje vitamin C i MK u plazmi, porast RBC i GRR%, smanjenje vitamina A i GSH za vrijeme i / ili neposredno nakon završetka intenzivnog treninga	(De Moffarts i sur., 2004)
Standardni uzgoj (n = 12) u odnosu na sportske konje (n = 12) / serija treninga	Povećanje vitamina C, MK i ACW u plazmi; smanjenje RBC, GSH i lipidnih peroksida u plazmi 15 minuta nakon napora	(De Moffarts i sur., 2005b)
Standardni uzgoj (n = 8) / ergometar trening	Povećana lipidnih peroksida u plazmi nakon 4 sata treninga umjerenog intenziteta	(Kinnunen i sur., 2005b)
Standardni uzgoj (n = 12) / ergometar trening	Povećana retinola i beta-karotena u plazmi, odmah nakon napora povećava se RBC, GSH i GPx	(Williams i Carlucci, 2006)
Trkači konji (n = 12) / autodromu trening	Povećanje ACW, MK, lipidni peroksidi u plazmi 15 minuta nakon treninga; dolazi do porasta RBC, GSH i oksidiranih proteina u plazmi 24 sati nakon treninga	(De Moffarts i sur., 2006)
Eventing* ponija (n = 9) / natjecanje od tri dana	Povećanje MPO u plazmi 30 min nakon cross country natjecanja	(Art i sur., 2006)
Standardni uzgoj (n = 11)	Povećanje rizika od razvoja EMND uslijed nedostatka vitamina E u hranidbi	(Mohammed i sur., 2007)
Trkači konji	Povećanje rizika od razvoja EIPH tijekom fizičkog rada	(Derksen i sur., 2009)
Standardni uzgoj (n = 27) rekreacijski konja (n = 22) sportski*** konji (n = 65)	Antioksidativna obrana u konja tijekom fizičkog rada	(Krumrych, 2010)

*svestrano trodnevno natjecanja u dresuri, terenu i preponama;**terensko natjecanje izdržljivosti konja, ***galoperi n=11, kasači n=15, preponaši n=25, zaprežni n=14.

ACW- antioksidativni kapacitet u vodi topljivih komponenata, GSH- glutation (reduciranom obliku), GSSG- glutation (oksidiranom obliku), GRR- omjer glutation, (GRR = GSSG/(GSH + GSSG); MDA- malondialdehid, MPO- mijeloperoksidaza, RBC- eritrociti, PAOC- kapacitet plazme za antioksidante, TBARS- tiobarbitura reaktivnih spojeva, TAR- ukupna antioksidativna reaktivnost, MK- mokraćna kiseline.

Zaključak

Izloženost oksidantima utjecalo je na razvoj niza obrambenih mehanizama, uključujući preventivne mehanizme, mehanizme popravka, fizičku i antioksidacijsku obranu. Antioksidativna terapija može se smatrati učinkovitom u liječenju određenih patoloških stanja, osobito kroničnih upala. Danas je neizbježna antioksidativna dopuna u vrhunskom konjičkom sportu, a dokazan je pozitivan učinak antoksidativne dopune vitaminima i elementima u tragovima.

Zahvala

Prikazani rezultati proizašli su iz znanstvenih projekata «Analiza i genetsko unapređivanje sportskih pasmina konja u Hrvatskoj» i „Prirodni imunomodulatori i antioksidansi u optimalizaciji proizvodnje svinja“ provedenih uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

