

Univerza  
*v Ljubljani* *Veterinarska*  
fakulteta



Mojca Bohar Topolovec

**VPLIV VITAMINA E IN KOENCIMA Q<sub>10</sub> NA  
OKSIDATIVNI STRES PRI IZBRANI FIZIČNI  
AKTIVNOSTI REKREATIVNIH KONJ**

Doktorska disertacija

Ljubljana, 2015

Univerza  
v Ljubljani *Veterinarska*  
fakulteta



UDK 636.1.09:612.766.1:577.152:577.161.3:636.087.7:612.1(043.3)

Mojca Bohar Topolovec, mag. lab. biomedicine, univ. dipl. mikrobiolog

**VPLIV VITAMINA E IN KOENCIMA Q<sub>10</sub> NA OKSIDATIVNI  
STRES PRI IZBRANI FIZIČNI AKTIVNOSTI  
REKREATIVNIH KONJ**

Doktorska disertacija

**THE EFFECT OF VITAMIN E AND COENZYME Q<sub>10</sub> ON  
OXIDATIVE STRESS IN LEISURE HORSES DURING  
SELECTED PHYSICAL ACTIVITY**

Doctoral dissertation

Ljubljana, 2015

Mojca Bohar Topolovec

## **VPLIV VITAMINA E IN KOENCIMA Q<sub>10</sub> NA OKSIDATIVNI STRES PRI IZBRANI FIZIČNI AKTIVNOSTI REKREATIVNIH KONJ**

Delo je bilo opravljeno na Kliniki za reprodukcijo in konje, Kliniki za kirurgijo in male živali, Inštitutu za higieno živil in bromatologijo, Inštitutu za higieno in patologijo prehrane živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani ter na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani.

Javni zagovor je bil opravljen v Ljubljani, dne \_\_\_\_\_

**Mentor:** doc. dr. Peter Kruljc, dr. vet. med.

**Somentorica:** izr. prof. dr. Alenka Nemec Svete, univ. dipl. ing. kem. ing.

Izjava o delu:

Izjavljam, da je doktorska disertacija rezultat lastnega raziskovalnega dela, da so rezultati korektno navedeni in nisem kršila avtorskih pravic in intelektualne lastnine drugih.

**Člani strokovne komisije za oceno in zagovor:**

**Predsednica:** prof. dr. Nina Čebulj Kadunc, dr. vet. med.

**Član:** prof. dr. Marjan Kosec, dr. vet. med.

**Član:** prof. dr. Stanislav Gobec, mag. farm.

*Konj ve, kdaj si srečen,  
ve, kdaj si miren,  
ve, kdaj si samozavesten,  
in vedno ve, kdaj prinašaš korenček.*

*(neznani avtor)*

## VPLIV VITAMINA E IN KOENCIMA Q<sub>10</sub> NA OKSIDATIVNI STRES PRI IZBRANI FIZIČNI AKTIVNOSTI REKREATIVNIH KONJ

### IZVLEČEK

Ključne besede: Športna medicina – veterinarska; telesna vadba živali – fiziologija; antioksidanti; prehranska dopolnila; ubikinon – kri; vitamin E – kri; oksidativni stres; kri, kemične analize; referenčne vrednosti; konji

Fizična aktivnost lahko pri ljudeh in živalih vodi do oksidativnega stresa in posledično do lipidne peroksidacije. Z vnosom antioksidantov lahko preprečimo stanje oksidativnega stresa. Podobnih raziskav pri rekreativnih konjih še ni bilo izvedenih. Namen naloge je bil določiti fiziološke, biokemijske, hematološke in antioksidativne parametre ter pokazatelja oksidativnega stresa (malondialdehid) pri zdravih rekreativnih konjih, ki smo jih obremenili z izbrano fizično aktivnostjo. Ugotoviti smo želeli, ali fizična aktivnost privede do stanja oksidativnega stresa ter oksidativnih poškodb in/ali v kakšnem obsegu dajanje antioksidativnih dodatkov (vitamin E, koencim Q<sub>10</sub> in njuna kombinacija) k prehrani vpliva na zmanjšanje oksidativnega stresa ter njuno morebitno sinergistično delovanje in ali je oksidativni stres povezan s povečano sistemsko aktivnostjo mišičnih encimov. V raziskavo smo vključili 40 zdravih rekreativnih konj. V prvem sklopu raziskave smo določili odmere koencima Q<sub>10</sub> za drugi sklop raziskave. V drugem sklopu raziskave smo po 14-dnevnem dajanju dodatkov izvedli fizično aktivnost. Vzorce krvi smo odvzeli pred prvim dajanjem dodatka (bazalne vrednosti), po 14 dneh dajanja, po končanem galopu in 24 ur po fizični aktivnosti. V vzorcih krvi smo določili hematološke, biokemijske in antioksidativne parametre ter malondialdehid. Izmerjene bazalne vrednosti so bile v mejah referenčnih vrednosti, vrednosti po končani fizični aktivnosti so bile izven meja referenčnih vrednosti, po 24-urnem počitku pa so se vrstile na raven pred fizično aktivnostjo. Izbrana fizična aktivnost ni povečala sistemske aktivnosti mišičnih encimov. Rezultati raziskave sinergističnega delovanja niso dokazali, vendar nakazujejo, da je vitamin E kot dodatek k prehrani posamezno in v kombinaciji s koencimom Q<sub>10</sub> obranil rekreativne konje pred oksidativnim stresom, ki ga je povzročila izbrana fizična aktivnost.

## THE EFFECT OF VITAMIN E AND COENZYME Q<sub>10</sub> ON OXIDATIVE STRESS IN LEISURE HORSES DURING SELECTED PHYSICAL ACTIVITY

### ABSTRACT

Key words: Sport medicine – veterinary; physical conditioning, animal; antioxidants; dietary supplements; ubiquinone – blood; vitamin E – blood; oxidative stress; blood chemical analysis; reference values; horses

In humans and animals, physical activity can cause oxidative stress and, consequently, lipid peroxidation. The oxidative stress condition can be prevented by the intake of antioxidants. No similar research on leisure horses has been done yet. The purpose of this thesis was to determine the physiological, biochemical, haematological and anti-oxidative parameters, as well as indicators of oxidative stress (malondialdehyde) in healthy leisure horses performing selected physical activity. We wanted to determine whether or not the physical activity leads to the oxidative stress condition and oxidative damages and/or to what extent the intake of anti-oxidative supplements (vitamin E, coenzyme Q<sub>10</sub> and the combination of both) mixed with food influences the reduction of oxidative stress and the supplements eventual synergistic performance and, whether or not the oxidative stress has any connection to the increased system activity of muscle enzymes. The research included 40 healthy leisure horses. The first part of the research was to determine the appropriate dosage of the coenzyme Q<sub>10</sub>, which was then used in the second part of the research. In the second part of the research, after 14 days of administering the food supplements, the physical activity was performed. The blood samples were taken before the first intake of the food supplement (basal results), after the 14 days of intake of the food supplement, after the end of a gallop and 24 hours after the physical activity. In blood samples, haematological, biochemical and anti-oxidative parameters, as well as malondialdehyde, were measured. The measured basal results were within reference range, the results after the end of physical activity exceeded the reference range, and the results after the 24 hours of rest returned to the level before the physical activity took place. The selected physical activity did not increase the system activity of the muscle enzymes. The research results did not prove the existence of a synergistic effect, although they did indicate that vitamin E as single food supplement or in combination with

the coenzyme Q<sub>10</sub> was successful in protecting leisure horses from oxidative stress caused by the selected physical activity.

## KAZALO VSEBINE

|                                                            |           |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>IZVLEČEK.....</b>                                       | <b>5</b>  |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                      | <b>6</b>  |
| <b>KAZALO VSEBINE .....</b>                                | <b>8</b>  |
| <b>KAZALO TABEL .....</b>                                  | <b>13</b> |
| <b>KAZALO SLIK.....</b>                                    | <b>17</b> |
| <b>SEZNAM OKRAJŠAV.....</b>                                | <b>20</b> |
| <b>1 UVOD .....</b>                                        | <b>23</b> |
| 1.1 NAMEN RAZISKAVE .....                                  | 25        |
| 1.2 HIPOTEZE .....                                         | 26        |
| <b>2 PREGLED LITERATURE .....</b>                          | <b>28</b> |
| 2.1 KISIK.....                                             | 28        |
| 2.2 REAKTIVNE ZVRSTI.....                                  | 28        |
| <b>2.2.1 Radikali .....</b>                                | <b>29</b> |
| 2.2.1.1 Superoksidni radikal .....                         | 31        |
| 2.2.1.2 Hidroksilni radikal.....                           | 31        |
| <b>2.2.2 Reaktivne kisikove spojine – neradikali .....</b> | <b>32</b> |
| 2.2.2.1 Vodikov peroksid .....                             | 32        |
| 2.3 OBRAMBA PRED REAKTIVNIMI KISI KOVIMI ZVRSTMI.....      | 33        |
| <b>2.3.1 Obrambni mehanizmi .....</b>                      | <b>33</b> |
| <b>2.3.2 Antioksidanti.....</b>                            | <b>34</b> |
| 2.3.2.1 Mehanizem delovanja antioksidantov .....           | 35        |
| 2.3.2.2 Izvor antioksidantov .....                         | 35        |
| 2.3.2.3 Topnost antioksidantov .....                       | 36        |
| <b>2.3.3 Antioksidativni parametri .....</b>               | <b>36</b> |
| 2.3.3.1 Superoksid dismutaza .....                         | 36        |
| 2.3.3.2 Glutation peroksidaza .....                        | 37        |
| 2.3.3.3 Celokupna antioksidativna kapaciteta .....         | 37        |
| <b>2.3.4 Antioksidativni sistem .....</b>                  | <b>38</b> |
| 2.4 OKSIDATIVNI STRES .....                                | 38        |

|                                                                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>2.4.1 Posledice oksidativnega stresa.....</b>                                                                                  | <b>40</b> |
| 2.4.1.1 Lipidna peroksidacija in malondialdehid .....                                                                             | 40        |
| <b>2.5 FIZIČNA AKTIVNOST.....</b>                                                                                                 | <b>42</b> |
| <b>2.5.1 Fizična aktivnost in fiziološki parametri.....</b>                                                                       | <b>45</b> |
| 2.5.1.1 Frekvenca srčnega utripa .....                                                                                            | 45        |
| 2.5.1.2 Frekvenca dihanja.....                                                                                                    | 45        |
| 2.5.1.3 Telesna temperatura, temperatura zraka in relativna vlažnost .....                                                        | 46        |
| <b>2.5.2 Fizična aktivnost in hematološki parametri.....</b>                                                                      | <b>46</b> |
| 2.5.2.1 Eritrociti, hemoglobin in hematokrit .....                                                                                | 46        |
| 2.5.2.2 Levkociti in razmerje nevtrofilci/limfociti .....                                                                         | 47        |
| 2.5.2.3 Trombociti .....                                                                                                          | 47        |
| <b>2.5.3 Fizična aktivnost in biokemijski parametri .....</b>                                                                     | <b>48</b> |
| 2.5.3.1 Encimi mišičnih celic: alanin-aminotransferaza, aspartat-aminotransferaza,<br>kreatin-kinaza in laktat-dehidrogenaza..... | 48        |
| 2.5.3.2 Encima jetrnih celic: alkalna fosfataza in gama-glutamiltransferaza .....                                                 | 49        |
| 2.5.3.3 Laktat in glukoza .....                                                                                                   | 49        |
| 2.5.3.4 Celokupni bilirubin.....                                                                                                  | 50        |
| 2.5.3.5 Celokupni proteini in albumin.....                                                                                        | 50        |
| 2.5.3.6 Elektroliti: natrij, kalij in kloridi.....                                                                                | 51        |
| 2.5.3.7 Kalcij, anorganski fosfat in magnezij .....                                                                               | 51        |
| 2.5.3.8 Železo .....                                                                                                              | 52        |
| 2.5.3.9 Sečnina, kreatinin in sečna kislina.....                                                                                  | 52        |
| 2.5.3.10 Holesterol, trigliceridi, lipoproteini nizke gostote in lipoproteini visoke<br>gostote.....                              | 53        |
| <b>2.5.4 Fizična aktivnost in oksidativni stres.....</b>                                                                          | <b>53</b> |
| <b>2.5.5 Antioksidanti kot dodatki k prehrani.....</b>                                                                            | <b>55</b> |
| 2.5.5.1 Vitamin E.....                                                                                                            | 55        |
| 2.5.5.2 Koencim Q <sub>10</sub> .....                                                                                             | 56        |
| <b>3 MATERIALI IN METODE .....</b>                                                                                                | <b>59</b> |
| 3.1 ŽIVALI.....                                                                                                                   | 59        |
| 3.1.1 Vključitveni in izključitveni pogoji.....                                                                                   | 59        |
| 3.2 PRIPRAVKI.....                                                                                                                | 60        |

|                                                                                                                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.1 Parafinsko olje .....                                                                                                                                                  | 60        |
| 3.2.2 Koencim Q <sub>10</sub> .....                                                                                                                                          | 60        |
| 3.2.3 Vitamin E .....                                                                                                                                                        | 60        |
| 3.3 ZASNOVA RAZISKAVE.....                                                                                                                                                   | 60        |
| 3.3.1 Prvi sklop raziskave .....                                                                                                                                             | 60        |
| 3.3.2 Drugi sklop raziskave.....                                                                                                                                             | 61        |
| 3.3.2.1 Opis izbrane fizične aktivnosti konj .....                                                                                                                           | 62        |
| 3.3.2.2 Vrednosti zunanje temperature zraka in relativne vlažnosti.....                                                                                                      | 63        |
| 3.4 ODVZEM, PRIPRAVA IN SHRANJEVANJE VZORCEV KRVI .....                                                                                                                      | 64        |
| 3.4.1 Odvzem vzorcev krvi.....                                                                                                                                               | 64        |
| 3.4.2 Priprava in shranjevanje vzorcev krvi .....                                                                                                                            | 64        |
| 3.5 MERITVE KRVNIH PARAMETROV .....                                                                                                                                          | 66        |
| 3.5.1 Meritve hematoloških parametrov.....                                                                                                                                   | 67        |
| 3.5.2 Meritve biokemijskih parametrov .....                                                                                                                                  | 67        |
| 3.5.3 Meritve antioksidativnih parametrov.....                                                                                                                               | 68        |
| 3.5.4 Meritve pokazatelja obsega lipidne peroksidacije.....                                                                                                                  | 69        |
| 3.5.5 Meritve koencima Q <sub>10</sub> .....                                                                                                                                 | 70        |
| 3.5.6 Meritve vitamina E .....                                                                                                                                               | 70        |
| 3.6 OBDELAVA PODATKOV IN STATISTIČNA ANALIZA .....                                                                                                                           | 70        |
| <b>4 REZULTATI .....</b>                                                                                                                                                     | <b>72</b> |
| 4.1 REZULTATI PRVEGA SKLOPA .....                                                                                                                                            | 72        |
| 4.2 REZULTATI DRUGEGA SKLOPA .....                                                                                                                                           | 74        |
| 4.2.1 Vrednosti telesne temperature, frekvence srčnega utripa in frekvence dihanja<br>pred (čas t <sub>1</sub> ) in po (čas t <sub>2</sub> ) izbrani fizični aktivnosti..... | 74        |
| 4.2.2 Dodatka k prehrani .....                                                                                                                                               | 77        |
| 4.2.2.1 Koncentracija koencima Q <sub>10</sub> in vitamina E .....                                                                                                           | 77        |
| 4.2.3 Pokazatelj obsega lipidne peroksidacije.....                                                                                                                           | 80        |
| 4.2.3.1 Koncentracija malondialdehida .....                                                                                                                                  | 80        |
| 4.2.4 Antioksidativni parametri .....                                                                                                                                        | 82        |
| 4.2.4.1 Koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete.....                                                                                                              | 82        |
| 4.2.4.2 Aktivnosti glutation peroksidaze in superoksid dismutaze .....                                                                                                       | 83        |
| 4.2.5 Hematološki parametri .....                                                                                                                                            | 86        |

|                                                                                                                                                                          |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.2.5.1 Številčna koncentracija eritrocitov, koncentracija hemoglobina in delež hematokrita .....                                                                        | 86         |
| 4.2.5.2 Številčna koncentracija levkocitov .....                                                                                                                         | 90         |
| 4.2.5.3 Številčna koncentracija trombocitov .....                                                                                                                        | 91         |
| 4.2.5.4 Razmerje nevtrofilci/limfociti .....                                                                                                                             | 92         |
| <b>4.2.6 Biokemijski parametri .....</b>                                                                                                                                 | <b>94</b>  |
| 4.2.6.1 Koncentracija albumina in celokupnih proteinov .....                                                                                                             | 94         |
| 4.2.6.2 Aktivnosti encimov aspartat-aminotransferaze, kreatin-kinaze, laktat-dehidrogenaze, alanin-aminotransferaze, alkalne fosfataze in gama-glutamiltransferaze ..... | 97         |
| 4.2.6.3 Koncentracija celokupnega bilirubina .....                                                                                                                       | 103        |
| 4.2.6.4 Koncentracije kreatinina, sečne kisline in sečnine .....                                                                                                         | 105        |
| 4.2.6.5 Koncentracija lipidov: holesterola, trigliceridov, lipoproteinov visoke gostote in lipoproteinov nizke gostote .....                                             | 109        |
| 4.2.6.6 Koncentracija elektrolitov: kalija, natrija in kloridov .....                                                                                                    | 115        |
| 4.2.6.7 Koncentracije kalcija, anorganskega fosfata in magnezija .....                                                                                                   | 119        |
| 4.2.6.8 Koncentracija glukoze in laktata .....                                                                                                                           | 124        |
| 4.2.6.9 Koncentracija železa .....                                                                                                                                       | 127        |
| <b>4.2.7 Korelacije med malondialdehidom in posameznimi encimi (kreatin-kinaza, aspartat-aminotransferaza in laktat-dehidrogenaza) .....</b>                             | <b>129</b> |
| <b>5 RAZPRAVA .....</b>                                                                                                                                                  | <b>130</b> |
| 5.1 BAZALNE VREDNOSTI MERJENIH PARAMETROV .....                                                                                                                          | 131        |
| 5.2 DODATKI K PREHRANI, VITAMIN E IN KOENCIM Q <sub>10</sub> TER NJUNA KOMBINACIJA .....                                                                                 | 132        |
| 5.2.1 Vitamin E .....                                                                                                                                                    | 132        |
| 5.2.2 Koencim Q <sub>10</sub> .....                                                                                                                                      | 133        |
| 5.2.3 Kombinacija vitamina E in koencima Q <sub>10</sub> .....                                                                                                           | 136        |
| 5.3 SPREMEMBE FIZIOLOŠKIH IN ZUNANJIH PARAMETROV .....                                                                                                                   | 137        |
| 5.3.1 Spremembe telesne temperature, temperature zraka in relativne vlažnosti .....                                                                                      | 137        |
| 5.3.2 Spremembe frekvence srčnega utripa .....                                                                                                                           | 137        |
| 5.3.3 Spremembe frekvence dihanja .....                                                                                                                                  | 138        |

|                                                                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.4 SPREMEMBE PLAZEMSKE KONCENTRACIJE OZNAČEVALCA LIPIDNE PEROKSIDACIJE .....                                                                                            | 139 |
| 5.4.1 Spremembe plazemske koncentracije malondialdehida .....                                                                                                            | 139 |
| 5.5 SPREMEMBE KONCENTRACIJ ANTIOKSIDATIVNIH PARAMETROV .....                                                                                                             | 140 |
| 5.5.1 Spremembe koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete .....                                                                                                 | 140 |
| 5.5.2 Spremembe aktivnosti glutathion peroksidaze in superoksid dismutaze.....                                                                                           | 142 |
| 5.6 SPREMEMBE HEMATOLOŠKIH IN BIOKEMIJSKIH PARAMETROV .....                                                                                                              | 145 |
| 5.6.1 Spremembe številčne koncentracije eritrocitov, levkocitov, trombocitov, koncentracije hemoglobina, deleža hematokrita in razmerja nevtrofilci/limfociti .....      | 146 |
| 5.6.2 Spremembe koncentracije albumina in celokupnih proteinov .....                                                                                                     | 147 |
| 5.6.3 Spremembe aktivnosti aspartat-aminotransferaze, kreatin-kinaze, laktat-dehidrogenaze, alanin-aminotransferaze, alkalne fosfataze in gama-glutamyltransferaze ..... | 148 |
| 5.6.4 Spremembe koncentracije celokupnega bilirubina .....                                                                                                               | 152 |
| 5.6.5 Spremembe koncentracije kreatinina, sečne kisline in sečnine.....                                                                                                  | 153 |
| 5.6.6 Spremembe koncentracije lipidov: holesterola, trigliceridov, lipoproteinov visoke gostote in lipoproteinov nizke gostote .....                                     | 155 |
| 5.6.7 Spremembe koncentracije elektrolitov: kalij, natrij in kloridi .....                                                                                               | 157 |
| 5.6.8 Spremembe koncentracije kalcija, anorganskega fosfata in magnezija.....                                                                                            | 160 |
| 5.6.9 Spremembe koncentracije železa .....                                                                                                                               | 163 |
| 5.6.10 Spremembe koncentracije glukoze in laktata .....                                                                                                                  | 164 |
| 6 ZAKLJUČKI .....                                                                                                                                                        | 167 |
| 7 POVZETEK.....                                                                                                                                                          | 169 |
| 8 SUMMARY.....                                                                                                                                                           | 173 |
| 9 ZAHVALE .....                                                                                                                                                          | 177 |
| 10 LITERATURA .....                                                                                                                                                      | 179 |
| 11 PRILOGE .....                                                                                                                                                         | 206 |
| 11.1 PRILOGA 1: ORIENTACIJSKE REFERENČNE IN PRIPOROČLJIVE VREDNOSTI ZA ODRASLEGA KONJA.....                                                                              | 206 |

## KAZALO TABEL

### **Tabela 1:** Biološko pomembne reaktivne zvrsti

*Table 1: Biologically important reactive species* ..... 29

### **Tabela 2:** Biološko pomembni radikali

*Table 2: Biologically important radicals* ..... 30

### **Tabela 3:** Reaktivne kisikove zvrsti

*Table 3: Reactive oxygen species* ..... 32

### **Tabela 4:** Temperature zraka in relativne vlažnosti (povprečje $\pm$ SD) pred fizično aktivnostjo (čas $t_1$ ) pri posameznih skupinah konj

*Table 4: The air temperature and relative humidity (mean  $\pm$  SD) before the physical activity (time  $t_1$ ) in individual groups of horses* ..... 64

### **Tabela 5:** Reagenčni kompleti in kataloške številke proizvajalca Randox

*Table 5: Reagent kits and catalogue numbers of the manufacturer Randox* ..... 68

### **Tabela 6:** Koncentracije koencima Q<sub>10</sub> (mg/L) (povprečje $\pm$ SD) ob različnih časih odvzemov vzorcev krvi v skupinah konj, ki so prejeli 400 mg/dan, 600 mg/dan in 800 mg/dan koencima Q<sub>10</sub>

*Table 6: The coenzyme Q<sub>10</sub> concentrations (mg/L) (mean  $\pm$  SD) in collected blood samples taken at different times from groups of horses treated with 400 mg/day, 600 mg/day and 800 mg/day of coenzyme Q<sub>10</sub>* ..... 72

### **Tabela 7:** Telesna temperatura (°C) (povprečje $\pm$ SD) pred (čas $t_1$ ) in po (čas $t_2$ ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

*Table 7: The body temperature (°C) (mean  $\pm$  SD) before (time  $t_1$ ) and after (time  $t_2$ ) the selected physical activity in individual groups of horses* ..... 74

### **Tabela 8:** Frekvence srčnega utripa (št. utripov/min) (povprečje $\pm$ SD) pred (čas $t_1$ ) in po (čas $t_2$ ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

*Table 8: The heart rate (number of beats/min) (mean  $\pm$  SD) before (time  $t_1$ ) and after (time  $t_2$ ) the selected physical activity in individual groups of horses* ..... 75

### **Tabela 9:** Frekvence dihanja (št. vdihov/min) (povprečje $\pm$ SD) pred (čas $t_1$ ) in po (čas $t_2$ ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

*Table 9: The respiratory rate (number of breaths/min) (mean  $\pm$  SD) before (time  $t_1$ ) and after (time  $t_2$ ) the selected physical activity in individual groups of horses* ..... 76

### **Tabela 10:** Koncentracije koencima Q<sub>10</sub> (μmol/L) (povprečje $\pm$ SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 10: The concentrations of coenzyme Q<sub>10</sub> (μmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment* ..... 78

### **Tabela 11:** Koncentracije vitamina E (μmol/L) (povprečje $\pm$ SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 11: The concentrations of vitamin E (μmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment* ..... 79

### **Tabela 12:** Koncentracije MDA (μmol/L) (povprečje $\pm$ SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 12: The concentrations of MDA (μmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment* ..... 80

|                                                                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 13:</b> Koncentracije TAC (mmol/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                              |     |
| <i>Table 13: The concentrations of TAC (mmol/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>                         | 82  |
| <b>Tabela 14:</b> Aktivnosti GSH-Px (IE/g Hb) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                             |     |
| <i>Table 14: The GSH-Px activities (IE/g Hb) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment.</i>                                 | 84  |
| <b>Tabela 15:</b> Aktivnosti SOD (IE/g Hb) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                |     |
| <i>Table 15: The SOD activities (IE/g Hb) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>                               | 85  |
| <b>Tabela 16:</b> Številčne koncentracije Erci (x10 <sup>12</sup> /L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                     |     |
| <i>Table 16: The numerical concentrations of RBCs (x10<sup>12</sup>/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>  | 87  |
| <b>Tabela 17:</b> Koncentracije Hb (g/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                  |     |
| <i>Table 17: The Hb concentrations (g/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>                                | 87  |
| <b>Tabela 18:</b> Deleži Ht (1/1) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                         |     |
| <i>Table 18: The shares of Ht (1/1) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>                                     | 88  |
| <b>Tabela 19:</b> Številčne koncentracije Lkci (x10 <sup>9</sup> /L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                      |     |
| <i>Table 19: The numerical concentrations of WBCs (x10<sup>9</sup>/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>   | 90  |
| <b>Tabela 20:</b> Številčne koncentracije trombocitov (x10 <sup>9</sup> /L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom               |     |
| <i>Table 20: The numerical platelets concentrations (x10<sup>9</sup>/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i> | 91  |
| <b>Tabela 21:</b> Razmerja nevtrofilci/limfociti (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                          |     |
| <i>Table 21: The ratio of neutrophil/lymphocyte (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>                         | 93  |
| <b>Tabela 22:</b> Koncentracije ALB (g/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                 |     |
| <i>Table 22: The ALB concentrations (g/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>                               | 94  |
| <b>Tabela 23:</b> Koncentracije TP (g/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                  |     |
| <i>Table 23: The TP concentrations (g/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>                                | 96  |
| <b>Tabela 24:</b> Aktivnosti AST (μkat/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                 |     |
| <i>Table 24: The AST activities (μkat/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment.....</i>                                 | 97  |
| <b>Tabela 25:</b> Aktivnosti CK (μkat/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                  |     |
| <i>Table 25: The CK activities (μkat/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment.....</i>                                  | 99  |
| <b>Tabela 26:</b> Aktivnosti LDH (μkat/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                 |     |
| <i>Table 26: The LDH activities (μkat/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment.....</i>                                 | 100 |
| <b>Tabela 27:</b> Aktivnosti ALT (μkat/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                 |     |
| <i>Table 27: The ALT activities (μkat/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment .....</i>                                | 101 |
| <b>Tabela 28:</b> Aktivnosti ALKP (μkat/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                |     |
| <i>Table 28: The ALKP activities (μkat/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment ....</i>                                | 102 |

**Tabela 29:** Aktivnosti GGT ( $\mu\text{kat/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 29: The GGT activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 102*

**Tabela 30:** Koncentracije celokupnega bilirubina ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 30: The total bilirubin concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 104*

**Tabela 31:** Koncentracije kreatinina ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 31: The creatinine concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 105*

**Tabela 32:** Koncentracije sečne kisline ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 32: The uric acid concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 106*

**Tabela 33:** Koncentracije sečnine (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 33: The urea concentrations (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 108*

**Tabela 34:** Koncentracije holesterola (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 34: The cholesterol concentrations (mmol/L)(mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 109*

**Tabela 35:** Koncentracije trigliceridov (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 35: The triglycerides concentrations (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 111*

**Tabela 36:** Koncentracije HDL (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 36: The HDL concentrations (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 112*

**Tabela 37:** Koncentracije LDL (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 37: The LDL concentrations (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 114*

**Tabela 38:** Koncentracije kalija (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 38: The concentrations of potassium (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 115*

**Tabela 39:** Koncentracije natrija (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 39: The concentrations of sodium (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 117*

**Tabela 40:** Koncentracije kloridov (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 40: The concentrations of chlorides (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 118*

**Tabela 41:** Koncentracije kalcija (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 41: The concentrations of calcium (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment ..... 120*

**Tabela 42:** Koncentracije anorganskega fosfata (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 42: The concentrations of inorganic phosphate (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment.....* 121

**Tabela 43:** Koncentracije magnezija (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 43: The concentrations of magnesium (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment.....* 122

**Tabela 44:** Koncentracije glukoze (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 44: The concentrations of glucose (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment.....* 124

**Tabela 45:** Koncentracije laktata (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 45: The concentrations of lactate (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment.....* 126

**Tabela 46:** Koncentracije železa ( $\mu$ mol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 46: The concentrations of iron ( $\mu$ mol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment.....* 127

**Tabela 47:** Orientacijske referenčne vrednosti fizioloških parametrov za odraslega konja in priporočljive vrednosti zunanjih parametrov

*Table 47: Approximate reference values physiological parametrers for an adult horse and recommended values of external parameters.....* 206

**Tabela 48:** Orientacijske referenčne vrednosti antioksidantnih parametrov in lipidnega označevalca za odraslega konja

*Table 48: Approximate reference values antioxidant parameters and lipid marker for an adult horse.....* 206

**Tabela 49:** Orientacijske referenčne vrednosti hematoloških in biokemijskih parametrov za odraslega konja

*Table 49: Approximate reference values haematological and biochemical parameters for adult horses.....* 207

## KAZALO SLIK

|                                                                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Slika 1:</b> Strukturna formula vitamina E ( $\alpha$ -tokoferol)                                                                                                                               |    |
| <i>Figure 1: Structural formul of vitamin E (<math>\alpha</math>-tochopherol)</i> .....                                                                                                            | 55 |
| <b>Slika 2:</b> Redoks stanja koencima Q <sub>10</sub>                                                                                                                                             |    |
| <i>Figure 2: Redox forms of coenzyme Q<sub>10</sub></i> .....                                                                                                                                      | 57 |
| <b>Slika 3:</b> Nameščen lonžirni pas s telemetričnim aparatom Televet 100 med izvajanjem izbrane fizične aktivnosti                                                                               |    |
| <i>Figure 3: Installed lunging band with telemetric device Televet 100 during the implementation of selected physical activity</i> .....                                                           | 63 |
| <b>Slika 4:</b> Koncentracije koencima Q <sub>10</sub> (mg/L) pri konjih, ki so kot dodatek k prehrani prejeli različne koncentracije koencima Q <sub>10</sub> (400, 600 in 800 mg/L)              |    |
| <i>Figure 4: Coenzyme Q<sub>10</sub> concentrations (mg/L) in horses which received food supplements in form of different coenzyme Q<sub>10</sub> concentrations (400, 600 and 800 mg/L)</i> ..... | 73 |
| <b>Slika 5:</b> Telesna temperatura (°C) pred (čas t <sub>1</sub> ) in po (čas t <sub>2</sub> ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj                                              |    |
| <i>Figure 5: Body temperatures (°C) before (time t<sub>1</sub>) and after (time t<sub>2</sub>) the selected physical activity in individual groups of horses</i> .....                             | 75 |
| <b>Slika 6:</b> Frekvenca srčnega utripa (št. utripov/min) pred (čas t <sub>1</sub> ) in po (čas t <sub>2</sub> ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj                            |    |
| <i>Figure 6: Heart rate (number of beats/min) before (time t<sub>1</sub>) and after (time t<sub>2</sub>) the selected physical activity in individual groups of horses</i> .....                   | 76 |
| <b>Slika 7:</b> Frekvenca dihanja (št. vdihov/min) pred (čas t <sub>1</sub> ) in po (čas t <sub>2</sub> ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj                                    |    |
| <i>Figure 7: Respiratory rate (number of breaths/min) before (time t<sub>1</sub>) and after (time t<sub>2</sub>) the selected physical activity in individual groups of horses</i> .....           | 77 |
| <b>Slika 8:</b> Koncentracije koencima Q <sub>10</sub> (mg/L) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                                                              |    |
| <i>Figure 8: The concentrations of coenzyme Q<sub>10</sub> (mg/L) in individual groups of horses during the experiment</i> .....                                                                   | 78 |
| <b>Slika 9:</b> Koncentracije vitamina E ( $\mu$ mol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                                                                    |    |
| <i>Figure 9: The concentrations of vitamin E (<math>\mu</math>mol/L) in individual groups of horses during the experiment</i> .....                                                                | 79 |
| <b>Slika 10:</b> Koncentracije MDA ( $\mu$ mol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                                                                          |    |
| <i>Figure 10: The concentrations of MDA (<math>\mu</math>mol/L) in individual groups of horses during the experiment</i> .....                                                                     | 81 |
| <b>Slika 11:</b> Koncentracije TAC (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                                                                                |    |
| <i>Figure 11: The concentrations of TAC (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment</i> .....                                                                                    | 83 |
| <b>Slika 12:</b> Aktivnosti GSH-Px (IE/g Hb) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                                                                               |    |
| <i>Figure 12: The GSH-Px activities (IE/g Hb) in individual groups of horses during the experiment</i> .....                                                                                       | 84 |
| <b>Slika 13:</b> Aktivnosti SOD (IE/g Hb) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                                                                                  |    |
| <i>Figure 13: The SOD activities (IE/g Hb) in individual groups of horses during the experiment</i> .....                                                                                          | 86 |

|                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Slika 14:</b> Številčne koncentracije Erci ( $\times 10^{12}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                |     |
| <i>Figure 14: The numerical concentrations of RBCs (<math>\times 10^{12}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i> | 87  |
| <b>Slika 15:</b> Koncentracije Hb (g/L) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                             |     |
| <i>Figure 15: The Hb concentrations (g/L) in individual groups of horses during the experiment</i>                                          | 88  |
| <b>Slika 16:</b> Deleži Ht (1/1) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                                    |     |
| <i>Figure 16: The Ht shares (1/1) in individual groups of horses during the experiment</i>                                                  | 89  |
| <b>Slika 17:</b> Številčne koncentracije Lkci ( $\times 10^9/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                   |     |
| <i>Figure 17: The numerical concentrations of WBCs (<math>\times 10^9/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>    | 90  |
| <b>Slika 18:</b> Številčne koncentracije trombocitov ( $\times 10^9/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                            |     |
| <i>Figure 18: The numerical platelets concentrations (<math>\times 10^9/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>  | 92  |
| <b>Slika 19:</b> Razmerje nevtrofilci/limfociti v posameznih skupinah konj med poskusom                                                     |     |
| <i>Figure 19: The neutrophils/lymphocytes ratio in individual groups of horses during the experiment</i>                                    | 93  |
| <b>Slika 20:</b> Koncentracije ALB (g/L) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                            |     |
| <i>Figure 20: The ALB concentrations (g/L) in individual groups of horses during the experiment</i>                                         | 95  |
| <b>Slika 21:</b> Koncentracije TP (g/L) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                             |     |
| <i>Figure 21: The TP concentrations (g/L) in individual groups of horses during the experiment</i>                                          | 96  |
| <b>Slika 22:</b> Aktivnosti AST ( $\mu\text{kat}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                               |     |
| <i>Figure 22: The AST activities (<math>\mu\text{kat}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>                    | 98  |
| <b>Slika 23:</b> Aktivnosti CK ( $\mu\text{kat}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                |     |
| <i>Figure 23: The CK activities (<math>\mu\text{kat}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>                     | 99  |
| <b>Slika 24:</b> Aktivnosti LDH ( $\mu\text{kat}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                               |     |
| <i>Figure 24: The LDH activities (<math>\mu\text{kat}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>                    | 100 |
| <b>Slika 25:</b> Aktivnosti ALT ( $\mu\text{kat}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                               |     |
| <i>Figure 25: The ALT activities (<math>\mu\text{kat}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>                    | 101 |
| <b>Slika 26:</b> Aktivnosti ALKP ( $\mu\text{kat}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                              |     |
| <i>Figure 26: The ALKP activities (<math>\mu\text{kat}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>                   | 102 |
| <b>Slika 27:</b> Aktivnosti GGT ( $\mu\text{kat}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                               |     |
| <i>Figure 27: The GGT activities (<math>\mu\text{kat}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>                    | 103 |
| <b>Slika 28:</b> Koncentracije celokupnega bilirubina ( $\mu\text{mol}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                         |     |
| <i>Figure 28: The total bilirubin concentrations (<math>\mu\text{mol}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>    | 104 |
| <b>Slika 29:</b> Koncentracije kreatinina ( $\mu\text{mol}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                     |     |
| <i>Figure 29: The creatinine concentrations (<math>\mu\text{mol}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>         | 106 |
| <b>Slika 30:</b> Koncentracije sečne kisline ( $\mu\text{mol}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom                                  |     |
| <i>Figure 30: The uric acid concentrations (<math>\mu\text{mol}/L</math>) in individual groups of horses during the experiment</i>          | 107 |
| <b>Slika 31:</b> Koncentracije sečnine (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom                                                     |     |
| <i>Figure 31: The concentrations of urea (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment</i>                                  | 108 |

**Slika 32:** Koncentracije holesterola (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 32: The concentrations of cholesterol (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment . 110*

**Slika 33:** Koncentracije trigliceridov (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 33: The concentrations of triglycerides (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment*

..... 111

**Slika 34:** Koncentracije HDL (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 34: The concentrations of HDL (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment..... 113*

**Slika 35:** Koncentracije LDL (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 35: The concentrations of LDL (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment ..... 114*

**Slika 36:** Koncentracije kalija (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 36: The concentrations of potassium (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment... 116*

**Slika 37:** Koncentracije natrija (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 37: The concentrations of sodium (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment ..... 117*

**Slika 38:** Koncentracije kloridov (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 38: The concentrations of chlorides (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment .... 118*

**Slika 39:** Koncentracije kalcija (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 39: The concentrations of calcium (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment ..... 120*

**Slika 40:** Koncentracije anorganskega fosfata (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 40: The concentrations of inorganic phosphate (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment ..... 122*

**Slika 41:** Koncentracije magnezija (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 41: The concentrations of magnesium (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment. 123*

**Slika 42:** Koncentracije glukoze (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 42: The concentrations of glucose (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment..... 125*

**Slika 43:** Koncentracije laktata (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 43: The concentrations of lactate (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment..... 126*

**Slika 44:** Koncentracije železa (μmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 44: The concentrations of iron (μmol/L) in individual groups of horses during the experiment..... 128*

## SEZNAM OKRAJŠAV

|                    |                                                                                   |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| ABTS <sup>•+</sup> | 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) - radikal                          |
| ACTH               | adenokortikotropni hormon ( <i>angl. Adrenocorticotropic hormone</i> )            |
| ADP                | adenozindifosfat                                                                  |
| ALB                | albumin                                                                           |
| ALKP               | alkalna fosfataza                                                                 |
| ALT                | alanin-aminotransferaza                                                           |
| AST                | aspartat-aminotransferaza                                                         |
| ATP                | adenozintrifosfat                                                                 |
| Ca                 | kalcij                                                                            |
| CHOL               | celokupni holesterol                                                              |
| CK                 | kreatin-kinaza ( <i>angl. Creatine Kinase</i> )                                   |
| Cl                 | kloridi                                                                           |
| CoQ <sub>10</sub>  | koencim Q <sub>10</sub> ( <i>angl. Coenzyme Q<sub>10</sub></i> )                  |
| CREA               | kreatinin ( <i>angl. Creatinine</i> )                                             |
| CRH                | kortikotropin sproščujoči hormon ( <i>angl. Corticotropin-releasing hormone</i> ) |
| CuZnSOD            | superoksid dismutaza z bakrovim (Cu) in cinkovim ionom (Zn) v aktivnem mestu      |
| d                  | dan                                                                               |
| DNA                | deoksiribonukleinska kislina ( <i>angl. Deoxyribonucleic acid</i> )               |
| IE                 | internacionalna oz. mednarodna enota                                              |
| e <sup>-</sup>     | elektron                                                                          |
| EDTA               | etilendiamintetraocetna kislina                                                   |
| Erci               | eritrociti oz. rdeče krvne celice ( <i>angl. Red blood cells; RBCs</i> )          |
| FAD                | flavinadenindinukleotid (oksidirana oblika)                                       |
| FADH <sub>2</sub>  | flavinadenindinukleotid (reducirana oblika)                                       |
| FD                 | frekvenca dihanja                                                                 |
| Fe                 | železo ( <i>angl. Ferrum</i> )                                                    |
| FS                 | frekvenca srčnega utripa                                                          |

|                   |                                                                                                      |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| GLU               | glukoza                                                                                              |
| GGT               | gama-glutamyltransferaza                                                                             |
| GSH               | glutation (reducirana oblika)                                                                        |
| GSH-Px            | glutation peroksidaza ( <i>angl. Glutathione peroxidase</i> )                                        |
| GR                | glutation reduktaza                                                                                  |
| Hb                | hemoglobin                                                                                           |
| HEM               | hemogram ali krvna slika                                                                             |
| HDL               | lipoprotein visoke gostote ( <i>angl. High Density Lipoprotein</i> )                                 |
| HPLC              | tekočinska kromatografija visoke ločljivosti ( <i>angl. High Performance Liquid Chromatography</i> ) |
| Ht                | hematokrit oz. volumski delež rdečih krvnih celic (eritrocitov)                                      |
| K                 | kalij                                                                                                |
| LAC               | laktat                                                                                               |
| LDH               | laktat-dehidrogenaza                                                                                 |
| LDL               | lipoprotein nizke gostote ( <i>angl. Low Density Lipoprotein</i> )                                   |
| Limf              | limfociti                                                                                            |
| Lkci              | levkociti oz. bele krvne celice ( <i>angl. White blood cells; WBCs</i> )                             |
| MCT               | monokarboksilatni transporter ( <i>angl. Monocarboxylate transporter</i> )                           |
| MDA               | malondialdehid                                                                                       |
| Mg                | magnezij                                                                                             |
| MnSOD             | superoksid dismutaza z manganovim ionom (Mn) v aktivnem mestu                                        |
| MS                | masna spektrometrija                                                                                 |
| Na                | natrij                                                                                               |
| NADP <sup>+</sup> | koencim nikotinamidadenindinukleotidfosfat (oksidirana oblika)                                       |
| NADPH             | koencim nikotinamidadenindinukleotidfosfat (reducirana oblika)                                       |
| Nevt              | nevtrofilci                                                                                          |
| O <sub>2</sub>    | kisik                                                                                                |
| p                 | verjetnost ( <i>ang. probability</i> )                                                               |
| P                 | anorganski fosfat                                                                                    |
| ROS               | reaktivne kisikove zvrsti ( <i>angl. Reactive Oxygen Species</i> )                                   |
| RNS               | reaktivne dušikove zvrsti ( <i>angl. Reactive Nitrogen Species</i> )                                 |

|       |                                                                                  |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------|
| RKS   | reaktivne kisikove spojine                                                       |
| RV    | relativna vlažnost                                                               |
| SD    | standardni odklon ( <i>angl. Standard Deviation</i> )                            |
| SOD   | superoksid dismutaza ( <i>angl. Superoxide dismutase</i> )                       |
| t     | čas odvzema vzorcev krvi                                                         |
| TAC   | celokupna antioksidativna kapaciteta ( <i>angl. Total Antioxidant Capacity</i> ) |
| T-Bil | celokupni bilirubin ( <i>angl. Total Bilirubin</i> )                             |
| TP    | celokupni proteini ( <i>angl. Total Proteins</i> )                               |
| Trci  | trombociti ali krvne ploščice                                                    |
| TRIG  | trigliceridi                                                                     |
| Tm    | telesna masa                                                                     |
| TT    | telesna temperatura                                                              |
| TZ    | temperatura zraka                                                                |
| UA    | sečna kislina ali urat ( <i>angl. Uric acid</i> )                                |
| UREA  | Sečnina ( <i>angl. Urea</i> )                                                    |
| vit.  | vitamin                                                                          |

## 1 UVOD

Posledica aerobnega metabolizma je nastanek reaktivnih zvrsti, najpogosteje reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS), ki zajemajo tako kisikove radikale kot tudi neradikale (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012). Glavni viri ROS so mitohondriji, peroksisomi in aktivirani fagociti (Halliwell in Gutteridge, 2007; El-Bahr, 2013). Na njihov nastanek v organizmu vplivajo poleg endogenih dejavnikov (staranje, bolezni idr.) tudi eksogeni dejavniki (radioaktivno sevanje, ozon, toksini idr.). Vsi ti dejavniki imajo pomembno vlogo v patogenezi številnih bolezni (Ji in Leichtweis, 1997; Chiaradia in sod., 1998; Hargreaves in sod., 2002; Art in Lexeux, 2005; Valko in sod., 2007). Organizmi so se prilagodili stiku z ROS tako, da so razvili antioksidativne obrambne mehanizme, s katerimi odstranjujejo ROS in s tem preprečijo poškodbe, ki bi nastale zaradi njihovega delovanja. Antioksidante najpogosteje delimo na: encimske (superoksid dismutaza, glutation peroksidaza idr.) in neencimske. Slednji vključujejo preventivne antioksidante (albumin, transferin idr.) in antioksidativne lovilce (vitamin E, koencim Q<sub>10</sub> idr.) (Art in Lexeux, 2005; Halliwell in Gutteridge, 2007; Valko in sod., 2007; Powers in Jackson, 2008). Ti so praviloma v ravnotežju z ROS. Ko je to ravnotežje zaradi presežka ROS in/ali zmanjšanja antioksidativnih obrambnih mehanizmov porušeno, nastane stanje oksidativnega stresa (Halliwell in Gutteridge, 2007; Valko in sod., 2007). Ta lahko vodi v oksidativne poškodbe molekul v organizmu, tj. poškodbe deoksiribonukleinske kisline (DNA), beljakovin in lipidov (Gutteridge, 1994; Ji in Leichtweis, 1997; Manček in Pečar, 2001; Hargreaves in sod., 2002; Banerjee in sod., 2003; Halliwell in Gutteridge, 2007).

Različne oblike fizične aktivnosti so povezane s spremembami številnih fizioloških, hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov kot odgovor organizma na povečani metabolizem v mišicah (Clarkson in Thompson, 2000; Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; Dröge, 2002; Powers in Jackson, 2008; McGowan in Hodgson, 2014). Poleg tega lahko vodijo v stanje oksidativnega stresa, predvsem zaradi povečanega nastajanja ROS v mitohondrijih pri večji porabi kisika (O<sub>2</sub>). Tako v plazmi kot tudi mišicah se poveča količina ROS in produktov lipidne peroksidacije ter antioksidativni odgovor (Deaton in Marlin, 2003; Ji, 2008; Kirschvink in sod., 2008; Powers in Jackson, 2008). Lipidna peroksidacija, ki je najpogostejša posledica oksidativnega stresa pri fizični aktivnosti, vključuje oksidativne spremembe večkrat nenasičenih maščobnih kislin in privede do razpada membranske

strukture ter spremembe njene funkcije. Oksidativna poškodba prizadene predvsem skeletne mišice, ki v primerjavi z ostalimi tkivi vsebujejo nižji nivo antioksidantov (Ji, 2008), zaradi česar lahko pride do mišične utrujenosti in sproščanja mišičnih encimov v sistemski krvni obtok. Patogeneza obremenitvene miopatije in hemolize, kot posledica fizične aktivnosti, je povezana s procesom lipidne peroksidacije in povečanjem aktivnosti antioksidativnih encimov (Matsuki in sod., 1991; Chiaradia in sod., 1998; Avellini in sod., 1999; Deaton in Marlin, 2003; Powers in Jackson, 2008).

Pri ljudeh in konjih z dajanjem antioksidantov kot dodatkov k prehrani lahko preprečimo poškodbe celic, ki jih povzročijo ROS pri različnih oblikah fizične aktivnosti (Packer, 1991; Hargreaves, 2002; De Moffarts in sod., 2005; Powers in Jackson, 2008; Sinatra in sod., 2014). V obstoječi literaturi ni podatkov o vplivu koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani rekreativnih konj, ki bi zmanjšal oksidativni stres pri izbrani fizični aktivnosti, zato smo v naši raziskavi kot dodatek k prehrani uporabili tako vitamin E kot tudi koencim Q<sub>10</sub> ter kombinacijo vitamina E in koencima Q<sub>10</sub>.