LITERATURA

1. Art, T., Franck, T., Lekeux, P., de, M.B., Couetil, L., Becker, M., Kohnen, S., Deby-Dupont, G., Sertheyn, D. (2006): Myeloperoxidase concentration in bronchoalveolar lavage fluid from healthy horses and those with recurrent airway obstruction. *Canadian Journal of Veterinary Research* 70, 291–296.
2. Avellini, L., Chiaradia, E., Gaiti, A. (1999): Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry and Molecular Biology* 123, 147–154.
3. Balogh, N., Gaal, T., Ribiczeyne, P.S., Petri, A. (2001): Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. *Veterinary Clinical Pathology* 30, 214–218.
4. Baumber J., Ball B.A., Linfor J.J., Meyers S.A. (2003): Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa. *Journal of Andrology* 24, 621–628.
5. Daix, M., Antys-Becker, M., Gather, C., Wiggers, L., Bister, J.L., Weinberger, T., Kirschvink, N. (2007): Matrix metalloproteinase 2 and activities and isoprostane concentration in equine synovial fluid: comparison between healthy horses and horses with articular disease. In: *ECVS Proceedings 2007, Dublin*, pp. 267–269.
6. Davies K.J., Quintanilha A.T., Brooks G.A., Packer L. (1982): Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 107, 1198-1205.
7. De Moffarts, B., Kirschvink, N., Art, T., Pincemail, J., Michaux, C., Cayeux, K., Defraigne, J.O., Lekeux, P. (2004): Impact of training and exercise intensity on blood antioxidant markers in healthy Standardbred horses. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 1, 1–11.

8. De Moffarts, B., Kirschvink, N., Art, T., Pincemail, J., Lekeux, P. (2005a): Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thoroughbred horses. *Veterinary Journal* 169, 65–74.
9. De Moffarts, B., Kirschvink, N., Art, T., Pincemail, J., Lekeux, P. (2005b): Assessment of the oxidant-antioxidant blood balance in a field exercise test in Standardbred and eventing horses. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 2, 253–261.
10. De Moffarts, B., Portier, K., Kirschvink, N., Coudert, J., Fellmann, N., van, E.E., Letellier, C., Motta, C., Art, T., Lekeux, P. (2006): Effects of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. *Veterinary Journal* 174, 113–121.
11. Deaton, C.M., Marlin, D.J., Smith, N.C., Smith, K.C., Newton, R.J., Gower, S.M., Cade, S.M., Roberts, C.A., Harris, P.A., Schroter, R.C., Kelly, F.J. (2004): Breath condensate hydrogen peroxide correlates with both airway cytology and epithelial lining fluid ascorbic concentration in the horse. *Radical Research* 38, 201–208.
12. Derksen, F.J. Williams, K.J., Pannirselvam, R.R., De Feijter-Rupp, H., Steel, C.M., Robinson, N.E. (2009): Regional distribution of collagen and haemosiderin in the lungs of horses with exercise-induced pulmonary haemorrhage. *Equine Veterinary Journal* 41 (6): 586-591.
13. Delguste C., de Moffarts B., Sandersen C., Debrue M., Guyot H., Amory H. (2002): Serum vitamin E concentrations in a group of horses, with a high incidence of equine motor neuron disease. *Pflügers Physiol.*
14. Dimock, A.N., Siciliano, P.D., McIlwraith, C.W. (2000): Evidence supporting an increased presence of reactive oxygen species in the diseased equine joint. *Equine Veterinary Journal* 32, 439–443.
15. El-Deeb, W.M., El-Bahr, S.M. (2010): Investigation of selected biochemical indicators of Equine Rhabdomyolysis in Arabian horses: pro-inflammatory cytokines and oxidative stress markers. *Veterinary Research Communications* 34, 677-689.
16. Frankiewicz-Jozko, A., Szarska, E. (2000): Anti-oxidant level to exercise in the blood of endurance horses. *Biology of Sport* 17, 217–227.
17. Hargreaves, B.J., Kronfeld, D.S., Waldron, J.N., Lopes, M.A., Gay, L.S., Saker, K.E., Cooper, W.L., Sklan, D.J., Harris, P.A. (2002a): Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise. *Equine Veterinary Journal* 34, 116–121.
18. Hargreaves, B.J., Kronfeld, D.S., Waldron, J.N., Lopes, M.A., Gay, S., Saker, K.E., Sklan, J., Harris, A. (2002b): Antioxidant status of horses during two 80-km endurance races. *Journal of Nutrition* 132, 1781-1783.
19. Hussni O.M., Thomas J.D., Brian A.S., Alexander de L. (2007): Vitamin E deficiency and risk of equine motor neuron disease. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49 (17).
20. Kinnunen, S., Hyyppä, S., Lappalainen, J., Oksala, N., Venojärvi, M., Nakao, C., Hanninen, O., Sen, C.K., Atalay, M. (2005a): Exercise-induced oxidative stress and muscle stress protein responses in trotters. *European Journal of Applied Physiology* 93, 496–501.
21. Kinnunen, S., Hyyppä, S., Lehmuskero, A., Oksala, N., Maenpää, P., Hanninen, O., Atalay, M. (2005b): Oxygen radical absorbance capacity and exercise-induced oxidative stress in trotters. *European Journal of Applied Physiology* 95, 550–556.
22. Kirschvink, N., Lekeux, P. (2002): Oxidative stress in equine medicine - Current knowledge. *Pferdeheilkunde* 18, (6): 1-5, Hippiatrika Verlag GmbH, Germany.
23. Kirschvink, N., de Moffarts, B., Lekeux, P. (2008): The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal* 177, 178–191.