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) je eden izmed najbolj proučevanih in najpogosteje uporabljenih antioksidantov v humani in veterinarski medicini. Kot dodatek k prehrani zmanjša koncentracijo produktov lipidne peroksidacije in poveča antioksidativno kapaciteto pri različnih oblikah fizične aktivnosti ljudi in konj (Kaikkonen in sod., 1998; Avellini in sod., 1999; Sacheck in sod., 2001; De Moffarts in sod., 2005). V visoki koncentraciji se namreč pojavlja v lipofilnem sloju celičnih membran, v lipoproteinih in v nadledvični žlezi, kjer deluje kot lovilec hidroksilnega radikala. Njegova najpomembnejša vloga je reakcija s sekundarnimi peroksilnimi in alkoksilnimi radikali, pri čemer tvori manj reaktiven tokoferilni radikal. Na ta način preprečuje sprožitev in širjenje procesa lipidne peroksidacije. Vitamin E deluje kot eksogeni antioksidant in ga organizem sam ne more sintetizirati; dobiti ga mora s prehrano (Meydani, 1995; Evans, 2000; Blatt in sod., 2001).

Kot dodatek k prehrani se, zlasti pri ljudeh, uporablja tudi koencim Q<sub>10</sub> sam ali v kombinaciji z vitaminom E, s katerim sta si strukturno zelo podobna (Shimomura in sod., 1991; Weber in sod., 1997; Kaikkonen in sod., 1998; Linnane in sod., 2002; Rosenfeldt in sod., 2003; Otrocka-Domagala in sod., 2004; Zhou in sod., 2005; Cooke in sod., 2008; Östman in sod., 2012). V strokovni literaturi najdemo zelo malo podatkov o uporabi koencima Q<sub>10</sub> pri fizični aktivnosti konj, pa še ti so omejeni na dajanje koencima Q<sub>10</sub> pri športnih konjih (Jagrič

Munih, 2012; Sinatra in sod., 2013; Sinatra in sod., 2014). Koencim Q<sub>10</sub> je edini v maščobah topen antioksidant, ki se v organizmu sintetizira *de novo*. V organizmih se nahaja v dveh redoks oblikah: kot ubikinon (oksidirana oblika) in ubikinol (reducirana oblika). Ubikinol je prevladujoča oblika v krvi in tkivih, kjer deluje kot fenolni antioksidant. Koencim Q<sub>10</sub> se pretežno sintetizira v organizmu, vendar ga v telo lahko vnesemo tudi s prehrano. V organizmu ima številne funkcije. Najpomembnejša in tudi prva znana vloga koencima Q<sub>10</sub> je transport elektronov v dihalni verigi. Kot ubikinol ščiti lipidne membrane pred ROS in s tem prepreči napad na maščobne kisline in nastanek alkilnih ter peroksilnih radikalov. Je prvi antioksidant, ki se porabi, preden pride do obsežnejše lipidne peroksidacije. Pred oksidativnimi poškodbami ščiti tudi kardiomiocite in miocite, in sicer kot lovilec prostih radikalov. Prav tako ubikinol regenerira vitamin E z redukcijo tokoferilnega radikala (Shimomura in sod., 1991; Ernster in Dallner, 1995; Crane in Navas, 1997; Niki, 1997; Linnane in sod., 2002; Linnane in Eastwood, 2004; Turunen in sod., 2004; Bhagavan in Chopra, 2006; Crane, 2007; Sohal in Forster, 2007; Kumar in sod., 2009; Littarru in Tiano, 2010; Sinatra in sod., 2014). Koencim Q<sub>10</sub> deluje kooperativno in sinergistično z nekaterimi antioksidanti, kot je npr. vitamin E (Kaikkonen in sod., 1998; Sinatra in sod., 2014). Dajanje koencima Q<sub>10</sub> k prehrani poviša koncentracijo koencima Q<sub>10</sub> v plazmi ter homogenatih in mitohondrijih srčne mišice, skeletnih mišic ter jeter in možganov (Zhou in sod., 2005; Lee in sod., 2012; Hargreaves, 2014; Sinatra in sod., 2014). Značilno se poviša tudi koncentracija endogenega vitamina E v plazmi ter homogenatih in mitohondrijih omenjenih tkiv, kar poveča antioksidativno kapaciteto plazme in tkiv (Rosenfeldt in sod., 2003).

Antioksidativni obrambni sistem pri konju, ocenjen na osnovi sprememb vrednosti parametrov antioksidativnega statusa pri različnih oblikah fizične aktivnosti, v marsičem ni pojasnjen. Rezultati naše raziskave bodo morda omogočili učinkovito uporabo antioksidantov neposredno na mestu delovanja ROS in s tem prispevali k boljšemu in daljšemu življenju konj, drugih živali in ljudi.

### 1.1 NAMEN RAZISKAVE

Namen raziskave je bil določiti fiziološke, hematološke, biokemijske in antioksidativne parametre ter pokazatelja oksidativnega stresa malondialdehida (MDA) pri zdravih rekreativnih konjih, ki smo jih obremenili z izbrano fizično aktivnostjo. Ugotoviti smo želeli, ali ta privede do stanja oksidativnega stresa in oksidativnih poškodb. Nadalje smo želeli

ugotoviti, ali/in v kakšnem obsegu dajanje vitamina E, koencima Q<sub>10</sub> in njune kombinacije k prehrani zmanjša oksidativni stres ter njuno morebitno sinergistično delovanje. Hkrati smo želeli potrditi, da je oksidativni stres povezan s povečano sistemsko aktivnostjo mišičnih encimov.

## 1.2 HIPOTEZE

V okviru raziskave smo postavili naslednje hipoteze:

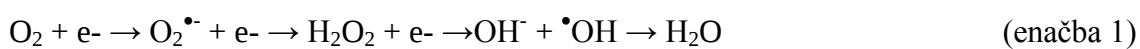
1. Izbrana fizična aktivnost rekreativnih konj privede do sprememb fizioloških parametrov: frekvence srčnega utripa (FS), frekvence dihanja (FD) in telesne temperature (TT).
2. Izbrana fizična aktivnost rekreativnih konj privede do sprememb hematoloških parametrov: številčne koncentracije eritrocitov (Erci), levkocitov (Lkci) in trombocitov (Trci), koncentracije hemoglobina (Hb), deležev hematokrita (Ht) in razmerja nevtrofilci/limfociti (Nevt/Limf).
3. Izbrana fizična aktivnost rekreativnih konj privede do sprememb biokemijskih parametrov: aktivnosti mišičnih encimov (aspartat-aminotransferaze (AST), kreatinkinaze (CK), laktat-dehidrogenaze (LDH)); aktivnosti alanin-aminotransferaze (ALT), alkalne fosfataze (ALKP), gama-glutamiltransferaze (GGT), koncentracije laktata (LAC), glukoze (GLU), albumina (ALB), celokupnih proteinov (TP), celokupnega bilirubina (T-Bil), kreatinina (CREA), sečne kisline (UA), sečnine (UREA), holesterola (CHOL), trigliceridov (TRIG), lipoproteinov visoke gostote (HDL), lipoproteinov nizke gostote (LDL); koncentracije elektrolitov (kalija (K), natrija (Na), kloridov (Cl)), kalcija (Ca), magnezija (Mg), železa (Fe) in anorganskih fosfatov (P).
4. Izbrana fizična aktivnost rekreativnih konj privede do sprememb antioksidativnih parametrov (povišane aktivnosti antioksidativnih encimov (glutation peroksidaza (GSH-Px), superoksid dismutaza (SOD)) in koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete (TAC)) ter stanja oksidativnega stresa in oksidativne poškodbe (povišane koncentracije malondialdehida (MDA)).
5. Povišana koncentracija malondialdehida (MDA), pokazatelj oksidativnega stresa, je povezana s povečano sistemsko aktivnostjo mišičnih encimov.
6. Vitamin E in koencim Q<sub>10</sub> ter njuna kombinacija v prehrani zmanjšata oksidativni stres.

7. Vitamin E in koencim Q<sub>10</sub> delujeta sinergistično in zato v največjem obsegu zmanjšata oksidativni stres in povečano sistemsko aktivnost mišičnih encimov pri izbrani fizični aktivnosti.

## 2 PREGLED LITERATURE

### 2.1 KISIK

Kisik (O<sub>2</sub>) predstavlja 21 % atmosfere in je kljub svoji toksičnosti ter mutagenosti nujno potreben za pridobivanje energije (molekula adenozintrifosfata (ATP)) pri ljudeh in živalih (Martinez-Cayuela, 1995; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007). V organizmu prehaja s procesom dihanja in se prenaša po krvi – večinoma vezan na hemoglobin, delno raztopljen v krvni plazmi – v vse dele telesa. V citoplazmi celic pride pri oksidaciji hrane do nastanka končnih produktov presnovnih poti (energijsko bogata elektron-donorja nikotinamidadenindinukleotidfosfat (NADPH) ter flavinadenindinukleotid (FADH<sub>2</sub>)) in prenosa elektronov v mitohondrije, ki so glavni vir ATP. Kisik kot končni prejemnik elektronov (e<sup>-</sup>) iz dihalne verige sprejme elektrone in se v štirih stopnjah reducira do vode (H<sub>2</sub>O). Pri tem nastanejo nevarni, vmesni intermediati: superoksidni radikal (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), vodikov peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in hidroksilni radikal (HO<sup>•</sup>) (enačba 1) (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Rao in sod., 2011; El-Bahr, 2013).



Kisik je v atmosferi večinoma v tripletnem stanju, tj. v stanju biradikala, v katerem sta na zunanji orbitali prisotna dva nesparjena elektrona (Martinez-Cayuela, 1995; Halliwell in Gutteridge, 2007). V osnovnem tripletnem stanju je molekula O<sub>2</sub> slabo reaktivna, v procesih njene enoelektronske redukcije nastajajo ROS, ki lahko v bioloških sistemih povzročijo poškodbe in jih povezujejo z nastankom ali potekom številnih bolezni (Martinez-Cayuela, 1995; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012; El-Bahr, 2013).

### 2.2 REAKTIVNE ZVRSTI

Med reaktivne zvrsti prištevamo radikale in neradikale. Vsem reaktivnim zvrstem je skupno, da je njihovo nastajanje običajen proces, so visoko reaktivne, lahko oksidirajo katerokoli organsko molekulo v organizmu (ogljikove hidrate, lipide, proteine, nukleinske kisline) in/ali jih pretvorijo v radikale (Halliwell in Gutteridge, 2007; Rao in sod., 2011). Biološko pomembne so kisikove (ROS), dušikove (RNS), klorove (RCS) in bromove (RBS) reaktivne zvrsti (Tabela 1) (Halliwell in Gutteridge, 2007).

Tabela 1: Biološko pomembne reaktivne zvrsti (prirejeno po Halliwell in Gutteridge, 2007)  
*Table 1: Biologically important reactive species (adapted from Halliwell in Gutteridge, 2007)*

| Biološko pomembne reaktivne zvrsti | Najpogostejši predstavniki        |                              |
|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| kisikove reaktivne zvrsti (ROS)    | <i>naštete podrobneje kasneje</i> |                              |
| dušikove reaktivne zvrsti (RNS)    | nitrozilni kation                 | NO <sup>+</sup>              |
|                                    | nitroksidni anion                 | NO <sup>-</sup>              |
|                                    | dušikova kislina                  | HNO <sub>2</sub>             |
|                                    | nitronijev ion                    | NO <sub>2</sub> <sup>+</sup> |
|                                    | peroksinitrit                     | ONOO <sup>-</sup>            |
|                                    | alkilni peroksinitrit             | ROONO                        |
| klorove reaktivne zvrsti (RCS)     | klorova kislina                   | HOCl                         |
|                                    | klor (plin)                       | Cl <sub>2</sub>              |
|                                    | klorov dioksid                    | ClO <sub>2</sub>             |
|                                    | bromov klorid                     | BrCl                         |
| bromove reaktivne zvrsti (RBS)     | bromova kislina                   | HOBr                         |
|                                    | plin broma                        | Br <sub>2</sub>              |
|                                    | bromov klorid                     | BrCl                         |

Posledice delovanja reaktivnih zvrsti v različnih delih celice so: povečana prepustnost celične membrane, peroksidacija biomolekul, poškodbe DNA, nepravilnosti pri prenosu dražljajev, nepravilnosti homeostaze ionov, inhibicija glikolize, izčrpanje ATP, padec mitohondrijskega membranskega potenciala idr. (Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

### 2.2.1 Radikali

Radikali (označeni s piko desno zgoraj) so posamezni atomi, ioni, molekule ali kompleksi, ki imajo enega ali več nesparjenih elektronov, kar je tudi vzrok za njihovo visoko reaktivnost (Martinez-Cayuela, 1995; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007).

Zaradi primanjkljaja elektrona so nestabilni in večinoma zelo kratkoživi, njihov razpolovni čas je 10<sup>-7</sup> sekund ali celo manj. Lahko imajo pozitiven ali negativen naboj ali so brez naboja (ti imajo sodo število elektronov, vendar imajo vsaj dva elektrona na različnih nivojih) (Martinez-Cayuela, 1995; Halliwell in Gutteridge, 2007). Z molekulami v svoji bližini reagirajo zelo hitro z odvzemom vodikovega atoma, adicijo na dvojno vez ali reakcijo dveh radikalov, in sicer tako, da pridobijo manjkajoči elektron (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007).

Radikali nastajajo s homolitsko cepitvijo kovalentne vezi, z reakcijo molekul z radikalom in pri enoelektronskih reakcijah oksidacije in redukcije. Pri tem bodisi tvorijo nove radikale bodisi pride do njihove inaktivacije. Pri reakciji med dvema radikaloma se prosta elektrona združita v kovalentno vez in nastane novi neradikal, medtem ko pri reakciji med radikalom in neradikalom vedno nastane novi radikal. Ker je v telesu večina molekul neradikalnih, lahko

na ta način že en sam radikal sproži obsežno verižno reakcijo (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

Radikali nastajajo kot posledica endogenih dejavnikov (staranje, bolezni) pri procesih v celicah oz. organizmu: pri encimskih reakcijah, presnovi (razgradnji maščobnih kislin), celičnem dihanju (hipo- in hiperoksigenacija), aktivnostih imunskega sistema (nevtrofilci, eozinofilci in makrofagi), uhajanju elektronov iz mitohondrijske prenašalne verige idr. (Martinez-Cayuela, 1995; Rahman in sod., 2006; Valko in sod., 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007; Lykkesfeldt in Svendsen, 2007; Kirschvink in sod., 2008; Pala in Gürkan, 2008; Sachdev in Davies, 2008; El-Bahr, 2013). Med fiziološkimi procesi nastajajo radikali neprestano v nižjih koncentracijah v celičnih organelih (mitohondriji, lizosomi, peroksisomi, endoplazemski retikulum), plazemski membrani in citosolu, kjer imajo pozitiven učinek na organizem (Valko in sod., 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007). Pri patoloških procesih in stresu (npr. bolezni, napor idr.) je njihovo nastajanje povečano (Martinez-Cayuela, 1995; Art in Lekeux, 2005; Rahman in sod., 2006; Valko in sod., 2006; Valko in sod., 2007; Powers in Jackson, 2008).

Radikali lahko nastajajo tudi zaradi eksogenih dejavnikov (sevanja (UV, X in  $\gamma$ -žarki), toksini idr.) (Martinez-Cayuela, 1995; Halliwell in Gutteridge, 2007; Jackson in sod., 2007; Lykkesfeldt in Svendsen, 2007; Kirschvink in sod., 2008; Powers in Jackson, 2008; Osredkar, 2012). Pomembni so za obrambo pred patogenimi mikroorganizmi, aktivacijo transkripcije, proliferacijo, celično smrt, kontrolo celičnega redoks potenciala in imajo vlogo signalnih molekul (Dröge, 2002; Rao in sod., 2011).

Biološko pomembni so kisikovi, dušikovi, ogljikovi, bromidni in klorovi radikali (Tabela 2) (Halliwell in Gutteridge, 2007).

Tabela 2: Biološko pomembni radikali (prirejeno po Halliwell in Gutteridge, 2007)

Table 2: Biologically important radicals (adapted from Halliwell in Gutteridge, 2007)

| Biološko pomembni radikali | Najpogostejši predstavniki        |                               |
|----------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| kisikovi radikali          | <i>našteti podrobneje kasneje</i> |                               |
| dušikovi radikali          | dušikov oksid                     | NO <sup>•</sup>               |
|                            | dušikov dioksid                   | NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>  |
|                            | nitrat                            | NO <sub>3</sub> <sup>•</sup>  |
| ogljikovi radikali         | karbonat                          | CO <sub>3</sub> <sup>•-</sup> |
|                            | ogljikov dioksid                  | CO <sub>2</sub> <sup>•</sup>  |
| bromidni radikal           | atom broma                        | Br <sup>•</sup>               |
| kloridni radikal           | atom klora                        | Cl <sup>•</sup>               |

Poznamo še številne druge radikale: lipidni, lipidno peroksidni, lipidno-alkoksilni, proteinski, lipidni hidroperoksid, železo-kisikovi kompleksi, hipoklorit idr. (Bryan, 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007).

Najpogostejša kisikova radikala v organizmu sta superoksidni in hidroksilni radikal (Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

#### 2.2.1.1 Superoksidni radikal

Superoksidni radikal ( $O_2^{\bullet-}$ ) nastaja endogeno v mitohondrijih na notranji membrani z oksidacijo  $O_2$  pri prenosu elektronov v mitohondrijski dihalni verigi pri sintezi energijsko bogate molekule ATP in z redukcijo tripletnega kisika ( $^3O_2$ ) ter s pomočjo encima ksantin oksidaze (XO) v citosolu (El-Bahr, 2013). Je najpogostejši radikal. Prisotnost naboja omejuje njegovo gibljivost skozi biološke membrane (Rao in sod., 2011). Vnetne celice ga proizvajajo v večjih količinah kot zaščito pred patogenimi mikroorganizmi. Z encimom superoksid dismutazo (SOD) se katabolizira do  $H_2O_2$  in  $O_2$  (enačba 2) (v mitohondrijskem matriksu s superoksid dismutazo, ki ima v aktivnem mestu manganov ion (MnSOD) in medmembranskem mitohondrijskem prostoru s superoksid dismutazo, ki ima v aktivnem mestu bakrov in cinkov ion (CuZnSOD)) (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Bonetto in sod., 2009; Rao in sod., 2011; El-Bahr, 2013).



Reagira tudi z dušikovim oksidom ( $NO^{\bullet}$ ), ki je pomemben vazodilatator, pri čemer nastane zelo reaktiven peroksinitrit ( $HNOO^{\bullet}$ ), ki lahko naprej reagira z ogljikovim dioksidom ( $CO_2$ ) in poškoduje številne proteine ter lipide (Dedon in Tannenbaum, 2004; Patwell in sod., 2004; Halliwell in Gutteridge, 2007; El-Bahr, 2013).

#### 2.2.1.2 Hidroksilni radikal

Hidroksilni radikal ( $HO^{\bullet}$ ) je eden izmed najreaktivnejših radikalov, ki zaradi nezmožnosti potovanja, saj reagira hitreje od hitrosti difuzije, poškoduje molekule lokalno. Nastaja pod vplivom ionizirajočega sevanja, ultrazvoka, ozona, pri radiolizi  $H_2O$  in pri reakcijah, kataliziranih s kovinami, kot je npr. Fentonova reakcija: razpad  $H_2O_2$ , ki ga katalizirajo prosti železovi ioni, pri čemer nastane  $HO^{\bullet}$  in hidroksilni anion ( $HO^{\bullet-}$ ) (enačba 3) (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Rao in sod., 2011; Osredkar, 2012; El-Bahr, 2013).



Hidroksilni radikal reagira skoraj z vsemi celičnimi sestavinami, pri čemer nastanejo tudi novi radikali (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

## 2.2.2 Reaktivne kisikove spojine – neradikali

Med ROS prištevamo kisikove radikale in reaktivne kisikove spojine (RKS) – neradikale (Tabela 3) (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

Tabela 3: Reaktivne kisikove zvrsti (prirejeno po Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012)

Table 3: Reactive oxygen species (adapted from Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012)

| Kisikovi radikali                  |                              | Reaktivne kisikove spojine – »neradikali« |                               |
|------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------|
| tripletni kisik                    | <sup>3</sup> O <sub>2</sub>  | singletni kisik                           | <sup>1</sup> O <sub>2</sub>   |
| superoksidni radikal               | O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> | ozon                                      | O <sub>3</sub>                |
| hidroksilni radikal                | HO <sup>•</sup>              | vodikov peroksid                          | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |
| hidroperoksidni radikal            | HO <sup>•</sup> <sub>2</sub> | hipoklorna kislina                        | HOCl                          |
| peroksidni radikal                 | ROO <sup>•</sup>             | hidroperoksid                             | ROOH                          |
| alkoksidni radikal                 | RO <sup>•</sup>              | peroksid                                  | ROOR                          |
| ariloksidni radikal                | ArO <sup>•</sup>             |                                           |                               |
| semikinonski radikal               | UQ <sup>•</sup>              |                                           |                               |
| vzbujena oblika singletnega kisika | <sup>1</sup> O <sub>2</sub>  |                                           |                               |

Reaktivne kisikove spojine – neradikali po svoji strukturi niso radikali, čeprav nastajajo podobno kot radikali, kot posledica endogenih in eksogenih dejavnikov ter med fiziološkimi procesi v nižjih koncentracijah, pri patoloških procesih in zaradi stresa v višjih koncentracijah (Halliwell in Gutteridge, 2007; Kirschvink in sod., 2008).

Najpogostejša reaktivna kisikova spojina je H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

### 2.2.2.1 Vodikov peroksid

Vodikov peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) nastaja v celici najpogosteje med reakcijo dismutacije (pretvorba superoksidnega radikala (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) v H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in O<sub>2</sub> s pomočjo encima superoksid dismutaza (SOD)) (enačba 4) (Perdih in Pečar, 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007).



Lahko se reducira do H<sub>2</sub>O z encimom katalazo v peroksisomih in z glutation peroksidazo (GSH-Px) v citosolu ter mitohondrijih. Je reaktiven in sposoben tvoriti novi radikal (npr.

hidroksilni radikal). Po velikosti je podoben velikosti molekule H<sub>2</sub>O in je nevtralen, zato lahko prehaja membrano in se giblje po tkivih, podobno kot H<sub>2</sub>O. Je stabilen in ima dolg razpolovni čas znotraj celice. Ob stiku s kovinskimi ioni prehodnih elementov razpade na izredno reaktivni hidroksilni radikal (npr. v Fentonovih reakcijah) in je zato tudi citotoksičen (enačba 2) (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Rao in sod., 2011; El-Bahr, 2013).

## 2.3 OBRAMBA PRED REAKTIVNIMI KISI KOVIMI ZVRSTMI

### 2.3.1 Obrambni mehanizmi

Vsi aerobni organizmi so zaradi pridobivanja energije s pomočjo O<sub>2</sub> za preživetje morali prilagoditi svoje presnovne procese tako, da so razvili obrambne sisteme, s katerimi odstranjujejo ROS oz. popravljajo poškodbe na bioloških makromolekulah. Delimo jih na primarne, sekundarne in terciarne obrambne mehanizme. Primarni obrambni mehanizmi preprečujejo nastanek ROS, sekundarni nevtralizirajo ROS, terciarni poskrbijo za popravilo morebitnih poškodb zaradi njihovega delovanja (Halliwell in Gutteridge, 2007; Kirschvink in sod., 2008; Osredkar, 2012).