24. Krumrych, W. (2010): Blood antioxidant defence in horses during physical exercises. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 54, 617-624.
25. Lykkesfeldt J., Svendsen O. (2007): Oxidants and antioxidants in disease. *Veterinary Journal* 173, 502-511.
26. Maughan R.J. (1999): Role of micronutrients in sport and physical activity. *British Medical* 55, 683-690.
27. Marlin, D.J., Fenn, K., Smith, N., Deaton, C.D., Roberts, C.A., Dunster, C., Kelly, F.J., (2002): Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. *Journal of Nutrition* 132, 1622-1627.
28. McGorum, B.C., Wilson, R., Pirie, R.S., Mayhew, I.G., Kaur, H., Aruoma, O.I. (2003): Systemic concentrations of antioxidants and biomarkers of macromolecular oxidative damage in horses with grass sickness. *Equine Veterinary Journal* 35, 121-126.
29. McGorum, B.C., Mayhew, I.G., Amory, H., Deprez, P., Gillies, L., Nollet, H., Wijnberg, I.D. (2006): Horses on pasture may be affected by equine motor neuron disease. *Equine Veterinary Journal* 38, 47-51.
30. Mills, P.C., Ng, J.C., Thornton, J., Seawright, A.A., Auer, D.E. (1994): Exercise-induced connective tissue turnover and lipid peroxidation in horses. *The British Veterinary Journal* 150, 53-63.
31. Mills, P.C., Smith, N.C., Casas, I., Harris, P., Harris, R.C., Marlin, D.J. (1996): Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 74, 60-66.
32. Mudway I.S., Kelly F.J. (2000): Ozone and the lung: a sensitive issue. *Molecular of Medicine* 21, 1-48.
33. Niedzwiedz, A., Nicpon, J., Borowicz, H., Los, P., Zawadzki, M., Januszewska, L. (2011): Evaluation of selected antioxidant enzymes in the blood of horses with recurrent airways obstruction. *Medycyna Weterynaryjna*, 67, 129-132.
34. Portier, K., Crouzier, D., Guichardant, M., Prost, M., Debouzy, J.C., Kirschvink, N., Fellmann, N., Lekeux, P., Coudert, J. (2009): Effects of high and low inspired fractions of oxygen on horse erythrocyte membrane properties, blood viscosity and muscle oxygenation during anaesthesia. *Veterinary Anaesthesia*, 36, 287-298.
35. Polack E.W., King J.M., Cummings J.F., Mohammed H.O., Birch M., Cronin T. (2000): Concentrations of trace minerals in the spinalcord of horses with equine motor neuron disease. *Am. J. vet. Res.* 61, 609-611.
36. Portier K., Guichardant M., Debouzy J.C., Crouzier D., Geraud I., Kirschvink N., Lekeux P., Fellmann N., Coudert J. (2007): In vitro effects of oxygen on physico-chemical properties of horse erythrocyte membrane. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23, 340-346.
37. Rahman I. (2005): The role of oxidative stress in the pathogenesis of COPD: implications for therapy. *Treatments in Respiratory Medicine* 4, 175-200.
38. Soffler C. (2007): Oxidative stress. *The veterinary clinics of North America*, 23, 135-157.
39. Van der Kolk J.H., Rijnen K.E., Rey F., Roelfsema E., Grinwis G.C., Wijnberg I.D. (2005): Evaluation of glucose metabolism in three horses with lower motor neuron degeneration. *Journal of Veterinary*, 66, 271-276.
40. Van der Harst, M., Bull, S., Brama, P.A., Barneveld, A.B., van Weeren, P.R., van de, L.C. (2006): Nitrite and nitrotyrosine concentrations in articular cartilage, subchondral bone, and trabecular bone of normal juvenile, normal adult, and osteoarthritic adult equine metacarpophalangeal. *Journal of Rheumatology* 33, 1662-1667.