Primarni obrambni mehanizmi: S strukturno organizacijo lipidov v membranah se lipidni dvosloj mnogo kasneje oksidira kot posamezne maščobne kisline. Z vezavo (odstranitvijo) ionov prehodnih kovin (železo (Fe), baker (Cu), mangan (Mn) – prooksidanti) v proteinske komplekse ti ioni ne morejo posegati v oksidativne reakcije, pretvorbe peroksidov in spodbuditi lipidne peroksidacije (Fe ioni vezani na feritin, hemosiderin, laktoferin, transferin; Cu ion vezan na ceruloplazmin in albumin; Mn ion vezan na transferin) (Matés in sod., 1999; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

Sekundarni obrambni mehanizmi: Encimi pretvorijo nevarne ROS v manj nevarne spojine (SOD odstrani superoksidni radikal z dismutacijo in ga pretvori v H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in O<sub>2</sub>; katalaza: odstrani H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> s pretvorbo v H<sub>2</sub>O in O<sub>2</sub>; GSH-Px: katalizira reakcijo med reduciranim glutationom (GSH) in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pri čemer nastane H<sub>2</sub>O in oksidirani glutation oz. glutation disulfid (GSSH)). Tudi z neencimsko obrambo (endogeni in eksogeni antioksidanti) zavrejo oksidacijo substratov na več načinov (Matés in sod., 1999; Manček in Pečar, 2001; Perdih in Pečar, 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

Terciarni obrambni mehanizmi: Encimi hidrolaze (glikozidaze, lipaze, proteaze), tranferaze in polimeraze posredujejo šele po nastanku škode z ROS, tako da vključijo identifikacijo, odstranitev oksidiranega dela molekule in na koncu sintezo novega dela, ki ga vključijo nazaj v poškodovano molekulo (Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

Kljub številnim razvitim obrambnim mehanizmom ti niso popolni in zato radikale ter neradikale še vedno povezujejo z nastankom ali potekom številnih bolezni tako pri ljudeh kot tudi živalih (Martinez-Cayuela, 1995; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Halliwell, 2009; Osredkar, 2012; El-Bahr, 2013).

### **2.3.2 Antioksidanti**

Antioksidant je vsaka snov, ki je sposobna že v zelo nizki koncentraciji (v primerjavi s koncentracijo substrata, ki je tarča radikala) opazno upočasniti oz. preprečiti oksidacijo substrata (Halliwell, 1995; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012; El-Bahr, 2013). Njihova lastnost je, da imajo v svoji strukturi vsaj en reaktiven vodikov ion, ki se zlahka odcepi in veže na radikal. Pri tem nastane novi radikal, ki je stabilnejši in zato manj škodljiv (Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012). To so torej molekule, ki ščitijo organizem pred oksidacijo tako, da spodbudijo obrambne sisteme ter odstranjujejo in aktivirajo kemijske intermediate, ki proizvajajo radikale. Lahko jih imenujemo tudi »lovilci radikalov«, saj stabilizirajo radikale, ki postanejo mnogo manj reaktivni in zato tudi manj škodljivi ter se precej lažje izločijo iz organizma (Osredkar, 2012). S svojim delovanjem kontrolirajo nivo reaktivnih spojin (Halliwell in Gutteridge, 2007).

Antioksidanti so različno reaktivni. Reaktivnost določa njihovo moč in je odvisna tudi od drugih dejavnikov, kot so vrsta radikala, mobilnost in količina antioksidanta ter interakcije z drugimi antioksidanti (Halliwell in Gutteridge, 2007).

V zunajceličnem prostoru in krvni plazmi predstavljajo antioksidativno plazemsko pregrado vse tiste snovi, ki imajo reduktivne sposobnosti in predstavljajo dobre »ponudnike« vodikovega atoma (Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

Med antioksidante prištevamo tudi kemijske elemente (ione) v sledovih: selen (Se), mangan, cink (Zn), baker, železo in krom (Cr). Ti sicer niso neposredni antioksidanti, vendar so nujno potrebni za delovanje encimov in drugih antioksidantov (Benzie, 2003; Halliwell in Gutteridge, 2007; Santhosh Kumar in Priyadarsini, 2014).

Antioksidante delimo glede na mehanizem delovanja, izvor in topnost (Martinez-Cayuela, 1995; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Rao in sod., 2011; Osredkar, 2012).

#### 2.3.2.1 Mehanizem delovanja antioksidantov

Znani so trije mehanizmi delovanja antioksidantov. Preventivni antioksidanti vežejo nase ione kovin prehoda in s tem preprečijo njihovo interakcijo s H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in O<sub>2</sub><sup>•</sup>, kar je temelj nastanka nevarnih hidroksilnih radikalov. V to skupino antioksidantov uvrščamo proteine transferin, feritin, hemosiderin in laktoferin, ki vežejo železove ione ter proteina ceruloplazmin in albumin, ki vežeta bakrove ione. V drugo skupino sodijo encimski antioksidanti: superoksid dismutaza, glutation peroksidaza in katalaza, ki katalizirajo pretvorbo radikalov ROS in RNS v manj reaktivne produkte. V tretjo skupino uvrščamo tiste antioksidante, ki so donorji elektronov in reagirajo z radikali, še preden lahko ti vplivajo na druge molekule. Tovrstni antioksidanti se oksidirajo v razmeroma stabilne in nereaktivne radikale, ki se bodisi regenerirajo ali izločijo iz organizma. V tej skupini je mnogo predstavnikov, npr.: vitamin C ali askorbinska kislina, vitamin E ali α-tokoferol, vitamin A ali retinol, ubikinon ali oksidirana oblika koencima Q<sub>10</sub>, različni karoteni (β-karoten), glutation, bilirubin, tiolne spojine, žveplove spojine, fenoli in polifenoli (flavonoidi) idr. (Martinez-Cayuela, 1995; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Kirschvink in sod., 2008; Rao in sod., 2011; El-Bahr, 2013).

#### 2.3.2.2 Izvor antioksidantov

Antioksidante lahko razvrstimo glede na izvor na tiste, ki nastajajo endogeno (SOD, GSH-Px, katalaza, glutation, sečna kislina, koencim Q<sub>10</sub>, bilirubin, lipoična kislina, hormoni z antioksidativno aktivnostjo, npr. melatonin ter proteini, ki vežejo železove in bakrove ione, npr. transferin, ceruloplazmin, albumin idr.) ali eksogeno (vneseni v organizem s prehrano: vitamin C, vitamin E, vitamin A, karotenoidi (β-karoten), glutation, žveplove spojine, fenoli in polifenoli (flavonoidi)). Eksogeni antioksidanti pomagajo endogenim pri nevtralizaciji reaktivnih spojin oz. zmanjšanju oksidativnega stresa (Manček in Pečar, 2001; Benzie, 2003; Urso in Clarkson, 2003; Halliwell in Gutteridge, 2007; Kirschvink in sod., 2008; Rao in sod., 2011; El-Bahr, 2013).

### 2.3.2.3 Topnost antioksidantov

Glede na topnost delimo antioksidante na hidrofilne oz. topne v vodi (vitamin C, glutation, flavonoidi) in hidrofobne oz. topne v maščobah (vitamin E, koencim Q<sub>10</sub>, vitamin A, β-karoten). Hidrofilni antioksidanti reagirajo z oksidanti predvsem v citosolu in krvni plazmi, hidrofobni preprečujejo lipidno peroksidacijo celičnih membran (Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012).

### 2.3.3 Antioksidativni parametri

Za zaščito pred različnimi oksidanti organizem kot prvo obrambo aktivira encime superoksid dismutazo, glutation peroksidazo in katalazo ter številne druge antioksidante (tiorredoksin reduktaza, celokupna antioksidativna kapaciteta idr.). Z njimi se lahko v krvi oceni antioksidativni status, vendar to ni nujno odraz aktivnosti/koncentracij teh antioksidantov v tarčnih tkivih, kjer je oksidativni stres večji (Duthie, 1999; Halliwell, 2009; Halliwell, 2011). Različni antioksidativni parametri so pomoč pri oceni fiziološkega stanja organizma in prisotnega oksidativnega stresa pri ljudeh in živalih (Guemouri in sod., 1991; Martinez-Cayuela, 1995; Mates in sod., 1999; Manček in Pečar, 2001; Marlin in sod., 2002; Halliwell in Whiteman, 2004; Perdih in Pečar, 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007; Powers in Jackson, 2008; Halliwell, 2011).

#### 2.3.3.1 Superoksid dismutaza

Superoksid dismutaza (SOD) (EC 1.15.1.1) je znotrajcelični antioksidant, ki odstranjuje superoksidni radikal z reakcijo dismutacije in ga pri tem pretvori v H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in O<sub>2</sub> (enačba 2) (Banerjee in sod., 2003; Perdih in Pečar, 2006; Valko in sod., 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007; El-Bahr, 2013). Funkcijsko je sklopljena z GSH-Px in katalazo, ki katalizirata nadaljnji razkroj H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Gutteridge, 1994; Mates in sod., 1999). Znanih je več izoencimov SOD: mitohondrijska tetramerna SOD, ki ima največjo protitumorsko aktivnost in vsebuje v aktivnem centru mangan (Mn-SOD), citosolna dimerna SOD, ki vsebuje v aktivnem centru ione bakra in cinka (CuZn-SOD; Cu – sodeluje neposredno pri katalizi, Zn – stabilizira encim) ter se nahaja tudi v medmembranskem prostoru mitohondrijev, in zunajcelična tetramerna SOD, ki ima v aktivnem centru ione železa ter cinka, kjer se s heparin-veznimi domenami veže na proteine matriksa zunajceličnega prostora (Valko in sod., 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007).

Njihova stalna aktivnost je nujno potrebna in je največja v skeletnih mišicah, srcu, krvi (eritrociti, trombociti), jetrih in možganih (Ji, 1995; Martinez-Cayuela, 1995; Ji in Leichtweis, 1997; Mates in sod., 1999; Banerjee in sod., 2003; Halliwell in Gutteridge, 2007; Pepe in sod., 2009; Mendes Soares in sod., 2011).

#### 2.3.3.2 Glutation peroksidaza

Glutation peroksidaza (GSH-Px) (EC 1.11.1.9) je skupno ime za več sorodnih encimov, ki imajo v aktivnem mestu ione selena (Halliwell in Gutteridge, 2007). Za odstranitev H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> z glutationom, ki je tripeptid, je odgovorna GSH-Px (znotrajcelični antioksidant) (Mates in sod., 1999; Clarkson in Thompson, 2000; Halliwell in Gutteridge, 2007; Valko in sod., 2007). Pri reakciji nastane H<sub>2</sub>O in oksidirana oblika glutaciona, ki je v celicah v ravnotežju z glutationom, za kar poskrbi glutation reduktaza (GR). Glutation peroksidaza deluje v celičnem citosolu in matriksu mitohondrijev (Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012; El-Bahr, 2013), predvsem v jetrih, srcu, pljučih, krvi (eritrociti, trombociti), možganih in nekoliko manj v skeletnih mišicah (Ji in Leichtweis, 1997; Navarro in sod., 1997). Deluje tudi na številne lipidne hidroperokside (peroksidi linolne in linolenske kisline, steroidni peroksidi), katerih končni produkti so alkoholi ali H<sub>2</sub>O, vendar le zunaj membrane (Manček in Pečar, 2001; Valko in sod., 2006). Sodeluje tudi pri odstranjevanju singletnega kisika in hidroksilnega radikala ter pri redukciji tokoferolnega radikala (regenerira vitamin E nazaj v aktivno obliko) in s tem prepreči lipidno peroksidacijo (Ji, 1995).

#### 2.3.3.3 Celokupna antioksidativna kapaciteta

Celokupna antioksidativna kapaciteta (TAC) predstavlja celokupno ravnotežje med oksidanti in antioksidanti, saj zajema skupno delovanje vseh antioksidantov v organizmu, kot so glutation, albumin, vitamin C, bilirubin, sečna kislina, vitamin E, β-karoten, koencim Q<sub>10</sub> idr., in ne samo antioksidativnih encimov, ki so pretežno znotraj celic. Skupno delovanje različnih antioksidantov predstavlja boljšo zaščito pred reaktivnimi spojinami, kot posamezno (npr. glutation regenerira vitamin C, vitamin C regenerira vitamin E). Celokupna antioksidativna kapaciteta je lahko boljši meritveni parameter za oceno fiziološkega stanja in oksidativnega stresa, saj je posamezni antioksidant težko izmeriti (Prior in Cao, 1999; Ghiselli in sod., 2000; Jozanov-Stankov in sod., 2009). Nekatere raziskave kažejo, da koncentracija/aktivnost posameznega antioksidanta korelira s celokupno antioksidativno kapaciteto (Tomsič in sod., 2009; Kedzierski in sod., 2009; Bohar Topolovec in sod., 2013).

Znanih je več metod, s katerimi se določa celokupna antioksidativna kapaciteta. Železo reducirajoči antioksidativni potencial ali FRAP (*angl. Ferric Reducing Antioxidant Potential*) meri sposobnost antioksidantov, ki lahko reducirajo  $\text{Fe}^{3+}$  v  $\text{Fe}^{2+}$ . Skupna kapaciteta antioksidativnih lovilcev radikalov ali TRAP (*angl. Total Radical-trapping Antioxidant Parameters*) meri sposobnost antioksidantov, ki odstranijo peroksilni radikal. Kapaciteta absorbance kisikovega radikala ali ORAC (*angl. Oxygen Radical Absorbance Capacity*) meri sposobnost antioksidantov podobno kot pri TRAP, le da je tu podatek o deležu in trajanju inhibicije delovanja prostih radikalov. Troloksu ekvivalentna antioksidativna kapaciteta ali TEAC (*angl. Trolox equivalent antioxidant capacity*) meri sposobnost antioksidantov, ki inhibirajo kopičenje nastalega ABTS-radikala (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)). Pomanjkljivost teh metod je, da nobena izmed njih ne zajame vedno vseh razpoložljivih antioksidantov, zaradi česar različne metode ne dajejo primerljivih rezultatov (Prior in Cao, 1999; Serafini in Del Rio, 2004).

### 2.3.4 Antioksidativni sistem

Antioksidativni sistem je neke vrste organizmu lasten obrambni sistem, ki določa kje, kdaj in koliko antioksidantov je potrebnih za preprečitev oksidativnega stresa (Ji in Leichtweis, 1997; Halliwell in Gutteridge, 2007).

Če poznamo antioksidativni status organizma, torej potrebe organizma po antioksidantih, lahko zagotovimo primeren vnos le-teh, najpogosteje z dodatki k prehrani (vnos več različnih antioksidantov hkrati lahko omogoča sinergistično delovanje in s tem večjo učinkovitost) (Cheng in sod., 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Sinatra in sod., 2014). Ravnotežje v povezavi s številnimi biološkimi reakcijami med reaktivnimi spojinami in antioksidanti določa, ali bodo učinki za organizem pozitivni ali negativni (Halliwell in Gutteridge, 2007).

## 2.4 OKSIDATIVNI STRES

Pri normalnih pogojih organizem endogeno tvori ROS v nižjih koncentracijah, v primeru nenormalnih stanj (npr. bolezni, stres, intenzivna fizična aktivnost idr.) je njihova produkcija povečana in lahko nenadzorovano poteka na mestu poškodbe ali obolenja. Tudi eksogeni dejavniki lahko povečajo njihov nastanek. Če je organizem dalj časa izpostavljen oksidantom ali/in, če pride do zmanjšane antioksidativne sposobnosti organizma – torej, če se poruši ravnotežje med prooksidanti in antioksidativnimi procesi – nastopi stanje oksidativnega stresa

(Manček in Pečar, 2001; Deaton in Marlin, 2003; Valko in sod., 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007; Powers in Jackson, 2008; Powers in sod., 2011; Rao in sod., 2011, Osredkar, 2012; El-Bahr, 2013).

V vsakem organizmu obstaja ravnotežje med antioksidanti in reaktivnimi spojinami pri normalnih fizioloških pogojih v mirovanju in pri lahki fizični aktivnosti (Ji in Leichtweis, 1997; Górecka in sod., 1999; Górecka in sod., 2002; Halliwell in Gutteridge, 2007). To ravnotežje je dinamično in v večini primerov pomaknjeno v smer oksidacije, saj je ta potrebna za pridobivanje energije (ATP). Organizmi so zato razvili različne kontrolne mehanizme, ki neprestano vzdržujejo in nadzorujejo vzpostavljeno ravnotežje. Že rahla sprememba v prid oksidaciji (npr. pri intenzivnejši fizični aktivnosti) povzroči sprožitev mehanizmov za proizvodnjo endogenih antioksidantov. Takšno nesorazmerje lahko povzroči povečano nastajanje reaktivnih spojin ali zmanjšano funkcionalnost antioksidativnega sistema zaradi premajhnega vnosa ali endogenega nastajanja antioksidantov ter povečane potrebe po njih (Ji in Leichtweis, 1997; Deaton in Marlin, 2003; Halliwell in Gutteridge, 2007; Kirschvink in sod., 2008; Powers in Jackson, 2008).

Za oceno oksidativnega stresa le redko dokazujemo prisotnost reaktivnih spojin neposredno, saj so te spojine visoko reaktivne in zelo kratkožive, poleg tega so metode za njihovo detekcijo drage in težko dostopne za vsakdanjo rutino (npr. ESR – elektronska spinska resonanca) (Ji, 1995; Banerjee in sod., 2003; Halliwell in Gutteridge, 2007; Sachdev in Davies, 2008; Osredkar, 2012). Za dokaz njihove prisotnosti se raje uporablja vmesne ali končne biološke označevalce, ki se jih lahko meri v vzorcih krvi, urina, sline in blata (Górecka in sod. 1999; Górecka in sod., 2002; Banerjee in sod., 2003; De Moffarts in sod., 2006; Young in sod., 2006; Sachdev in Davies, 2008; Powers in sod., 2011). Najpogosteje so to različni proteini in encimi (npr. SOD, GSH-Px, katalaza idr.), funkcionalne skupine (npr. karbonilne skupine), antioksidanti (npr. celokupna antioksidativna kapaciteta, vitamin E idr.) in njihova razmerja (npr. glutation/glutation disulfid), produkti lipidne peroksidacije (npr. malondialdehid, pentan, lipidni hidroperoksidi, izoprostani, konjugirani dieni) idr. Pri tem se dokazuje njihova prisotnost ali spremembe njihovih koncentracij oz. aktivnosti (Chiaradia in sod., 1998; Hargreaves in sod., 2002; Banerjee in sod., 2003; Powers in sod., 2011). V pomoč pri oceni oksidativnega stresa, npr. povzročenega s strani intenzivnejše fizične aktivnosti, so lahko tudi drugi viri reaktivnih spojin, npr. slina, kri (krvne celice, serum, plazma) in

fiziološki parametri (telesna temperatura, frekvenca srčnega utripa in frekvenca dihanja) (Banerjee in sod., 2003; Powers in sod., 2011).

#### **2.4.1 Posledice oksidativnega stresa**

V primeru oksidativnega stresa manjšega obsega (npr. lažja fizična aktivnost) se celice same obranijo posledic učinkov ROS bodisi z razpoložljivimi antioksidanti bodisi z njihovim povečanim nastajanjem in regeneracijo. Pri oksidativnem stresu večjega obsega (npr. intenzivnejša fizična aktivnost, bolezni idr.) pride do oksidativnih poškodb, ki vodijo do modifikacije nukleinskih kislin, genov, proteinov, okvare celičnih receptorjev, inaktivacije encimov ter poškodb celičnih membran, katerih posledica so motnje v presnovi celice, poškodbe nukleinskih kislin, peroksidacija lipidov, poškodbe membranskih transportnih sistemov, vdor kalcijevih ionov v celico idr. Vse to vodi do povečane delitve celic, celične poškodbe, prilagoditve na poškodbe, bolezni, staranja in celične smrti (Halliwell in Chirico, 1993; Martinez-Cayuela, 1995; Manček in Pečar, 2001; Niedernhofer in sod., 2003; Valko in sod., 2006; Halliwell in Gutteridge, 2007; Pala in Gürkan, 2008; Powers in Jackson, 2008; Rao in sod., 2011; Osredkar, 2012; El-Bahr, 2013).

Posledice dolgotrajnega delovanja endogenih in eksogenih dejavnikov povzročijo spremembe v organizmu, ki se pri konjih lahko kažejo kot ponavljajoča se obstrukcija dihal, ishemično-reperfuzijska poškodba prebavil, bolezni motoričnih nevronov in pomanjkanje kondicije, osteoartritis, disfunkcija prednjega režnja hipofize idr. (De la Rua-Domenech, 1997; Art in sod., 1999; Deaton in sod., 2004; Rahman in sod., 2006; Lykkesfeldt in Svensen, 2007; Soffler, 2007; Kirschvink in sod., 2008).

##### **2.4.1.1 Lipidna peroksidacija in malondialdehid**

Najpogostejša in najkasneje nastala škoda zaradi delovanja ROS, predvsem kisikovih radikalov, je oksidacija oz. razgradnja lipidov, ki so zelo raznolika skupina bioloških molekul. Lipidi so sestavni deli celičnih membran, pigmenti, kofaktorji encimov, hormoni, prekursorji hormonov, signalne molekule, prenašalci elektronov, poleg tega sodelujejo pri različnih bioloških funkcijah. Oksidativni razgradnji večkrat nenasičenih maščobnih kislin, ki so sestavni del celičnih membran in organelov, pravimo peroksidacija maščobnih kislin oz. lipidna peroksidacija, pri čemer nastanejo lipidni peroksidi, ki poškodujejo večino celic v organizmu (Halliwell in Chirico, 1993; Marnett, 1999; Manček in Pečar, 2001; Valko in sod.,

2006; Halliwell in Gutteridge, 2007). Proces lipidne peroksidacije pripelje do sprememb nekovalentnih vezi v membranskem dvosloju, kar vodi v spremembo prepustnosti celičnih membran. Zaradi povečane prepustnosti za snovi, ki jih normalno ne prepuščajo, in zmanjšane fluidnosti pride do poškodbe membranskih proteinov, inaktiviranja encimov in ionskih kanalov. Zaradi poškodovane celične membrane lahko celica tudi propade (Halliwell in Chirico, 1993; Cejas in sod., 2004; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012). Manj dovzetne za radikale so enkrat nenasičene in nasičene maščobne kisline (Halliwell in Chirico, 1993).

Lipidna peroksidacija lahko poleg lipidov prizadene še proteine, ogljikove hidrate in nukleinske kisline neposredno ali posredno (Halliwell in Chirico, 1993; Marnett, 1999; Del Rio in sod., 2005). S poružitvijo naravne organizacije membrane se spremeni okolje membranskih proteinov in s tem njihova funkcija; pride do porušanja njihove strukture, modifikacije posameznih aminokislin, navzkrižnega povezovanja proteinov idr. (Manček in Pečar, 2001; Niedenhofer in sod., 2003). Zaradi tega so še posebej ranljivi mitohondriji in mikrosomi, saj njihove membrane vsebujejo več večkrat nenasičenih maščobnih kislin in manj holesterola kot klasične celične membrane (Halliwell in Chirico, 1993; Halliwell in Gutteridge, 2007). Večinoma so nastali radikali posledica lipidne peroksidacije, lahko so tudi vzrok za lipidno peroksidacijo (Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007).

Proces lipidne peroksidacije razdelimo na tri faze: sprožitev ali iniciacijo, širjenje ali propagacijo in zaustavitev ali terminacijo. Radikali, kot je npr. hidroksilni radikal, in neradikali, kot je npr. singletni kisik, ter številne druge reaktivne spojine lahko sprožijo lipidno peroksidacijo z dodajanjem ali z odstranitvijo vodika z metilenske (-CH<sub>2</sub>) skupine večkrat nenasičenih maščobnih kislin. Pri tem nastane ogljikov radikal (-•CH-), ki reagira z O<sub>2</sub>, pri čemer nastane peroksilni radikal (širjenje). Ta je zelo reaktiven in lahko odcepi vodik iz sosednje večkrat nenasičene maščobne kisline. To privede do premestitve radikala, ciklizacije in nastanka endoperoksida, ki nato reagira s superoksidnim radikalom in ustvari novi peroksilni radikal (veržna reakcija). Zaustavitev lipidne peroksidacije nastopi, ko se porabi ves substrat ali ko antioksidanti odstranijo vse radikale. Le redko pride do reakcije med dvema radikaloma, mnogo pogostejše gre za reakcijo z antioksidantom, ki zadrži lipidno peroksidacijo ali jo prepreči (Halliwell in Chirico, 1993; Marnett, 1999; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Sachdev in Davies, 2008).

Lipidna peroksidacija je do neke mere zaželena, in sicer pri fagocitozi, diferenciaciji in dozorevanju celic, prenosu znotrajceličnih veziklov in predstavitvi antigenov (Cejas in sod., 2004), pri vseh ostalih primerih je škodljiva in povzroča poškodbe (Halliwell in Gutteridge, 2007).

Končni produkti lipidne peroksidacije so različni aldehidi: npr. malondialdehid, ketoni, epoksidi, nižje maščobne kisline idr. ter različni krajši ogljikovodiki: npr. etan, etilen, pentan idr. Z njimi lahko ocenimo obseg in posledice lipidne peroksidacije (Halliwell in Chirico, 1993; Marnett, 1999; Niedernhofer in sod., 2003; Urso in Clarkson, 2003; Del Rio in sod., 2005; Halliwell in Gutteridge, 2007; Sachdev in Davies, 2008; El-Bahr, 2013).

Malondialdehid (MDA) (1,3-propandion) je eden izmed končnih produktov, ki nastanejo pri lipidni peroksidaciji večkrat nenasičenih maščobnih kislin (arahidonska, linolenska in dokozaheksanojska kislina) in eden najpomembnejših ter najpogostejše uporabljenih pokazateljev obsega lipidne peroksidacije in s tem oksidativnega stresa. V nasprotju z radikali ima malondialdehid dolgo življenjsko dobo in se zato lahko razširja z mesta nastanka (npr. membrane) na oddaljena področja, kjer napade cilje znotraj- in zunajcelično. Malondialdehid lahko reagira z lipidi in proteini (inaktivira nekatere encime) ter bazami v verigi DNA (predvsem z gvaninom) ter ustvari prečne povezave med DNA in proteini, kar lahko vodi v citotoksičnost, mutagenost in karcinogenost (Esterbauer in sod., 1991<sup>b</sup>; Marnett, 1999; Del Rio in sod., 2005; Halliwell in Gutteridge, 2007; El-Bahr, 2013). Zaradi tega je v organizmu nezaželen. Nastaja tudi pri metabolizmu prostaglandinov in je v nižjih koncentracijah stalno prisoten v tkivih, krvi in urinu (Halliwell in Chirico, 1993). V celicah se malondialdehid razmeroma hitro presnavlja do acetata s pomočjo encima aldehyd dehidrogenaze (Halliwell in Gutteridge, 2007).

## 2.5 FIZIČNA AKTIVNOST

Za izvajanje zmerne, dolgotrajne fizične aktivnosti ljudje in živali (konji: hod in počasen ali kratki kas) pridobivajo energijo (ATP) z aerobnim metabolizmom (oksidativna fosforilacija adenožinfosfata (ADP) v ATP – poteka v mitohondrijih in s prenosom fosfatne skupine iz kreatin fosfata na ADP – poteka zunaj mitohondrijev). Glavni vir energije v mišicah predstavljajo: majhna zaloga ATP, rezervni vir kreatin fosfat (skupaj zadoščata za maksimalno kontrakcijo mišičnega vlakna za 8–10 sekund) in večja zaloga glikogena. Del energije metabolizma se porabi za mišično kontrakcijo, del se pretvori v toploto (temperatura

v skeletnih mišicah lahko naraste tudi za 4,5 °C). Zaradi porabe ATP med fizično aktivnostjo se mora zaloga neprestano obnavljati, saj se pri kontrakciji lahko presnova poveča do 1000-krat v sekundi (Sjaastad in sod., 2010). Po porabi zalog ATP so mišice odvisne od hranil (glukoza, maščobne kisline) in O<sub>2</sub> v krvi. Z večjo in kratkotrajnejšo intenzivnostjo fizične aktivnosti (konji: hitri ali okrepljen kas in galop) se energija pridobiva tudi z anaerobnim metabolizmom (glikoliza), pri čemer je energijski izkoristek manjši. Glavni vir hranil za pridobivanje energije pri tem metabolizmu predstavljajo glikogen in maščobne kisline. Pri nenadni, hitri in intenzivni mišični aktivnosti nastane mlečna kislina, ki se prenese v jetra in pretvori v glukozo ter shrani kot zaloga glikogena (Ji in Leichtweis, 1997; Gerard in Hodgson, 2001; Pösö in sod., 2004; Art in Lekeux, 2005; Hyypä, 2005; Sjaastad in sod., 2010).

Fizična aktivnost povzroči povečanje bazalnega metabolizma in s tem vpliva na vse fiziološke procese v organizmu: na dihalni, mišično-skeletni, živčno-hormonalni in krvožilni sistem, ki morajo delovati usklajeno (Hyypä, 2005; McGowan in Hodgson, 2014). Dihalni sistem dovaja O<sub>2</sub> v kri in odnaša CO<sub>2</sub> iz telesa. Frekvenca dihanja se poveča in s tem poveča vnos O<sub>2</sub> (pri človeku lahko do 24-krat, pri konju do 40-krat) (Sjaastad in sod., 2010), kar vodi v povečano nastajanje ROS (4–5 % vdihanega O<sub>2</sub> se pretvori v ROS) (Lafortuna in Saibene, 1991; Clarkson in Thompson, 2000; Dröge, 2002; Deaton in Marlin, 2003; Art in Lekeux, 2005; Halliwell in Gutteridge, 2007). Mišično-skeletni sistem je odgovoren za mehanske procese gibanja (aktivnost mišic: krčenje in sproščanje mišičnih vlaken) in daje telesu oporo ter obliko. Skeletne mišice konj vsebujejo velik delež mitohondrijev in zaloge glikogena. Pri fizični aktivnosti je povečan prevzem O<sub>2</sub> v mišičnih celicah (intenzivni mišični metabolizem) in s tem izpostavljenost večjemu nastajanju ROS (Górecka in sod., 1999; Powers in Jackson, 2008; Powers in sod., 2011). Posledica so poškodbe mišičnih celic in povišana koncentracija malondialdehida v krvi oz. pentana v izdihanem zraku (Dröge, 2002). Vse skupaj uravnava živčno-hormonalni sistem (simpatično in parasimpatično živčevje) s kateholamini (adrenalin, noradrenalin) ter adenokortikotropnim hormonom (ACTH), ki se sprosti iz prednjega režnja hipofize in na katerega izločanje vpliva hormon kortikotropin iz hipotalamusa (Rietmann in sod., 2004; Ayala in sod., 2012; Lewinski in sod., 2013). Adenokortikotropni hormon spodbudi nadledvično žlezo k pospešenemu izločanju glukokortikoidov, predvsem kortizola in kortizona (Schmidt in sod., 2010). Ob aktivnosti mišic se poveča delovanje simpatičnega živčevja (preko živčnega prenašalca adrenalina, ki pozitivno vpliva na kontrakcijo mišičnih

vlaknen) in zmanjša delovanje parasimpatičnega živčevja (Sjaastad in sod., 2010). Za energetske procese v mišicah je potreben tudi krvožilni sistem, ki dovaja vse potrebne sestavine (O<sub>2</sub>, produkte metabolizma, encime idr.) in odnaša neuporabne produkte (CO<sub>2</sub>, razgradne produkte idr.). Frekvenca srčnega utripa se pri fizični aktivnosti poveča, kar vpliva na povečanje minutnega volumna srca. Kateholamini povzročijo, da se vranica skrči, sprosti v krvni obtok večje število eritrocitov (do 50 % več) in s tem poveča transport O<sub>2</sub> po krvi do tkiv in organov (Pösö in sod., 2004; Art in Lekeux, 2005). Hipoksija (nezadostna preskrba tkiv z O<sub>2</sub>) (Askew, 2002; Sjaastad in sod., 2010) in številni hormoni (atrijski natriuretični peptid, arginin vazopresin in hormoni renin-angiotenzinskega sistema) povzročijo vazodilatacijo v mišičnih celicah (večji dostop O<sub>2</sub>), hkrati nastopi vazokonstrikcija in zmanjšanje krvnega pretoka v drugih tkivih (Ji in Leichtweis, 1997; Patwell in sod., 2004; Pösö in sod., 2004; Art in Lekeux, 2005; Hyypä, 2005; Muñoz in sod., 2011; Piccione in sod., 2013).

Fiziološki procesi pri konjih med fizično aktivnostjo in po njej vplivajo na spremembe fizioloških (frekvenca srčnega utripa, frekvenca dihanja, telesna temperatura) in krvnih parametrov (hematološki, biokemijski, antioksidativni idr.), kar kažejo številne raziskave (Ji, 1995; Crane in Navas, 1997; Ji in Leichtweis, 1997; Niki, 1997; Balogh in sod., 2001; Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; Marlin in sod., 2002; Banerjee in sod., 2003; Kingston, 2004; De Moffarts in sod., 2005; Sachdev in Davies, 2008; Bogdanis in sod., 2013; Azizbegi in sod., 2014; McGowan in Hodgson, 2014).

Do sprememb koncentracij/aktivnosti različnih parametrov lahko pride že med fizično aktivnostjo ali takoj po njej, lahko pa šele čez čas (tudi 16–48 ur kasneje) (Marlin in sod., 2002; De Moffarts in sod., 2006; Kirschvink in sod., 2008; McGowan in Hodgson, 2014).

V primeru intenzivnejše fizične aktivnosti le-ta povzroči stres. Učinki stresa se odražajo preko osrednjega živčevja z aktivacijo simpatičnega živčnega sistema ter vplivom na hipotalamus, povečanim izločanjem sproščevalnega hormona kortikotropina (CRH) ter posledično tudi kortizola (Hyypä, 2005). Posledica so večje spremembe hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov ter pokazateljev lipidne peroksidacije (malondialdehid idr.) (Chiardia in sod., 1998; Marlin in sod., 2002; Viitala in sod., 2004; Gago-Dominguez in sod., 2007; Halliwell in Gutteridge, 2007; Jagrič Munih in sod., 2012). Intenzivnejša fizična aktivnost je eden izmed stresorjev, ki pri konjih (poleg spremembe okolja, transporta, strahu

pred ovirami, stika z ljudmi, poškodb, različnih bolezni idr.) povzročajo stresno situacijo (Ji, 1995; Stewart in sod., 2003; Muir, 2004; Pösö in sod., 2004; Art in Lekeux, 2005; Harewood in McGowan, 2005; McGreevey in McLean, 2009; Borstel in sod., 2010; Schmidt in sod., 2010; Kruljc in Nemec Svete, 2011; Nemec Svete in sod., 2012; Tateo in sod., 2012; Werhahn in sod., 2012; Erber in sod., 2013; McGowan in Hodgson, 2014). S stresom, ki je odziv organizma na ekstremne razmere, se konji branijo pred različnimi stresorji in na ta način vzdržujejo homeostazo ter se skušajo prilagoditi. Stopnja stresa pri fizični aktivnosti je odvisna od intenzivnosti, pogostosti in trajanja (Ji, 1995; Muir, 2004; Art in Lekeux, 2005; Tateo in sod., 2012; McGowan in Hodgson, 2014).

## **2.5.1 Fizična aktivnost in fiziološki parametri**

### **2.5.1.1 Frekvenca srčnega utripa**

Frekvenca srčnega utripa (FS) je pokazatelj delovanja srčno-žilnega sistema in se uporablja tudi za oceno fizične kondicije. Pri intenzivnejši fizični aktivnosti se potrebe po O<sub>2</sub> in energijsko bogatih snoveh povečajo, zato se povišata frekvenca srčnega utripa (pod vplivom simpatičnega živčevja) in udarni volumen srca, posledično pa tudi minutni volumen srca (produkt frekvence srčnega utripa in udarnega oz. iztisnega volumna) (Pösö in sod., 2004; Sjaastad in sod., 2010; Muñoz in sod., 2011; Lewinski in sod., 2013; Piccione in sod., 2013). Organizem se trudi čim prej prilagoditi novim zahtevam in vzpostaviti ravnotežno stanje, zato srce lahko prečrpa večje količine krvi in s tem poveča pretok krvi po telesu (Pösö in sod., 2004). Po prenehanju obremenitve se frekvenca srčnega utripa postopoma znižuje zaradi zmanjšane aktivnosti simpatičnega in povečane aktivnosti parasimpatičnega živčevja ter doseže vrednosti pred fizično aktivnostjo, vendar kasneje pri rekreativnih konjih kot pri športnih (Pösö in sod., 2004).

### **2.5.1.2 Frekvenca dihanja**

Frekvenca dihanja (FD) se med intenzivnejšo fizično aktivnostjo poviša zaradi povečanih potreb po O<sub>2</sub> in energiji ob povečanem mišičnem delu; s tem se poveča izmenjava dihalnih plinov (vnos O<sub>2</sub> v telo in iznos CO<sub>2</sub> iz telesa). Posledično se poviša tudi koncentracija reaktivnih spojin (do 5 % vdihanega O<sub>2</sub> se pretvori v ROS) (Ji in Leichtweis, 1997; Pösö in sod., 2004; Art in Lekeux, 2005; El-Bahr, 2013). Po končani intenzivnejši fizični aktivnosti se izmenjava plinov postopoma zmanjšuje (do ravni mirovanja), vendar sta nekaj minut še

povišani frekvenca srčnega utripa in frekvenca dihanja ter s tem vnos O<sub>2</sub>, ki se porablja skupaj s hranili za obnovitev zaloga ATP v mišicah (Sjaastad in sod., 2010).

#### 2.5.1.3 Telesna temperatura, temperatura zraka in relativna vlažnost

Temperatura zraka (TZ) in relativna vlažnost (RV) vplivata na frekvenco srčnega utripa, frekvenco dihanja in telesno temperaturo (TT) pri konjih v mirovanju (bazalni metabolizem) in pri različnih fizičnih aktivnostih (povečan metabolizem). Telesna temperatura, ki je odraz notranje produkcije toplote (metabolni procesi skeletnih mišic, srca, ledvic, jeter idr.) in sprejemanja toplote iz okolice, se lahko pri vzburjenju, npr. zaradi intenzivnejše fizične aktivnosti ali kakšnega drugega stresa, poviša do 42 °C (Green in sod., 2005; Ott, 2005; Piccione in sod., 2011<sup>a</sup>; Piccione in sod., 2011<sup>b</sup>; Ramey in sod., 2011). Konji imajo dobro razvito sposobnost termoregulacije (Morgan, 1998) in z znojenjem vzdržujejo normalno telesno temperaturo med fizično aktivnostjo in po njej (izguba H<sub>2</sub>O in elektrolitov) (Morgan, 1997<sup>a</sup>; Morgan, 1997<sup>b</sup>; Morgan in sod., 1997; Rammerstorfer in sod., 2001; Williams in sod., 2002; Pösö in sod., 2004; Ott, 2005; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014).

### 2.5.2 Fizična aktivnost in hematološki parametri

Kri, sestavljena iz krvnih celic (eritrocitov, levkocitov, trombocitov) in plazme (vsebuje H<sub>2</sub>O, elektrolite, plazemske proteine, hormone, encime), ima pomembno vlogo pri povečanem metabolizmu med fizično aktivnostjo in po njej ter sodeluje pri prenosu O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, elektrolitov, hranil in hormonov do mišičnih celic ter odnaša CO<sub>2</sub> in ostale odpadne snovi (Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; Kingston, 2004; Young in sod., 2006). Fizična aktivnost in način odvzemanja vzorcev krvi (priporočeno znotraj 30 sekund po pristopu h konju), ki za konja lahko predstavljata stres, neposredno vplivata na vrednosti hematoloških parametrov (Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; Kingston, 2004; Young in sod., 2006; Piccione in sod., 2008; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih in sod., 2012; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014; McGowan in Hodgson, 2014; Padalino in sod., 2014).

#### 2.5.2.1 Eritrociti, hemoglobin in hematokrit

Eritrociti (Erci) so brezjedrne in najštevilčnejše celice, ki krožijo po krvnem obtoku, prenašajo hemoglobin (Hb) (predstavlja približno 95 % vseh proteinov, ostalo so encimi) in s tem O<sub>2</sub> do tkiv ter CO<sub>2</sub> do pljuč (Young in sod., 2006; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014). Pri različnih fizičnih aktivnostih se vranica (pod vplivom simpatičnega živčevja) dodatno krči

in sprošča večje število eritrocitov v krvni obtok; s tem se poveča izmenjava plinov in oksigenacija tkiv. Številne raziskave kažejo, da so posledica različnih fizičnih aktivnosti v krvnem obtoku povišana številčna koncentracija eritrocitov, koncentracija hemoglobina in delež hematokrita (Ht) (Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; Kingston, 2004; Piccione in sod., 2008; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih in sod., 2012; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014; McGowan in Hodgson, 2014; Padalino in sod., 2014).

#### 2.5.2.2 Levkociti in razmerje nevtrofilci/limfociti

Levkociti (Lkci) (nevtrofilci, eozinofilci, bazofilci, monociti, limfociti in plazmatke – spremenjeni limfociti) so glavne obrambne celice v organizmu (Young in sod., 2006; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014). Stres (kateholamini, kortizol), ki je posledica intenzivnejše fizične aktivnosti, povzroči povišanje celokupne številčne koncentracije levkocitov (levkocitoza) v krvnem obtoku. Razmerje posameznih celic se spreminja glede na intenzivnost, pogostost in čas trajanja fizične aktivnosti, medtem ko celokupno število levkocitov lahko ostane nespremenjeno. Številne raziskave kažejo, da lahko takoj po intenzivnejši in kratkotrajni fizični aktivnosti (npr. galop) pride do razlik v razmerju med nevtrofilci in limfociti (Nevt/Limf) (številčna koncentracija limfocitov se poviša (limfocitoza); razmerje nevtrofilci/limfociti se zmanjša). Čez nekaj časa, npr. 3 ure po končani fizični aktivnosti, se poviša številčna koncentracija nevtrofilcev (nevtrofilija) in poveča razmerje nevtrofilci/limfociti, 6 ur po končani fizični aktivnosti naj bi se razmerje povrnilo v prvotno stanje. Kadar je fizična aktivnost dolgotrajnejša, se poviša celokupna številčna koncentracija levkocitov (poviša se številčna koncentracija nevtrofilcev, zniža številčna koncentracija limfocitov) (Ji in Leichtweis, 1997; Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; Kingston, 2004; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014; McGowan in Hodgson, 2014).

#### 2.5.2.3 Trombociti

Trombociti (Trci) so majhne, brezbarvne, brezjedrne krvne ploščice s tanko, zelo krhko membrano, ki sodelujejo pri strjevanju krvi (Young in sod., 2006; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014). Številne raziskave kažejo, da se podobno kot na mestu poškodbe aktivirajo tudi med fizično aktivnostjo in po njej (Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; Kingston, 2004; Piccione in sod., 2008; Zobba in sod., 2011; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014; Padalino in sod., 2014).

## 2.5.3 Fizična aktivnost in biokemijski parametri

### 2.5.3.1 Encimi mišičnih celic: alanin-aminotransferaza, aspartat-aminotransferaza, kreatin-kinaza in laktat-dehidrogenaza

Alanin-aminotransferaza (ALT) (EC 2.6.1.2) (L-alanin-2-oksogutarat-aminotransferaza) se nahaja v citoplazmi vseh organov razen v kosteh in zobeh (pri konjih pretežno v jetrih in skeletnih mišicah, vendar z nizko aktivnostjo). Že pri manjših poškodbah tkiva (npr. posledica intenzivnejše fizične aktivnosti) se sprošča v krvni obtok (Štraus, 1992; Kingston, 2004; Nemec Svete in Frangež, 2013).

Aspartat-aminotransferaza (AST) (EC 2.6.1.1.) (L-aspartat-2-oksoglutarat-aminotransferaza) se nahaja v jetrih, srčni mišici, skeletnih mišicah, pljučih, krvi idr., in sicer v dveh izoencimskih oblikah, citoplazemski (40 %) in mitohondrijski (60 %) (Štraus, 1992; Kingston, 2004; Nemec Svete in Frangež, 2013). Številne raziskave kažejo, da se pri različnih fizičnih aktivnostih poveča aktivnost AST v serumu in, da pri poškodbi mišic pozitivno korelirajo s CK (Siciliano in sod., 1995; Hargreaves in sod., 2002; Marlin in sod., 2002; McGowan in Hodgson, 2014).

Kreatin-kinaza (CK) (EC 2.7.3.2) (ATP: kreatin-fosfotransferaza) se nahaja pretežno v citoplazmi skeletnih mišic, srčni mišici in možganih, manj v jetrih, pljučih, ledvicah, krvi (tudi v eritorciti) idr., in sicer v treh izoencimskih oblikah (MM-skeletne mišice, MB-srčna mišica in BB-možgani). Je dimer, sestavljen iz enakih ali različnih podenot: M (izhaja iz *angl. muscle*, mišica) in B (izhaja iz *angl. brain*, možgani). Je najpomembnejši mišični encim. Številne raziskave kažejo, da se pri intenzivnejši fizični aktivnosti, kjer pride do poškodb pretežno skeletnih mišičnih celic, hitro sprosti v krvni obtok (izomere MM in redko MB), zato je pomemben pokazatelj obsega tovrstnih poškodb (Siciliano in sod., 1995; Chiaradia in sod., 1998; Frankiewicz-Józko in Szarska, 2000; Marlin in sod., 2002; Al-Qudah in Al-Majali, 2006; Mendes Soares in sod., 2011; McGowan in Hodgson, 2014). Skupaj z laktatom in AST so dober pokazatelj stopnje treniranosti konj (Štraus, 1992; Kingston, 2004; Nemec Svete in Frangež, 2013; McGowan in Hodgson, 2014).

Laktat-dehidrogenaza (LDH) (EC 1.1.1.27) (L-laktat:NAD-oksidoreduktaza) se nahaja v jetrih, skeletnih mišicah, srčni mišici, pljučih, krvi idr., v petih izoencimskih oblikah (Kingston, 2004). Je tetramer, sestavljen iz kombinacij podenot M in H. Podenota M sodeluje

pretežno v anaerobnih (skeletalne mišice), podenota H v aerobnih reakcijah (srčna mišica) (Štraus, 1992). Povišanje aktivnosti LDH v serumu kaže na poškodbe mišičnih celic, nastalih predvsem po intenzivnejši fizični aktivnosti, kar kažejo številne raziskave (Chiaradia in sod., 1998; Mendes Soares in sod., 2011; McGowan in Hodgson, 2014).

#### 2.5.3.2 Encima jetrnih celic: alkalna fosfataza in gama-glutamyltransferaza

Alkalna fosfataza (ALKP) (EC 3.1.3.1) (ortofofosfat-monoester-fosfohidrolaza) se nahaja v različnih oblikah (izoencimi in druge izooblike, nastale po translacijskih modifikacijah) v kosteh, jetrih, ledvicah, pljučih, vranici, krvi (tudi v levkocitih) idr., kjer uravnavajo nivo anorganskega fosfata in so vrstno specifične (Štraus, 1992; Kingston, 2004; Nemec Svete in Frangež, 2013). Po fizični aktivnosti imajo povišane aktivnosti ALKP smiselno razlago skupaj z AST in ALT, in sicer kot posledica povečanega metabolizma (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013; McGowan in Hodgson, 2014).

Gama-glutamyltransferaza (GGT) (EC 2.3.2.2) ( $\gamma$ -glutamylpeptid: aminoacyl-glutamyltransferaza) je specifičen encim v jetrih in biliarnem traktu, kjer je membransko vezan in prenaša aminokisline skozi celične membrane ter posredno sodeluje pri sintezi proteinov (Štraus, 1992; Kingston, 2004; Nemec Svete in Frangež, 2013; McGowan in Hodgson, 2014).

#### 2.5.3.3 Laktat in glukoza

Laktat (LAC) ( $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$ ) nastaja v skeletnih mišicah, kot produkt anaerobnega metabolizma, s pomočjo LDH pri različnih fizičnih aktivnostih, v srčni mišici se oksidira v prisotnosti O<sub>2</sub> in je eden od substratov glukoneogeneze v jetrih. Eritrociti konjev vsebujejo kar 50 % laktata (Rainger in sod., 1995; Pösö in sod., 2004). Dosedanje raziskave kažejo, da se med intenzivnejšo fizično aktivnostjo, ki zahteva veliko energije, glukoza razgradi in oksidira v piruvat, iz piruvata se proizvaja laktat hitreje, kot ga tkiva lahko odstranijo, zato začne koncentracija laktata v krvni plazmi naraščati (Räsänen in sod., 1996; Pösö in sod., 2004; Mendes Soares in sod., 2011; Horonov in sod., 2012). Laktat nastaja neprekinjeno tudi med počitkom ter zmerno fizično aktivnostjo in to zaradi metabolizma v eritrocitih, ki nimajo mitohondrijev, ter omejitev, ki izhajajo iz encimske aktivnosti, do katere pride v mišičnih vlaknih, ki imajo visoko glikolitično zmogljivost (Štraus, 1992; Rainger in sod., 1995; McGowan in Hodgson, 2014).

Glukoza (GLU) je glavni ogljikov hidrat (monosaharid), ki ima energetske vlogo. Iz jeter prehaja nespremenjena v krvni obtok in od tam v vsa tkiva, kjer se presnavlja do CO<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O, pri čemer nastaja energija v obliki energetske bogate molekule ATP; lahko se uporablja za sintezo ketonskih teles idr. Po intenzivnejši fizični aktivnosti nastopi zaradi povečane porabe glukoze ter izrazitega potenja pri konjih hipoglikemija (koncentracija glukoze v serumu oz. plazmi se zniža) (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013; McGowan in Hodgson, 2014).