41. White, A., Estrada, M., Walker, K., Wisnia, P., Filgueira, G., Valdes, F., Araneda, O., Behn, C., Martinez, R. (2001): Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in Thoroughbred racehorses. *Comparative Biochemistry and Physiology A – Comparative Physiology* 128, 99–104.
42. Williams, C.A., Carlucci, S. (2006): Oral Vitamin E supplementation and oxidative stress, vitamin and antioxidant status in intensely exercising horses. *Equine Veterinary Journal* 36 (Supplement), 617–621.
43. Williams, C.A., Kronfeldt, D.S., Hess, T.M., Saker, K.E., Waldron, J.N., Crandell, K.M., Hoffman, R.M., Harris, P.A. (2004a): Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. *Journal of Animal Science* 82, 588–594.
44. Williams, C.A., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Saker, K.E., Harris, P.A. (2004b): Lipoic acid and vitamin E supplementation to horses diminishes endurance exercise induced oxidative stress, muscle enzyme leakage, and apoptosis. In: Arno Lindner (Ed.), *The Elite Race and Endurance Horse*, Oslo, 105–119.
45. Williams, C.A., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Saker, K.E., Waldron, J.E., Crandell, K.M., Harris, P.A. (2005a): Comparison of oxidative stress and antioxidant status in endurance horses in three 80 km races. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 2, 153–157.
46. Williams, C.A., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Saker, K.E., Waldron, J.E., Harris, P.A. (2005b): Vitamin E intake and systemic antioxidant status in competitive endurance horses. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 2, 149–152.
47. Wyse, C.A., Love, S., Christley, M., Yam, S., Cooper, M., Cumming, R., Preston, T. (2004): Validation of a method for collection and assay of pentane in the exhaled breath horse. *Research in Veterinary* 76, 109-112.

OXIDATIVE STRESS IN SPORTS HORSES

Summary

Almost all recent investigations take care about oxidative stress caused by pathological conditions with aim of decline of organism damages and prevention the same. Oxidative stress has important role in reproduction and sports horses' health. During the oxidative stress the equilibrium between oxidants and oxidants is disturbed in favour of oxidants. It appears as inefficient antioxidative system, either because of higher amount of oxidants or inadequate antioxidant synthesis. Antioxidants are included in the defence systems against oxidants as systems that prevent ROS generation, antioxidant systems that inactivate oxidants and systems which reduce deleterious effects of oxidants and allowing repair of oxidative damage. There is connection between inflammations of the airways and oxidative stress. Numerous studies have pointed that exercise-induced oxidant/antioxidant changes in exercising horses vary with regard of exercise type as well as blood markers. The exercise induces alteration of the circulatory oxidant-antioxidant balance. Exposure to the oxidants influenced on many protective mechanisms, reparatory mechanisms, physical and antioxidative defence. Antioxidant therapy consider useful in the treatment of some pathological condition, especially chronic inflammations. In the case of sport horses, antioxidant supplementation may be helpful.

Key words: horse, oxidative stress, antioxidants.

Primljeno: 25.05.2011.