#### 2.5.3.4 Celokupni bilirubin

Celokupni bilirubin (T-Bil) (sestavljen iz indirektnega ali nekonjugiranega bilirubina, ki je netopen – vezan na albumin, in direktnega ali konjugiranega (D-Bil), ki je topen – vezan z glukuronsko kislino) je žolčno barvilo, ki nastane pri encimski razgradnji hemoglobina, ko razpadejo eritrociti pretežno v vranici, nekaj malega tudi v jetrih in kostnem mozgu. Koncentracija celokupnega bilirubina je v serumu odvisna pretežno od intenzivnosti razpada eritrocitov, zato je ta po intenzivnejši fizični aktivnosti višja (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013).

#### 2.5.3.5 Celokupni proteini in albumin

Proteine delimo glede na lokacijo na znotrajcelične (citoplazemski in mitohondrijski) in zunajcelične (proteini v krvni plazmi). Specifični so za posamezne organe in tkiva. Serumske proteine (TP) delimo na 5 frakcij (albumin in globulini  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  in  $\gamma$ ) (Štraus, 1992; Kingston, 2004; Abeni in sod., 2013; Nemec Svete in Frangež, 2013). Po intenzivnejši fizični aktivnosti in dehidraciji so pogosto zaradi izgube ali premajhnega vnosa H<sub>2</sub>O koncentracije vseh proteinskih frakcij povišane (hiperproteinemija) enakomerno (Štraus 1992; Kingston, 2004; Nemec Svete in Frangež, 2013).

Albumin (ALB) je najmanjši, najstabilnejši, najbolj hidrofilni protein v krvi in pri konjih predstavlja 35–50 % celokupnih serumskih proteinov (Kingston, 2004; Abeni in sod., 2013). Številne raziskave kažejo, da se takoj po intenzivnejši fizični aktivnosti koncentracija albumina v serumu zniža (hipoalbuminemija) (Scoppetta in sod., 2012), vendar se zaradi dehidracije kmalu poviša (hiperalbuminemija) (Štraus 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013; Tofé in sod., 2013).

#### 2.5.3.6 Elektroliti: natrij, kalij in kloridi

Natrijev ion ( $\text{Na}^+$ ) je pomemben za ohranjanje membranskega potenciala v mirovanju, nastanka akcijskega potenciala in sodeluje pri absorpciji glukoze, aminokislin, fosfatov, žolčnih kislin idr. kot element primarnega ali sekundarnega aktivnega transporta. Po intenzivnejši fizični aktivnosti se lahko zaradi dehidracije koncentracija natrijevega iona v serumu poviša (hipernatriemija) in se kmalu zaradi potenja tudi zniža (hiponatriemija) (Štraus, 1992; Coenen, 2005; Nemec Svete in Frangež, 2013; Tofé in sod., 2013; McGowan in Hodgson, 2014).

Kalijevega iona ( $\text{K}^+$ ) je največ v celicah jeter in mišic ter v eritrocitih (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013). Številne raziskave kažejo, da lahko pride do povišanih koncentracij kalijevega iona v serumu po intenzivnejši fizični aktivnosti, in sicer kot posledica njihovega prehoda iz skeletnih mišičnih celic (Coenen, 2005; Tofé in sod., 2013; McGowan in Hodgson, 2014).

Kloridni ioni (kloridi) ( $\text{Cl}^-$ ) so glavni anioni v zunajcelični tekočini (poleg bikarbonatnih) in se najpogosteje nahajajo v obliki soli skupaj z natrijevimi in kalijevimi ioni. (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013). Dosedanje raziskave kažejo, da se po intenzivnejši fizični aktivnosti koncentracija kloridnih ionov v serumu zaradi dehidracije poviša in se kmalu zniža zaradi znojenja. Izločijo se skupaj z natrijevimi ioni (Coenen, 2005; Tofé in sod., 2013; McGowan in Hodgson, 2014).

#### 2.5.3.7 Kalcij, anorganski fosfat in magnezij

Kalcijev ion ( $\text{Ca}^{2+}$ ) v organizmu sodeluje pri krčenju mišic, prevajanju živčnih impulzov, strjevanju krvi, aktivaciji številnih encimov idr. (Štraus, 1992; Berlin in Aroch, 2009; Nemec Svete in Frangež, 2013), zato se po intenzivnejši fizični aktivnosti njegova koncentracija v serumu zniža, kar kažejo številne raziskave (Buchholz-Bryant in sod., 2001; Pipkin in sod., 2001; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014; McGowan in Hodgson, 2014).

Anorganski fosfat (P) je prisoten v 75–80 % v kosteh in zobeh, preostalih 20–25 % ga je v mišičnem in živčnem tkivu, jetrih in ostalih organih (tudi krvi). Enakomerno je razporejen v plazmi in eritrocitih, od tega se ga 80 % nahaja v obliki hidrogenfosfatnega ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) in 20 % v obliki dihidrogenfosfatnega ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) aniona. (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013). Anorganski fosfat prehaja v celice (znižana koncentracija v serumu) pri pospešeni

presnovi, ki je lahko tudi posledica intenzivnejše fizične aktivnosti, kar kažejo številne raziskave (Buchholz-Bryant in sod., 2001; Pipkin in sod., 2001; McGowan in Hodgson, 2014).

Magnezij (Mg) se nahaja v kosteh (60 %), v celicah drugih tkiv (38 %) in 2 % v zunajcelični tekočini (Štraus, 1992; Berlin in Aroch, 2009; Nemec Svete in Frangež, 2013). Sodeluje pri krčenju mišic in uravnava prepustnost mitohondrijske membrane, zato se po intenzivnejši fizični aktivnosti njegova koncentracija v serumu zniža (Jose-Cunilleras in McKeever, 2014).

#### 2.5.3.8 Železo

Železo (Fe) je vezano v hemoglobin (65–70 %), v mioglobin (3–5 %) (pretežno v mišicah in krvi) in 20–30 % ga je uskladiščenega v retikulo-endotelijskem sistemu v jetrih, vranici, kostnem mozgu ter ledvicah. Po intenzivnejši fizični aktivnosti lahko v serumu konj ugotovimo hiposideremijo (znižana koncentracija železa), vendar ga telesu ne primanjkuje, saj gre le za njegovo prerazporeditev znotraj telesa, in sicer kot posledico večjih potreb po prenosu O<sub>2</sub> (Štraus, 1992; Mills in sod., 1996; Nemec Svete in Frangež, 2013).

#### 2.5.3.9 Sečnina, kreatinin in sečna kislina

Sečnina (UREA) (pokazatelj ledvične funkcije) nastaja v jetrih v ciklusu sečnine, z lahkoto prehaja preko celičnih membran in je enakomerno razporejena med tkivi in telesnimi tekočinami (Štraus, 1992). Po intenzivnejši fizični aktivnosti in dehidraciji se v ledvicah reabsorbira več sečnine, zato se koncentracija v serumu poviša (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013).

Kreatinin (CREA) (pokazatelj filtracijske funkcije ledvic) nastaja iz kreatina v ledvicah, jetrih in vranici. Ob pomanjkanju energije (ATP), npr. pri intenzivnejši fizični aktivnosti, nastaja spontano v mišičnih celicah s ciklizacijo iz fosfokreatina, ki predstavlja pomembno zalogo energijsko bogatih fosfatov (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013). Pri intenzivnejši fizični aktivnosti je njegovo izločanje povečano (Piccione in sod., 2009).

Sečna kislina (UA) (urati so soli sečne kisline) je močan reducent (donor elektronov) in antioksidant. Pri konjih doprinese sečna kislina del k celotni antioksidativni sposobnosti krvne plazme (Mills in sod., 1996; Räsänen in sod., 1996; Mendes Soares in sod., 2011).

#### 2.5.3.10 Holesterol, trigliceridi, lipoproteini nizke gostote in lipoproteini visoke gostote

Holesterol (CHOL) nastaja endogeno v jetrih, nekaj tudi v drugih tkivih. Glede na mesojede živali ga rastlinojedi konji redko neposredno vnesejo v telo z zaužito krmo, vnesejo pa večje količine njegovih prekurzorjev (vitamin E, koencim Q<sub>10</sub> idr.). Je netopen, zato se po krvi prenaša kot sestavni del lipoproteinov nizke gostote (LDL) (vsebujejo največ holesterola) in kot lipoproteini visoke gostote (HDL) (z manj holesterola). V jetrih se presnovi 80–90 % holesterola v žolčne kisline, ki so njegova glavna pot izločanja iz organizma (Štraus, 1992; Nemec Svete in Frangež, 2013).

Trigliceridi (TRIG) so pomemben vir energije in z njihovo pomočjo se absorbira npr. tudi vitamin E. Endogeno nastajajo v jetrih in maščobnih celicah. V krvi so v obliki lipoproteinov zelo nizke gostote in hilomikronov (vsebujejo največji delež trigliceridov) (Štraus, 1992, Nemec Svete in Frangež, 2013). Med intenzivnejšo fizično aktivnostjo se koncentracija trigliceridov v serumu poveča (Pösö in sod., 2004).

#### 2.5.4 Fizična aktivnost in oksidativni stres

Odgovor organizma na fizično aktivnost je odvisen od vrste fizične aktivnosti (rekreativna ali različne športne). Redna, dlje trajajoča fizična aktivnost ima ugodne učinke na zdravje, saj pomaga pri prilagoditvi organizma in zmanjšanju poškodb ter zdravstvenih težav, kljub stalnemu nastajanju reaktivnih spojin v nižjih koncentracijah. Fizična aktivnost povzroči spremembe v membranah mišičnih celic in poveča njihovo prepustnost (Hyypä, 2005). Posledično pride do manjših sprememb fizioloških, hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov, lahko tudi izven referenčnih vrednosti, kar je normalen fiziološki odziv (Kingston, 2004; Pösö in sod., 2004; McGowan in Hodgson, 2014). Naporna, enkratna oz. akutna fizična aktivnost lahko vodi do večjih sprememb fizioloških, hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov izven referenčnih vrednosti ter nastanka oksidativnega stresa, ki je posledica povečanega nastajanja reaktivnih spojin in/ali porabe antioksidantov v pljučih, skeletnih mišicah, srčni mišici, krvi ter drugih tkivih in vodi do poškodb celic, tkiv ter lahko tudi v patološka stanja. Rezultati številnih raziskav pri ljudeh in živalih (konji idr.) so mnogokrat pokazali nasprotujoče si antioksidativne odzive (še posebej pri GSH-Px) glede na različne oblike fizične aktivnosti (Ji, 1995; Ji in Leichtweis, 1997; Powers in Lennon, 1999; Balogh in sod., 2001; De Moffarts in sod. 2005; Muñoz-Escassi in sod., 2006; Powers in Jackson, 2008; Sachdev in Davies, 2008; Andriichuk in sod., 2014).

Razlike so očitne pri rekreativnih konjih, ki niso podvrženi redni, vsakodnevni fizični aktivnosti, medtem ko niso tako očitne pri redno treniranih konjih, ki so stalno izpostavljeni oksidativnemu stresu in imajo zato bolj razvit antioksidativni sistem ter adaptacijski mehanizem (povečano izražanje antioksidantov), ki zagotavlja zaščito celic pred oksidativnim stresom (Ji, 1995; Frankiewicz-Józko in Szarska, 2000; Viña in sod., 2000; Banerjee in sod., 2003; Pelicano in sod., 2004; De Moffarts in sod., 2005; Powers in Jackson, 2008; Sachdev in Davies, 2008; Powers in sod., 2011). Oksidativni stres kot posledica fizične aktivnosti povzroči spremembe mišičnih celic in posledično zmanjšano nastajanje ATP ter povečan vnetni odziv v mišičnem tkivu in krvi. Vse to vodi do bolečin v mišicah, utrujenosti in slabše izvedbe fizične aktivnosti (Barclay in Hansel, 1991; Powers in Lennon, 1999; Powers in Jackson, 2008; Castrogiovanni in Imbesi, 2012).

Pri različnih fizičnih aktivnostih (odvisno od intenzivnosti) so raziskave pokazale višjo aktivnost SOD v srcu, jetrih, eritrocitih, trombocitih in skeletnih mišicah kot posledico oksidativnega stresa (Ji in Leichtweis, 1997; Powers in Lennon, 1999; De Moffarts in sod., 2005; Powers in Jackson, 2008). Raziskave so tudi pokazale, da lahko zaradi oksidativnega stresa, ki ga povzroči intenzivnejša fizična aktivnost, GSH-Px prehaja iz jeter v skeletne mišice, kjer je njeno delovanje močno povečano (Ji, 1995; Ji in Leichtweis, 1997; Powers in Lennon, 1999; De Moffarts in sod. 2005; Powers in Jackson, 2008; Sachdev in Davies, 2008; Andriichuk in sod., 2014). Nekatere druge raziskave poročajo o znižanju aktivnosti (Muñoz-Escassi in sod., 2006), spet druge o nespremenjeni aktivnosti GSH-Px po intenzivnejši fizični aktivnosti (Balogh in sod., 2001); posledično se zaradi nastalega oksidativnega stresa razpoložljivi antioksidanti porabijo za odstranitev nevarnih reaktivnih spojin. Posledica je znižana celokupna antioksidativna kapaciteta. Z aktivacijo antioksidativnega sistema in dajanjem antioksidantov k prehrani se koncentracija celokupnih antioksidantov lahko spet poviša oz. normalizira (Balogh in sod., 2001; Bogdanis in sod., 2013; Azizbeigi in sod., 2014).

Povišane koncentracije malondialdehida v plazmi potrjujejo, da se npr. pri intenzivnejši fizični aktivnosti, ki vodi do oksidativnega stresa, tvorijo reaktivne spojine, ki posledično privedejo do lipidne peroksidacije in poškodbe celičnih membran (Chiardia in sod., 1998; Gago-Dominguez in sod., 2007; Jagrič Munih in sod., 2012). Pri fizični aktivnosti ne pride do

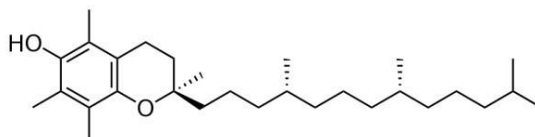
njihovega porasta takrat, ko je organizem že prilagojen na dalj časa trajajočo obremenitev (Marlin in sod., 2002).

### 2.5.5 Antioksidanti kot dodatki k prehrani

Pri povečanem nastajanju reaktivnih spojin (npr. pri intenzivnejši fizični aktivnosti) in oksidativnem stresu pride do izrabe določene vrste antioksidantov in posledično do oslabiljenega antioksidativnega obrambnega sistema. Z vnosom antioksidantov kot dodatkov k prehrani se lahko porabljene antioksidante v celoti nadomesti ali omogoči regeneracijo oksidiranih oblik v reducirano obliko, in sicer s pomočjo antioksidantov, ki imajo nižji redoks potencial (Machlin in Bendich, 1987; Halliwell in Gutteridge, 2007; Rao in sod., 2011). Antioksidanti se kot dodatki k prehrani (različne oblike in odmerki) uporabljajo kot terapija pri različnih bolezenskih stanjih ljudi in živali (konji, miši, podgane, psi idr.). Na splošno izboljšajo počutje, pri športnikih pa vzdržujejo fizično kondicijo (Linnane in sod., 2002; Belardinelli in sod., 2005; Cooke in sod., 2008; Kirschwink in sod., 2008).

#### 2.5.5.1 Vitamin E

Vitamin E ali  $\alpha$ -tokoferol (vit. E) (biološko najbolj aktivna oblika) (slika 1) je eden izmed osmih izomernih oblik, ki je najbolj proučevan in najpogosteje uporabljen antioksidant (fenolni antioksidant) v humani (Štraus, 1992; Duthie, 1999; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Rao in sod., 2011; Osredkar, 2012) in veterinarski medicini (Ono in sod., 1990; McMeniman in Hintz, 1992; Siciliano in sod., 1997; Avellini in sod., 1999; Hargreaves, 2002; Williams in sod., 2004; De Moffarts in sod., 2005; Williams in sod., 2005; Kienzle in sod., 2006; Williams in Carlucci, 2006; Plevnik Kapun in sod., 2014).



Slika 1: Strukturna formula vitamina E ( $\alpha$ -tokoferol) (prirejeno po Halliwell in Gutteridge, 2007)  
*Figure 1: Structural formul of vitamin E ( $\alpha$ -tochopherol) (adapted from Halliwell in Gutteridge, 2007)*

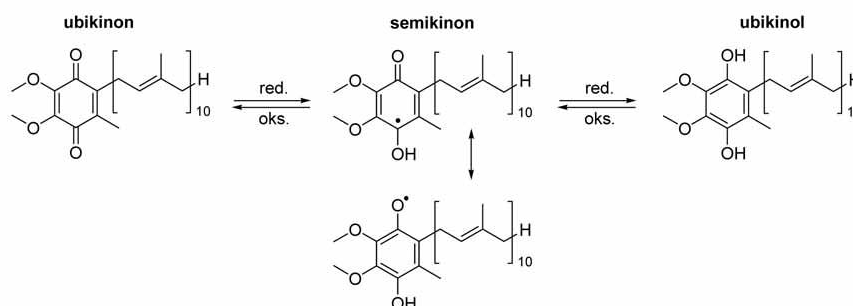
Je topen v maščobah in se v visokih koncentracijah pojavlja predvsem v membranah organelov (mitohondriji – notranja membrana in endoplazemski retikulum) ter plazmalemi, kjer deluje kot lovilec hidroksilnega radikala. V serumu ga je približno 80 % prostega in 20 %

vezanega v obliki acetata, v lipoproteine nizke gostote (Štraus, 1992). Njegova najpomembnejša vloga kot najmočnejšega naravnega antioksidanta je neposredna reakcija s superoksidnim radikalom in produkti lipidne peroksidacije ter s sekundarnimi peroksilnimi in alkoksilnimi radikali, pri čemer se tvori manj reaktiven tokoferilni radikal, ki se inaktivira tako, da se združi še z enim tokoferolnim radikalom ali se reducira s pomočjo vitamina C, ubikinola ali glutationa. Na ta način preprečuje sprožitev in širjenje procesa lipidne peroksidacije ter s tem preprečuje nastanek poškodb predvsem na membranah eritrocitov, skeletnih mišicah, jetrih in srcu, pri ljudeh in živalih (konji idr.) (Esterbauer in sod., 1991<sup>a</sup>; Chen in Tappel, 1995; Ji, 1995; Meydani, 1995; Ji in Leichtweis, 1997; Avellini in sod., 1999; Lass in Sohal, 2000; Manček in Pečar, 2001; Halliwell in Gutteridge, 2007; Osredkar, 2012; Plevnik Kapun in sod., 2014). Kot dodatek k prehrani zmanjša koncentracije produktov lipidne peroksidacije in poviša celokupno antioksidativno kapaciteto pri različnih oblikah fizične aktivnosti (Packer, 1991; Ji in Leichtweis, 1997; Kaikkonen in sod., 1998; Evans, 2000; Sacke in sod., 2001; Banerjee in sod., 2003; Williams in sod., 2003; De Moffarts in sod., 2005; Kirschvink in sod., 2008). Vitamin E je eksogeni antioksidant in ga organizmi sami ne morejo sintetizirati, zaužiti ga morajo s prehrano (bogati vir predstavljajo olja zelenih rastlin) (Evans, 2000; Hargreaves, 2002; De Moffarts in sod., 2005; Harris in sod., 2006). Previsoke koncentracije zaužitega vitamina E s prehrano so lahko toksične za živali in ljudi, saj vplivajo na koagulacijske procese (podaljšajo čas strjevanja krvi) (Meydani, 1995; Halliwell in Gutteridge, 2007).

#### 2.5.5.2 Koencim Q<sub>10</sub>

Koencim Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) (2,3-dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil-1,4-benzokinon) (slika 2) je edini homolog koencima Q pri konjih (Sinatra in sod., 2013) in je v maščobah topen antioksidant (Halliwell in Gutteridge, 2007). V organizmu se sintetizira *de novo*, vendar njegova sinteza upada s starostjo, zato je dobro, da se ga v ustrezni obliki zaradi absorpcije uživa kot dodatek k prehrani (Weber in sod., 1997; Bhagavan in Chopra, 2006; Bhagavan in Chopra, 2007; Prošek in sod., 2008; Belhaj in sod., 2012). Po strukturi je zelo podoben vitaminu E (zato se ju priporoča kot dodatka k prehrani zaužiti skupaj) in ima vlogo prenašalca elektronov med kompleksi mitohondrijske dihalne verige ter aktivnega nosilca protonov preko notranje mitohondrijske membrane, s čimer sodeluje v procesu nastajanja gradienta protonov in sinteze ATP (Ernster in Dallner, 1995; Ji in Leichtweis, 1997; Kaikkonen in sod., 1998; Duthie, 1999; Linnane in Eastwood, 2004; Turunen in sod., 2004; Crane, 2007; Žmitek in Žmitek,

2009). V organizmih (nekaj v citosolu, pretežno v mitohondrijskih membranah) se nahaja v dveh redoks oblikah: kot ubikinon (oksidirana oblika; pretežno v srcu, skeletnih mišicah, jetrih in možganih), ki v dveh zaporednih stopnjah sprejme elektron ter preide v ubikinol (reducirana oblika; pretežno v krvni plazmi in ledvicah), le-ta se z oksidacijo lahko povrne v prvotno obliko (slika 2) (Manček in Pečar, 2001; Bhagavan in Chopra, 2006; Sohal in Forster., 2007; Žmitek in Žmitek, 2009).

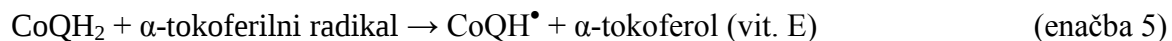


Slika 2: Redoks stanja koencima Q<sub>10</sub> (prirejeno po Žmitek in Žmitek, 2009)

Figure 2: Redox forms of coenzyme Q<sub>10</sub> (adapted from Žmitek and Žmitek, 2009)

Zaradi tega je učinkovit pri nevtralizaciji različnih radikalov (superoksidnega, peroksidnega idr.), saj ščiti lipidne membrane pred njimi in s tem prepreči napad na maščobne kisline in nastanek novih radikalov (Ernster in Dallner, 1995; Linnane in sod., 2007). Je prvi antioksidant, ki se porabi, preden pride do obsežnejše lipidne peroksidacije (Crane in Navas, 1997; Niki, 1997). Pred oksidativnimi poškodbami, ki so lahko posledica intenzivnejše fizične aktivnosti pri ljudeh in živalih (konji, miši, podgane, psi idr.), kot lovilec prostih radikalov ščiti celice skeletnih mišic in srca (Shimomura in sod., 1991; Ibrahim in sod., 2000; Linnane in sod., 2002; Rosenfeldt in sod., 2003; Belardinelli in sod., 2005; Linnane in sod., 2007; Cooke in sod., 2008; Littarru in Tiano, 2010; Jagrič Munih, 2012; Östman in sod., 2012; Sinatra in sod., 2013; Sinatra in sod., 2014). Koencim Q<sub>10</sub> obenem regenerira vitamin E (enačba 5) in vitamin C (Niki, 1997; Kaikkonen in sod., 1998, Manček in Pečar, 2001); z vitaminom E deluje kooperativno in sinergistično (Chen in Tappel, 1995; Niki, 1997; Kaikkonen in sod., 1998; Kazmalov in sod., 2003; Kazmalov in Sohal, 2004; Otrocka-Domagala in sod., 2004; McDonald in sod., 2005; Ognjatović in sod., 2006; Gille in sod., 2008; Sinatra in sod., 2014). Dajanje koencima Q<sub>10</sub> k prehrani poviša koncentracijo koencima Q<sub>10</sub> v plazmi ter homogenatih in mitohondrijih srčne mišice, skeletnih mišic, jeter in možganov (Zhou in sod., 2005; Lee in sod., 2012; Sinatra in sod., 2013; Hargreaves, 2014;

Sinatra in sod., 2014). Značilno se poviša tudi koncentracija endogenega vitamina E v plazmi ter homogenatih in mitohondrijih omenjenih tkiv, kar poveča antioksidativno kapaciteto plazme in tkiv (Rosenfeldt in sod., 2003).



## 3 MATERIALI IN METODE

### 3.1 ŽIVALI

V raziskavo smo na podlagi vključitvenih in izključitvenih pogojev ter pisne privolitve njihovih lastnikov vključili 40 jahalnih, rekreativnih toplokrvnih konj. Vsi postopki so potekali v skladu z veljavno Slovensko zakonodajo (Zakon o zaščiti živali UL RS, 43/2007), potrdilo jih je Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Veterinarske uprave Republike Slovenije (VURS) z dovoljenjem št. 34401-5/2010/13.

#### 3.1.1 Vključitveni in izključitveni pogoji

Klinični pregled smo opravili pri 63 rekreativnih konjih. Hkrati smo jim odvzeli vzorce krvi za osnovne hematološke in biokemijske preiskave ter vzorce krvi za določitev koncentracije koencima Q<sub>10</sub> v plazmi.

Osnovni klinični pregled je zajemal splošni zunanji pregled, pregled srčno-žilnega sistema, zgornjih in spodnjih dihal ter lokomotornega aparata. Pri tem smo izmerili frekvenco srčnega utripa, frekvenco dihanja in ocenili lokomotorni aparat v mirovanju in gibanju ter morebitna odstopanja.

Frekvenco srca smo izmerili na levi obrazni arteriji (*A. facialis*) in s pomočjo stetoskopa znamke Littmann Cardiology (ZDA).

Frekvence dihanja smo izmerili s pomočjo štoparice in štetjem premikov prsno-trebušnega dela telesa na minuto.

Konjem, ki so sodelovali v raziskavi, smo z navadnim merilnim trakom izmerili obseg prsi in dolžino trupa. Enačbo za izračun telesne mase (Tm) konj (ocena Tm odraslih konj) smo povzeli po Carroll in Huntingtonu in izračunali po enačbi 6 (Carroll in Huntington, 1988; Wagner in Tyler, 2011).

$$Tm \text{ konja (kg)} = (\text{obseg prsi}^2 [\text{cm}]^2 \cdot \text{dolžina trupa} [\text{cm}]) / 11877 \text{ cm}^3 \quad (\text{enačba 6})$$

Na podlagi kliničnega pregleda in rezultatov opravljenih krvnih preiskav smo od skupaj pregledanih 63 konj iz skupine izključili 23 bolnih in poškodovanih konj. Prav tako v skupino nismo vključili konj, mlajših od 3 let, starejših od 18 let, brejih kobil, kobil z žrebeti in športnih konj.

Konji so pred izvedbo raziskave prejemali le običajno prehrano (oves in seno, zjutraj ob 7. in zvečer ob 19. uri) in vodo, ki je bila preprečeno na voljo.

## 3.2 PRIPRAVKI

### 3.2.1 Parafinsko olje

Parafinsko olje (*Paraffinum liquidum*, Ph. Eur. 6.0, Serije: MH163/10, 1 L, gostota pri 20 °C 0,865; Pharmachem s. p., Ljubljana) je imelo vlogo placeba. Izračunano količino odmerkov smo razdelili v injekcijske brizge.

### 3.2.2 Koencim Q<sub>10</sub>

Pasta (Q<sub>10</sub> Vital pasta 7,5 %, št. specifikacije: S-H0004, Valens Int. d. o. o., Šenčur) je vsebovala demineralizirano vodo in koencim Q<sub>10</sub> (7,5 %), ki je bil vključen v kompleks z  $\beta$ -ciklodekstrinom. Omenjeni kompleks je bil narejen na Kemijskem inštitutu po patentu Laboratorija za prehrambeno kemijo (Prošek in sod., 2005). Pasta je bila po izgledu homogena rumeno-oranžna tekočina, brez vonja in okusa ter pakirana v plastenke HDPE (polietilen visoke gostote) po 1 kg in je vsebovala 7,5 g koencima Q<sub>10</sub> na 100 g paste, kot je jamčil specifikacijski certifikat in analizni izvid (št. analiznega izvida: 113/2010, Valens Int. d. o. o.). Izračunano količino različnih odmerkov smo razdelili v injekcijske brizge.

### 3.2.3 Vitamin E

Steklenička (74 mL) vitaminskega olja Natural vitamin E-oil (Natural Wealth, Bohemia, N. Y., ZDA) je vsebovala 30.000 IE vitamina E (D-alfa-tokoferil acetat) in mešanico čistih rastlinskih olj (sojino olje, koruzno olje, sezamovo olje, limonino olje in olja pšeničnih kalčkov). Izračunano količino različnih odmerkov smo razdelili v injekcijske brizge.

## 3.3 ZASNOVA RAZISKAVE

Raziskavo smo razdelili na dva sklopa.

### 3.3.1 Prvi sklop raziskave

V prvi sklop raziskave smo vključili 12 naključno izbranih konj, ki so 28 dni zapored, 2-krat dnevno (zjutraj ob 7. in zvečer ob 19. uri) kot dodatek k običajni prehrani prejemali pripravek: vodotopno obliko koencima Q<sub>10</sub> v obliki paste, s čimer smo želeli določiti odmerek koencima Q<sub>10</sub> za drugi sklop raziskave.

Konje smo razdelili v 3 skupine po 4 konje. Prvo skupino so sestavljali kobila in 3 kastrati, stari od 5 do 13 let in ocenjene telesne mase od 453 do 559 kg. Ta skupina konj je prejela 400 mg/dan koencima Q<sub>10</sub> oz. 2,6 g paste/odmerek. Drugo skupino so sestavljali kobila in 3 kastrati, stari od 8 do 12 let in ocenjene telesne mase od 545 do 576 kg. Ta skupina konj je prejela 600 mg/dan koencima Q<sub>10</sub> oz. 4,0 g paste/odmerek. Tretjo skupino sta sestavljali 2 kobili in 2 kastrata, stari od 8 do 11 let in ocenjene telesne mase od 483 do 687 kg. V tej skupini so konji prejeli 800 mg/dan koencima Q<sub>10</sub> oz. 5,34 g paste/odmerek.

Vzorci krvi smo odvzeli pred prvim odmerkom (0) in nato 6, 12, 24 in 48 ur ter 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 in 56 dni po prvem odmerku.

### 3.3.2 Drugi sklop raziskave

V drugem sklopu raziskave je sodelovalo 40 konj. Naključno smo jih razdelili v 4 skupine po 10 konj. Ti so 14 dni pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti prejeli parafinsko olje (placebo) ali enega izmed antioksidativnih dodatkov k prehrani (koencim Q<sub>10</sub>, vitamin E ali kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E). Da smo izključili vplive dodanega koencima Q<sub>10</sub> pri 12 konjih, vključenih v prvi sklop raziskave, smo drugi sklop raziskave izvedli 60 dni po končanem prvem sklopu.

Prvo skupino oz. kontrolno skupino (skupina K) so sestavljale 3 kobile in 7 kastratov, starih od 5 do 18 let in ocenjene telesne mase od 451 do 556 kg. V tej skupini so konji prejeli 14 dni zapored, 2-krat dnevno (zjutraj ob 7. in zvečer ob 19. uri) kot dodatek k običajni prehrani 2,6 ml/dan parafinskega olja. Izračunan odmerek je bil volumsko enak odmerku paste 800 mg koencima Q<sub>10</sub>/dan.

Drugo skupino konj oz. skupino, ki je prejela koencim Q<sub>10</sub> (skupina CoQ<sub>10</sub>), je sestavljalo 6 kobil in 4 kastrati, starih od 3 do 16 let in ocenjene telesne mase od 436 do 697 kg. Ta skupina je kot dodatek k običajni prehrani 14 dni zapored, 2-krat dnevno (zjutraj ob 7. in zvečer ob 19. uri) prejela 800 mg/dan koencima Q<sub>10</sub> v obliki paste (Q<sub>10</sub> Vital pasta je bila enaka kot v prvem sklopu raziskave).

Tretjo skupino konj oz. skupino E (skupina vit. E) je sestavljalo 5 kobil in 5 kastratov, starih od 5 do 17 let in ocenjene telesne mase od 423 do 601 kg. V tej skupini so konji kot dodatek k običajni prehrani prejeli 14 dni zapored, 2-krat dnevno (zjutraj ob 7. in zvečer ob 19. uri)

vitamin E v olju (Naravno E-vitaminsko olje). Odmerke smo preračunali na ocenjeno telesno maso (1,8 IE/kg Tm/dan). Odrasel konj s povprečno telesno maso 550 kg potrebuje dnevno pri srednje težki fizični aktivnosti vnos 990 IE vitamina E (povzeto po Lawrence, 2009).

Četrto skupino konj oz. skupino, ki je prejela koencim Q<sub>10</sub> in vitamin E (skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), so sestavljale 4 kobile in 6 kastratov, starih od 5 do 18 let in ocenjene telesne mase od 453 do 743 kg. Ta skupina je 14 dni zapored, 2-krat dnevno (zjutraj ob 7. in zvečer ob 19. uri) kot dodatek k običajni prehrani prejela 800 mg koencima Q<sub>10</sub>/dan (Q<sub>10</sub> Vital pasta je bila enaka kot v prvem sklopu raziskave) in na ocenjeno telesno maso preračunan odmerek vitamina E (1,8 IE/kg Tm/dan; Naravno E-vitaminsko olje, kot ga je prejela skupina konj vit. E).

#### 3.3.2.1 Opis izbrane fizične aktivnosti konj

V drugem sklopu raziskave smo pri vseh 40 konjih po 14-dnevem dajanju placeba oz. antioksidativnega dodatka izvedli izbrano fizično aktivnost, ki je potekala v lonžirnem krogu jahališča oz. maneže (premera približno 18 m). Program je vseboval »izmenično lonžiranje« v naslednjem vrstnem redu: 10 min hoje (ogrevanja), 5 min počasnega (kratkega) kasa, 10 min hitrega (okrepljenega) kasa in 15 min galopa. Skupna obremenitev je trajala 40 min. Sledilo je 15–20 min sprehajanja, ki je živali po opravljenem delu ohladilo.

Konjem smo tik pred in takoj po končani (40 min) izbrani fizični aktivnosti izmerili telesno temperaturo (TT) rektalno s pomočjo digitalnega termometra Citizen CT-561C (Citizen Systems Japan; Japonska).

Meritve frekvence srčnega utripa smo opravili s telemetričnim aparatom Televet 100 (Kruuse; Nemčija) tik pred, med in takoj po izbrani fizični aktivnosti (40 min). Konji so imeli okrog vihra in prsnice nameščen lonžirni pas s telemetričnim aparatom in štirimi elektrodami, nameščenimi na določenih točkah telesa (slika 3) (Taylor in Hillyer, 1997). Rdečo in črno elektrodo smo namestili v področje za lopatico, zeleno in rumeno pa pod spodnjo tretjino prsnega dela, v področje lege srca. Frekvenco srca smo odčitali iz računalniškega grafičnega zapisa.



Slika 3: Nameščen lonžirni pas s telemetričnim aparatom Televet 100 med izvajanjem izbrane fizične aktivnosti (fotografija Mojca Bohar Topolovec)

*Figure 3: Installed lunging band with telemetric device Televet 100 during the implementation of selected physical activity (photo Mojca Bohar Topolovec)*

Frekvence dihanja smo izmerili tik pred začetkom izbrane fizične aktivnosti in takoj po njenem koncu (čez 40 min).

Vsakemu izmed konj v raziskavi smo štirikrat odvzeli vzorce krvi. Prvi odvzem smo izvedli pred prvim dajanjem dodatka k prehrani (odvzem 0 ob času  $t_0$ ), s katerim smo določili bazalne vrednosti. Sledilo je 14-dnevno dajanje dodatka k prehrani. Po 14 dneh dajanja smo odvzeli vzorce krvi tik pred izbrano fizično aktivnostjo (odvzem 1 ob času  $t_1$ ). Sledila je izbrana fizična aktivnost po programu in nato tretji odvzem takoj po končanem galopu, to je 40 min po začetku fizične aktivnosti (odvzem 2 ob času  $t_2$ ). Četrty odvzem vzorcev krvi smo opravili 24 ur po fizični aktivnosti v domačem hlevu (odvzem 3 ob času  $t_3$ ). Odvzete vzorce krvi smo uporabili za določitev izbranih hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov ter označevalca lipidne peroksidacije malondialdehida.

Ob odvzemih vzorcev krvi in pri delu s konji so ti bili mirni in brez strahu.

### 3.3.2.2 Vrednosti zunanje temperature zraka in relativne vlažnosti

Pred izbrano fizično aktivnostjo smo izmerili z analognim higrometrom Möller (Möller-Therm GmbH; Nemčija) dejavnika okolja: temperaturo zraka (TZ) in relativno vlažnost (RV). Izbrano fizično aktivnost smo pri vseh konjih izvedli v jesenskem letnem času, s povprečno temperaturo zraka od 8 do 15 °C (ARSO, 2014).

Povprečne vrednosti zunanje temperature zraka in relativne vlažnosti, merjene pred izbrano fizično aktivnostjo (čas  $t_1$ ), ter standardne deviacije (SD) pri posameznih skupinah konj prikazuje tabela 4.

Tabela 4: Temperature zraka in relativne vlažnosti (povprečje  $\pm$  SD) pred fizično aktivnostjo (čas  $t_1$ ) pri posameznih skupinah konj

Table 4: The air temperature and relative humidity (mean  $\pm$  SD) before the physical activity (time  $t_1$ ) in individual groups of horses

| Skupina / Group           | Temperatura zraka (°C) /<br>Air temperature (°C) | Relativna vlažnost (%) /<br>Relative humidity (%) |
|---------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| K                         | 10,30 $\pm$ 3,86                                 | 51,50 $\pm$ 8,83                                  |
| CoQ <sub>10</sub>         | 10,30 $\pm$ 6,09                                 | 52,50 $\pm$ 11,37                                 |
| vit. E                    | 16,30 $\pm$ 2,06                                 | 63,50 $\pm$ 2,42                                  |
| CoQ <sub>10</sub> +vit. E | 11,50 $\pm$ 4,14                                 | 64,50 $\pm$ 3,69                                  |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E.

### 3.4 ODVZEM, PRIPRAVA IN SHRANJEVANJE VZORCEV KRVI

#### 3.4.1 Odvzem vzorcev krvi

Vzorci krvi smo odvzeli iz jugularne vene (*V. jugularis*) z iglami (Terumo Venoject; 20 Gx1 ½"UTW, 0,9x40 mm, Belgija) in s pomočjo plastičnega nastavka (Vacuette; Greiner, Kremsmünster, Avstrija) v različne vakuumske epruvete v določenem vrstnem redu (epruveta z rdečim zamaškom – dodan aktivator koagulacije, epruveta z zelenim zamaškom – dodan antikoagulant litijev heparin, epruveta z vijoličnim zamaškom – dodan antikoagulant K<sub>3</sub>EDTA (kalijeva sol etilendiaminotetraocetna kislina) in epruveta s sivim zamaškom – dodana antikoagulant kalijev oksalat in inhibitor glikolize natrijev fluorid).

#### 3.4.2 Priprava in shranjevanje vzorcev krvi

Vzorci krvi za meritve hematoloških parametrov (krvna slika z diferencialno belo krvno sliko) smo odvzeli v 2-mL epruvete z dodanim antikoagulantom K<sub>3</sub>EDTA (Vacuette; Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija). Hematološke preiskave smo opravili v roku 5 ur po odvzemu vzorcev neposredno iz epruvet, brez predhodne priprave in pri sobni temperaturi (20–24 °C).

Vzorci krvi za pridobitev seruma, v katerem smo merili koncentracije biokemijskih parametrov: albumina, celokupnega bilirubina, kalcija, kloridov, celokupnega holesterola,

kreatinina, železa, lipoproteinov visoke gostote, kalija, lipoproteinov nizke gostote, magnezija, natrija, anorganskega fosfata, trigliceridov, celokupnih proteinov, sečne kisline, sečnine in aktivnosti biokemijskih parametrov: alanin-aminotransferaze, alkalne fosfataze, aspartat-aminotransferaze, kreatin kinaze, gama-glutamil transferaze, smo odvzeli v 5-mL epruvete z gelom in dodatkom aktivatorja koagulacije (Vacuette; Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija). Vzorce smo pustili stati eno uro pri sobni temperaturi in jih nato 10 minut centrifugirali pri 1300 x g pri sobni temperaturi. Oddelili smo 150 µL seruma za merjenje koncentracije elektrolitov (natrija, kalija, kloridov) in ga prenesli v dve ustrezno označeni 1,5-mL mikrocentrifugirni epruveti (Sarstedt; Nümbrecht, Nemčija). Preiskave smo opravili v roku 4 ur po odvzemu vzorcev. Preostali serum smo prenesli v dve ustrezno označeni 1,5-mL epruveti za zamrzovanje (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija), jih hipno zamrznili v tekočem dušiku pri temperaturi –196 °C in do analize shranili v zamrzovalniku (Sanyo Electric Co., Ltd.; Japonska), pri temperaturi –80 °C.

Vzorce krvi za pridobitev plazme, v katerih smo merili koncentracije biokemijskih parametrov glukoze in laktata, smo odvzeli v 2-mL epruvete z dodanim antikoagulantom kalijevim oksalatom in inhibitorjem glikolize natrijevim fluoridom (Vacuette; Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija) ter jih centrifugirali 15 minut pri 1500 x g pri temperaturi 4 °C. Ločili smo 500 µL plazme in jo prenesli v dve ustrezno označeni 1,5-mL epruveti za zamrzovanje, jih hipno zamrznili v tekočem dušiku in do analize shranili v zamrzovalniku pri temperaturi –80 °C.

Vzorce krvi, v katerih smo merili koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete, koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E ter aktivnosti glutathion peroksidaze in superoksid dismutaze, smo odvzeli v pet 2-mL epruvet (za vsak parameter eno) z dodanim antikoagulantom litijevim heparinom (Vacuette; Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija). Za merjenje plazemske koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete smo vzorce krvi centrifugirali 15 minut pri 1500 x g pri temperaturi 4 °C, za merjenje plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E smo vzorce krvi centrifugirali 15 minut pri 1500 x g pri sobni temperaturi. Ločili smo plazmo in jo prenesli v ustrezno označene 1,5-mL epruvete za zamrzovanje, jih hipno zamrznili v tekočem dušiku in do analize shranili v zamrzovalniku pri temperaturi –80 °C.

Za merjenje aktivnosti glutation peroksidaze v hemolizatu polne krvi smo odpipetirali 200 µL polne heparinske krvi v dve ustrezno označeni 1,5 mL epruveti za zamrzovanje, ju hipno zamrznili v tekočem dušiku in do analize shranili v zamrzovalniku pri –80 °C.

Aktivnost superoksid dismutaze smo merili v hemolizatu eritrocitov, ki smo ga pripravili v skladu z navodili proizvajalca reagenčnega kompleta RANSOD (Randox, Crumlin, Velika Britanija). 1 mL polne heparinske krvi smo odpipetirali v dve centrifugirki in vzorec centrifugirali 10 minut pri 1300 × g, pri temperaturi 4 °C. Po centrifugiranju smo plazmo zavrgli, sediment krvnih celic 4-krat sprali s 6 mL fiziološke raztopine (0,9 % natrijev klorid; Braun, Melsungen, Nemčija) ohlajene pri temperaturi 4 °C. Vzorce smo po vsakem dodatku fiziološke raztopine rahlo premešali in centrifugirali 10 minut pri 1300 × g, pri temperaturi 4 °C. Po četrtem centrifugiranju smo sedimentu celic dodali 4 mL redestilirane vode (Aqua redestilata, Pliva, Zagreb, Hrvaška) ohlajene pri temperaturi 4 °C ter 15 minut inkubirali v hladilniku pri temperaturi 2–8 °C. Tako pripravljene vzorce hemolizata eritrocitov smo razdelili v dve epruveti za zamrzovanje, jih hipno zamrznili v tekočem dušiku in do analize shranili v zamrzovalniku pri –80 °C.

Vzorce krvi za pridobitev plazme, v kateri smo merili koncentracije označevalca lipidne peroksidacije malondialdehida, smo odvzeli v 3-mL epruvete z dodanim antikoagulantom K<sub>3</sub>EDTA (Vacuette; Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija) in jih centrifugirali 15 minut pri 1500 × g pri temperaturi 4 °C. Ločili smo plazmo in jo prenesli v dve ustrezno označeni 1,5-mL epruveti za zamrzovanje, ju hipno zamrznili v tekočem dušiku in do analize shranili v zamrzovalniku pri temperaturi –80 °C.

### 3.5 MERITVE KRVNIH PARAMETROV

Vse serumske in plazemske vzorce ter vzorce polne krvi smo pred nadaljnjo uporabo počasi odmrznili pri sobni temperaturi in jih dobro premešali na vibracijskem mešalniku.

Hematološke in biokemijske preiskave ter meritve antioksidativnih parametrov smo opravili v Diagnostičnem laboratoriju Klinike za kirurgijo in male živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani.

Meritve koncentracij MDA smo opravili v laboratoriju na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani.

Meritve koncentracij koencima Q<sub>10</sub> smo opravili v laboratoriju na Inštitutu za higieno živil in bromatologijo Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani.

Meritve koncentracij vitamina E smo opravili v Laboratoriju za kemijske analize krme na Inštitutu za higieno in patologijo prehrane živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani.

### **3.5.1 Meritve hematoloških parametrov**

Hematološke parametre (hemogram z diferencialno belo krvno sliko) smo izmerili na avtomatskem hematološkem analizatorju Advia 120 (Siemens, München, Nemčija), ki deluje po principu pretočne citometrije z lasersko svetlobo in je namenjen uporabi v veterinarski medicini. Za potrebe raziskave smo uporabili izmerjene številčne koncentracije eritrocitov, levkocitov in trombocitov, koncentracijo hemoglobina, izračunani delež hematokrita ter številčne koncentracije nevtrofilcev in limfocitov, potrebne za izračun razmerja nevtrofilci/limfociti.

### **3.5.2 Meritve biokemijskih parametrov**

Biokemijske parametre smo z izjemo elektrolitov (natrija, kalija in kloridov) izmerili spektrofotometrično na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX-Daytona (Randox, Crumlin; Velika Britanija) z uporabo tovarniško izdelanih, komercialno dostopnih, reagenčnih kompletov proizvajalca Randox (Tabela 5) in po principu mokre kemije.

Tabela 5: Reagenčni kompleti in kataloške številke proizvajalca Randox  
*Table 5: Reagent kits and catalogue numbers of the manufacturer Randox*

| <b>Reagenčni komplet (parameter) /<br/><i>Reagent kits (parameter)</i></b> | <b>Kataloška številka /<br/><i>Manufacturer's catalogue number</i></b> |
|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Alanin-aminotransferaza (ALT)                                              | AL3801                                                                 |
| Albumin (ALB)                                                              | AB3800                                                                 |
| Alkalna fosfataza (ALKP)                                                   | AP3802                                                                 |
| Anorganski fosfat (P)                                                      | PH3872                                                                 |
| Aspartat-aminotransferaza (AST)                                            | AS3804                                                                 |
| Celokupni bilirubin (T-Bil)                                                | BR3859                                                                 |
| Celokupni holesterol (CHOL)                                                | CH3810                                                                 |
| Celokupni proteini (TP)                                                    | TP4001                                                                 |
| Gama-glutamilttransferaza (GGT)                                            | GT3817                                                                 |
| Glukoza (GLU)                                                              | GL3881                                                                 |
| Kalcij (Ca)                                                                | CA3871                                                                 |
| Kreatin-kinaza (CK)                                                        | CK3812                                                                 |
| Kreatinin (CREA)                                                           | CR3814                                                                 |
| Laktat (LAC)                                                               | LC3980                                                                 |
| Laktat-dehidrogenaza (LDH)                                                 | LD3842                                                                 |
| Lipoteini nizke gostote (LDL)                                              | CH3841                                                                 |
| Lipoteini visoke gostote (HDL)                                             | CH3811                                                                 |
| Magnezij (Mg)                                                              | MG3880                                                                 |
| Sečna kislina (UA)                                                         | UA3870                                                                 |
| Sečnina (UREA)                                                             | UR3825                                                                 |
| Trigliceridi (TRIG)                                                        | TR3823                                                                 |
| Železo (Fe)                                                                | SI3821                                                                 |

Koncentracije natrija, kalija in kloridov smo izmerili z avtomatskim analizatorjem Ilyte (IL-Instrumentation Laboratory, Lexington, ZDA), ki deluje na osnovi ionoselektivnih elektrod.

### 3.5.3 Meritve antioksidativnih parametrov

Antioksidativne parametre smo izmerili spektrofotometrično na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX Daytona (Randox, Crumlin; Velika Britanija) z uporabo tovarniško izdelanih, komercialno dostopnih, reagenčnih kompletov proizvajalca Randox.

V vzorcih plazme smo merili koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete z reagenčnim kompletom TAS (Total Antioxidant Status Kit, Randox, Crumlin, Velika Britanija: kat. št. NX2332), ki temelji na metodi, povzeti po literaturi (Miller in sod., 1993). Metoda merjenja je posredna, saj v reakciji nastale proste radikale (ABTS<sup>•+</sup>-2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)) reducirajo v vzorcu prisotni antioksidanti, kar merimo z znižanjem absorbance pri 600 nm po 3 min. Rezultate smo izrazili kot mmol/L Trolox ekvivalentov (standard, 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kislina-derivat vitamina E).

V vzorcih polne krvi smo merili aktivnosti glutatation peroksidaze z reagenčnim kompletom RANSEL (Randox, Crumlin, Velika Britanija; kat. št. RS505), ki temelji na metodi, povzeti po literaturi (Paglia in Valentine, 1967). Metoda temelji na posrednem določanju aktivnosti glutatation peroksidaze. Ta katalizira oksidacijo reduciranega glutatona s sintetičnim kumen hidroperoksidom; pri reakciji se nastali oksidirani glutatation disulfid nato v indikatorski reakciji z glutatation reduktazo in ob prisotnosti reducirane oblike koencima nikotinamidadenindinukleotidfosfata (NADPH) prevede v reducirani glutatation in oksidirano obliko koencima nikotinamidadenindinukleotidfosfata (NADP<sup>+</sup>). Hitrost oksidacije NADPH, ki jo merimo kot padec absorbance pri 340 nm, je premosorazmerna aktivnosti GSH-Px v vzorcu. Aktivnost glutatation peroksidaze smo podali v internacionalnih (mednarodnih) enotah na g hemoglobina (IE/g Hb).

V hemolizatu eritrocitov smo merili aktivnosti superoksid dismutaze z reagenčnim kompletom RANSOD (Randox, Crumlin, Velika Britanija; kat. št. SD125), ki temelji na metodi, povzeti po literaturi (McCord in Fridovich, 1969). V reagenčnem kompletu je sistem za proizvodnjo superoksidnega radikala pripravljen iz ksantina in ksantin oksidaze. Indikatorska spojina je 2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolijev klorid (INT), ki reagira s superoksidnim radikalom v barvilo formazan. Aktivnost superoksid dismutaze smo merili s stopnjo inhibicije te reakcije in jo podali v internacionalnih (mednarodnih) enotah na g hemoglobina (IE/g Hb).

V pripravljenem hemolizatu smo merili tudi koncentracijo hemoglobina s hemiglobincianidno metodo z avtomatskim biokemijskim analizatorjem RX Daytona (Randox, Crumlin, Velika Britanija; kat. št. HG1539).

### **3.5.4 Meritve pokazatelja obsega lipidne peroksidacije**

Kot pokazatelj obsega lipidne peroksidacije smo merili koncentracije malondialdehida. Vzorce plazme smo pred meritvijo obdelali z derivatizacijsko metodo z dinitrofenilhidrazinom, povzeto po literaturi (Czauderna in sod., 2011). Uporabili smo metodo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti HPLC (angl. *High Performance Liquid Chromatography*) in metodo ionizacije z razprševanjem raztopin v električnem polju oz. elektrorazprševalno ionizacijo-ESI (angl. *electrospray ionization*). Meritve smo izvedli z analizatorjem Agilent 6460 (Agilent Technologies, Santa Clara, ZDA) s trojnim kvadrupolnim MS/MS detektorjem.

### 3.5.5 Meritve koencima Q<sub>10</sub>

Vzorci plazme, v katerih smo merili koncentracije koencima Q<sub>10</sub>, smo pred meritvijo obdelali z ekstrakcijo para-benzokinona (2 mg/mL) v 1-propanolu, po postopku, povzetem po literaturi (Prošek in sod., 2008). Meritve smo izvedli z analizatorjem Xevo tq Waters (Waters, Milford, MA, ZDA) s trojnim kvadрупolnim MS/MS detektorjem. Uporabili smo metodo HPLC in ESI (Ruiz-Jiménez in sod., 2007).

### 3.5.6 Meritve vitamina E

Vzorci plazme, v katerih smo merili koncentracije vitamina E, smo pred meritvijo obdelali po postopku, povzetem po literaturi (Zhao in sod., 2004; Silvertsen in sod., 2005). Vzorcem smo dodali etanol ter heksan in ko sta se plasti ločili, smo zgornjo heksansko plast posušili do suhega. Suh preostanek smo raztopili v metanolu in koncentracijo vitamina E določili z metodo HPLC in fluorescenčnim detektorjem. Meritve smo izvedli z analizatorjem Alliance HPLC System 2695 (Waters, Milford, MA, ZDA).

## 3.6 OBDELAVA PODATKOV IN STATISTIČNA ANALIZA

Podatke meritev smo zbrali s programom Microsoft Excel 2010.

Za statistično analizo in izdelavo grafičnih prikazov je bil uporabljen programski paket R (verzija 3.0.2 za Windows) (R Foundation for Statistical Computing, Dunaj, Avstrija).

Razlike v posameznih parametrih med odvzemi in med skupinami konj smo analizirali z linearnimi mešanimi modeli (Pinheiro in Bates, 2000; Brown in Prescott, 2006), kjer smo kot fiksne dejavnike (*fixed effects*) upoštevali odvzem, skupino ter njuno interakcijo in vsakemu konju pripisali slučajno presečišče (*random intercept*). Zaradi večkratnih (multiplih) primerjav smo v osnovi upoštevali popravljeno stopnjo značilnosti po Bonferroniju,  $p < 0,002$ .

Uporabljeni sta bili R-ovi knjižnici: *nlme* za mešane modele in *phia* za analizo post-hoc primerjav s popravkom po Holmovi metodi. V primeru statistično značilne interakcije smo upoštevali stopnjo značilnosti  $p < 0,05$ .

Povezavo (korelacijo) med oksidativnim stresom (MDA) in sistemsko aktivnostjo mišičnih encimov (CK, AST in LDH) smo preverili tako, da smo slednje spremenljivke vključili v model z MDA kot odvisno spremenljivko (torej z mešanim modelom, z določitvijo

Pearsonovega korelacijskega koeficienta). Korelacije smo opredelili kot statistično značilne pri  $p < 0,05$ .

Vrednosti v besedilu so podane kot povprečje  $\pm$  standardna deviacija (SD).

Statistično obdelavo podatkov je opravilo podjetje Statistično svetovanje in analiza podatkov, Mateja Blas s. p., Ljubljana.

## 4 REZULTATI

Na osnovi rezultatov krvnih preiskav (podatkov hematoloških, biokemijskih, antioksidativnih parametrov in označevalca lipidne peroksidacije z izjemo koencima Q<sub>10</sub> v disertaciji ne navajam) in kliničnega pregleda smo v raziskavo vključili 40 zdravih, jahalnih, rekreativnih konj, ki so ustrezali vsem vključitvenim in izključitvenim pogojem.

Izmerjena koncentracija koencima Q<sub>10</sub> je bila med 0,38 in 2,09 mg/L (povprečno  $1,03 \pm 0,36$  mg/L) (Bohar Topolovec in sod., 2013).

### 4.1 REZULTATI PRVEGA SKLOPA

V prvi sklop raziskave smo vključili 12 konj.

Izmerjene koncentracije koencima Q<sub>10</sub> (pred in po prejemanju različnih odmerkov: 400, 600 in 800 mg/dan koencima Q<sub>10</sub>) ob različnih časih odvzemov vzorcev krvi (pred prvim odmerkom (0) in nato 6, 12, 24 in 48 ur ter 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 in 56 dni po prvem odmerku) in njihove povprečne koncentracije ter SD prikazujeta tabela 6 in slika 4.

Tabela 6: Koncentracije koencima Q<sub>10</sub> (mg/L) (povprečje  $\pm$  SD) ob različnih časih odvzemov vzorcev krvi v skupinah konj, ki so prejeli 400 mg/dan, 600 mg/dan in 800 mg/dan koencima Q<sub>10</sub>

Table 6: The coenzyme Q<sub>10</sub> concentrations (mg/L) (mean  $\pm$  SD) in collected blood samples taken at different times from groups of horses treated with 400 mg/day, 600 mg/day and 800 mg/day of coenzyme Q<sub>10</sub>

| Odmerek<br>/ Dose |                     | Čas odvzema / Sampling time |             |             |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-------------------|---------------------|-----------------------------|-------------|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                   |                     | 0                           | 6 h         | 12 h        | 24 h | 48 h | 7 d  | 14 d | 21 d | 28 d | 35 d | 42 d | 49 d | 56 d |
| 400<br>mg/dan     | Povprečje /<br>Mean | 0,46                        | <b>1,49</b> | 1,16        | 1,01 | 1,30 | 1,14 | 1,00 | 0,78 | 0,61 | 0,75 | 0,54 | 0,59 | 0,61 |
|                   | SD                  | 0,18                        | 0,49        | 0,28        | 0,28 | 0,28 | 0,24 | 0,33 | 0,07 | 0,15 | 0,30 | 0,09 | 0,08 | 0,04 |
| 600<br>mg/dan     | Povprečje /<br>Mean | 0,59                        | <b>1,52</b> | 1,19        | 1,06 | 1,14 | 1,43 | 0,99 | 0,69 | 0,51 | 0,49 | 0,72 | 0,56 | /    |
|                   | SD                  | 0,06                        | 0,48        | 0,17        | 0,35 | 0,28 | 0,33 | 0,41 | 0,22 | 0,04 | 0,07 | 0,38 | 0,10 | /    |
| 800<br>mg/dan     | Povprečje /<br>Mean | 0,95                        | 1,42        | <b>1,53</b> | 1,29 | 1,27 | 1,49 | 0,97 | 0,83 | 0,83 | 0,52 | 0,50 | 0,49 | 0,50 |
|                   | SD                  | 0,22                        | 0,68        | 0,49        | 0,41 | 0,43 | 0,51 | 0,13 | 0,29 | 0,20 | 0,15 | 0,15 | 0,13 | 0,16 |

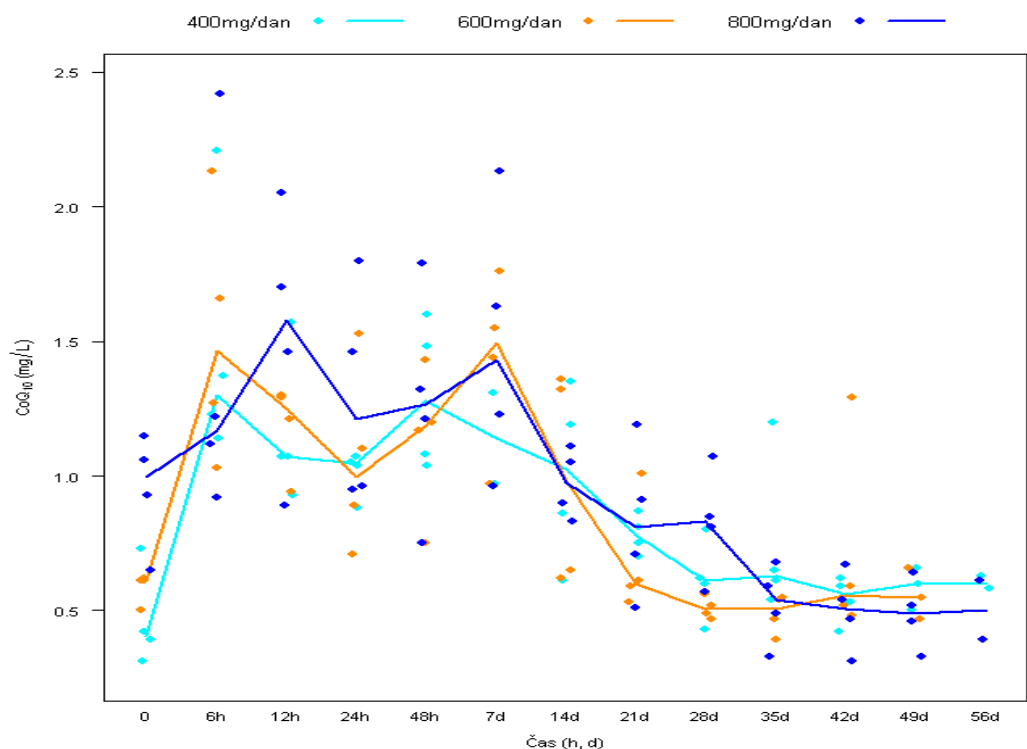
Legenda: ojačano – povprečna najvišja koncentracija koencima Q<sub>10</sub>; / – manjkajoči rezultat; h – ura; d – dan; Povprečje – povprečna vrednost.

Legend: bold – mean maximum concentration of coenzyme Q<sub>10</sub>; / – missing result; h – hour; d – day; Mean – mean value.

V skupini konj, ki je prejela 400 mg/dan koencima Q<sub>10</sub>, je bila izmerjena povprečna koncentracija koencima Q<sub>10</sub> (Slika 4) v plazmi pred prejemanjem koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani  $0,46 \pm 0,18$  mg/L (Tabela 6). Najvišja koncentracija v plazmi je bila dosežena 6 ur po prvem prejemanju koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani  $1,49 \pm 0,49$  mg/L, za tem so se koncentracije koencima Q<sub>10</sub> v plazmi nižale in v času po 14 dneh od začetka prejemanja dosegle povprečno vrednost  $1,00 \pm 0,33$  mg/L (Tabela 6).

V skupini konj, ki je prejela 600 mg/dan koencima Q<sub>10</sub>, je bila izmerjena povprečna koncentracija koencima Q<sub>10</sub> (Slika 4) v plazmi pred prejetjem koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani  $0,59 \pm 0,06$  mg/L (Tabela 6). Najvišja koncentracija v plazmi je bila dosežena 6 ur po prvem prejemanju koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani  $1,52 \pm 0,48$  mg/L, za tem so se koncentracije koencima Q<sub>10</sub> v plazmi nižale in v času po 14 dneh od začetka prejetja dosegle povprečno vrednost  $0,99 \pm 0,41$  mg/L (Tabela 6).

V skupini konj, ki je prejela 800 mg/dan koencima Q<sub>10</sub>, je bila izmerjena povprečna koncentracija koencima Q<sub>10</sub> (Slika 4) v plazmi pred prejetjem koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani  $0,95 \pm 0,22$  mg/L (Tabela 6). Najvišja koncentracija v plazmi je bila dosežena 12 ur po prvem prejemanju koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani  $1,53 \pm 0,49$  mg/L, za tem so se koncentracije koencima Q<sub>10</sub> v plazmi nižale in v času po 14 dneh od začetka prejetja dosegle povprečno vrednost  $0,97 \pm 0,13$  mg/L (Tabela 6).



Slika 4: Koncentracije koencima Q<sub>10</sub> (mg/L) pri konjih, ki so kot dodatek k prehrani prejeli različne koncentracije koencima Q<sub>10</sub> (400, 600 in 800 mg/L)

Figure 4: Coenzyme Q<sub>10</sub> concentrations (mg/L) in horses which received food supplements in form of different coenzyme Q<sub>10</sub> concentrations (400, 600 and 800 mg/L)

Legenda: CoQ<sub>10</sub> – koencim Q<sub>10</sub>; h – ura; d – dan; kvadrati – posamezne koncentracije koencima Q<sub>10</sub>; zvezne črte – povprečne koncentracije koencima Q<sub>10</sub>.

Legend: CoQ<sub>10</sub> – coenzyme Q<sub>10</sub>; h – hour; d – day; squares – individual coenzyme Q<sub>10</sub> concentration; the full lines – the mean concentrations of coenzyme Q<sub>10</sub>.

## 4.2 REZULTATI DRUGEGA SKLOPA

V drugi sklop raziskave smo vključili 40 konj.

### 4.2.1 Vrednosti telesne temperature, frekvence srčnega utripa in frekvence dihanja pred (čas t<sub>1</sub>) in po (čas t<sub>2</sub>) izbrani fizični aktivnosti

Izračunane povprečne spremembe telesne temperature, frekvence srčnega utripa in frekvence dihanja, merjene pred (čas t<sub>1</sub>) in po izbrani fizični aktivnosti (čas t<sub>2</sub>) v posameznih skupinah konj ter SD prikazujejo tabele 7, 8 in 9. Posamezne in izračunane povprečne spremembe telesne temperature, frekvence srčnega utripa in frekvence dihanja, merjene pred (čas t<sub>1</sub>) in po (čas t<sub>2</sub>) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj, prikazujejo slike 5, 6 in 7.

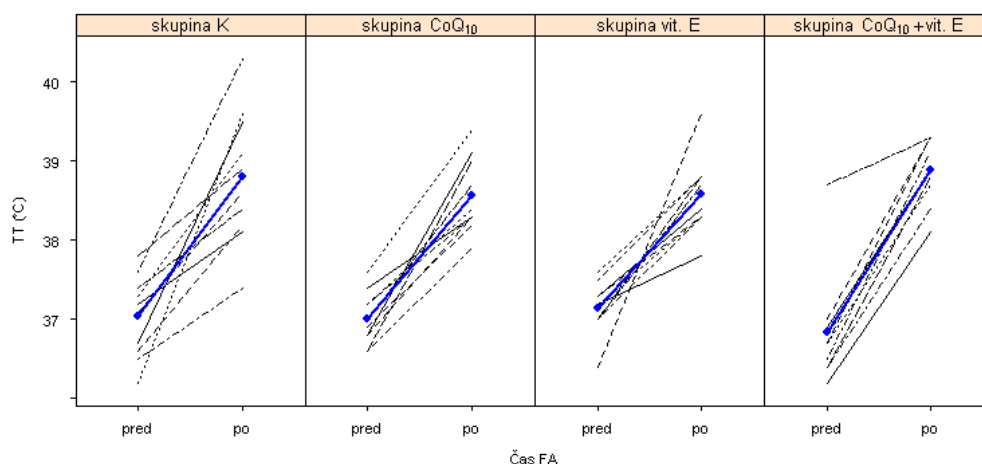
Tabela 7: Telesna temperatura (°C) (povprečje ± SD) pred (čas t<sub>1</sub>) in po (čas t<sub>2</sub>) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

Table 7: The body temperature (°C) (mean ± SD) before (time t<sub>1</sub>) and after (time t<sub>2</sub>) the selected physical activity in individual groups of horses

| Skupina / Group           | Telesna temperatura (°C) / Body temperature (°C) |                                          |
|---------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------|
|                           | Čas t <sub>1</sub> / Time t <sub>1</sub>         | Čas t <sub>2</sub> / Time t <sub>2</sub> |
| K                         | 37,04 ± 0,52                                     | 38,81 ± 0,85 <sup>x</sup>                |
| CoQ <sub>10</sub>         | 37,01 ± 0,33                                     | 38,56 ± 0,47 <sup>x</sup>                |
| vit. E                    | 37,15 ± 0,33                                     | 38,58 ± 0,48 <sup>x</sup>                |
| CoQ <sub>10</sub> +vit. E | 36,83 ± 0,70                                     | 38,88 ± 0,40 <sup>x</sup>                |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; <sup>x</sup> p<0,002 znotraj skupine.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; <sup>x</sup> p<0,002 within the group.



Slika 5: Telesna temperatura (°C) pred (čas  $t_1$ ) in po (čas  $t_2$ ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

Figure 5: Body temperatures (°C) before (time  $t_1$ ) and after (time  $t_2$ ) the selected physical activity in individual groups of horses

Legenda: modra črta – povprečna telesna temperatura (TT) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – telesne temperature pri posameznih konjih.

Legend: blue line – the mean body temperature (TT) of horses in each group; dashed lines – the body temperature for individual horses.

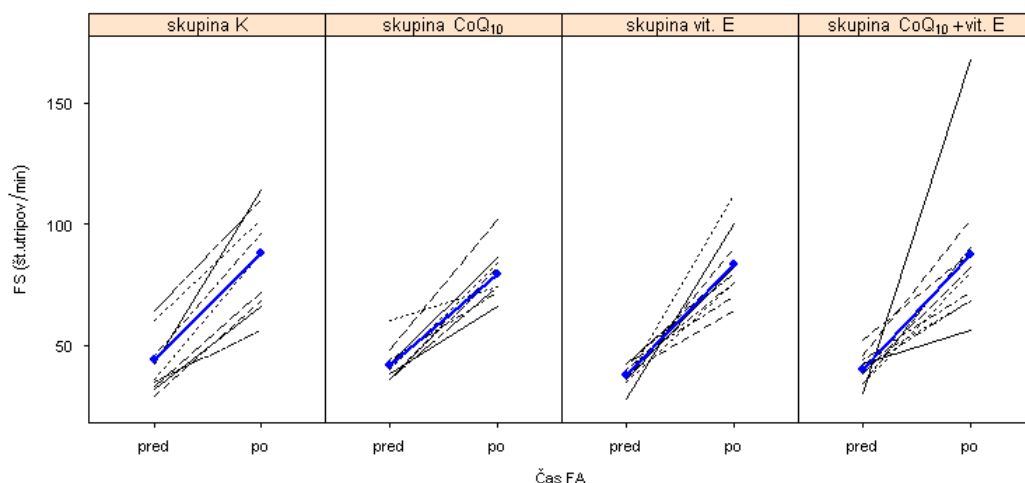
Tabela 8: Frekvence srčnega utripa (št. utripov/min) (povprečje  $\pm$  SD) pred (čas  $t_1$ ) in po (čas  $t_2$ ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

Table 8: The heart rate (number of beats/min) (mean  $\pm$  SD) before (time  $t_1$ ) and after (time  $t_2$ ) the selected physical activity in individual group of horses

| Skupina / Group           | Frekvenca srčnega utripa (število utripov/min) /<br>Heart rate (number of beats/min) |                                |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
|                           | Čas $t_1$ / Time $t_1$                                                               | Čas $t_2$ / Time $t_2$         |
| K                         | 44,10 $\pm$ 13,74                                                                    | 88,20 $\pm$ 21,26 <sup>x</sup> |
| CoQ <sub>10</sub>         | 41,60 $\pm$ 7,65                                                                     | 79,40 $\pm$ 10,02 <sup>x</sup> |
| vit. E                    | 37,50 $\pm$ 4,35                                                                     | 83,20 $\pm$ 14,21 <sup>x</sup> |
| CoQ <sub>10</sub> +vit. E | 40,20 $\pm$ 6,49                                                                     | 87,40 $\pm$ 31,23 <sup>x</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; <sup>x</sup>  $p < 0,002$  znotraj skupine.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; <sup>x</sup>  $p < 0,002$  within the group.



Slika 6: Frekvenca srčnega utripa (št. utripov/min) pred (čas  $t_1$ ) in po (čas  $t_2$ ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

Figure 6: Heart rate (number of beats/min) before (time  $t_1$ ) and after (time  $t_2$ ) the selected physical activity in individual groups of horses

Legenda: modra črta – povprečna frekvenca srčnega utripa (FS) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – frekvenca srčnega utripa pri posameznih konjih.

Legend: blue line – the mean heart rate (FS) of horses in each group; dashed lines – the heart rate for individual horses.

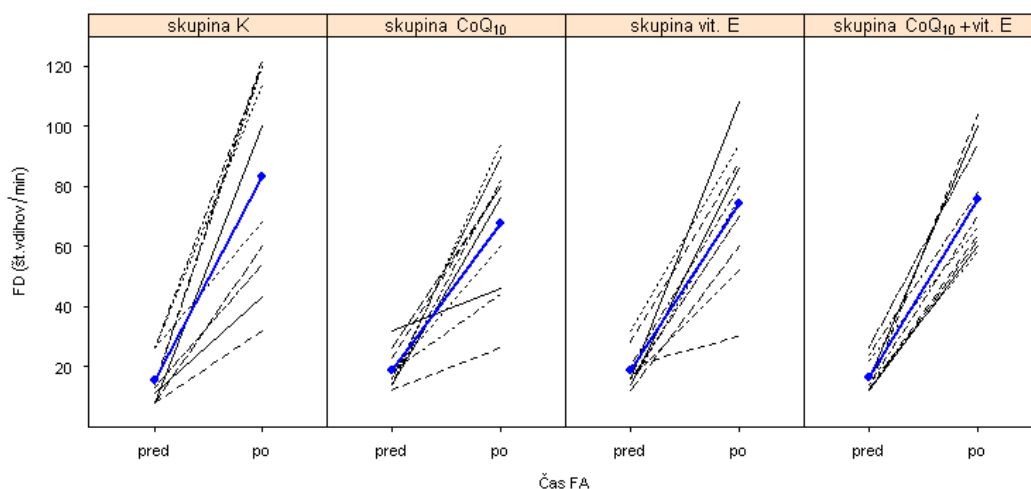
Tabela 9: Frekvence dihanja (št. vdihov/min) (povprečje  $\pm$  SD) pred (čas  $t_1$ ) in po (čas  $t_2$ ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

Table 9: The respiratory rate (number of breaths/min) (mean  $\pm$  SD) before (time  $t_1$ ) and after (time  $t_2$ ) the selected physical activity in individual groups of horses

| Skupina / Group                | Frekvenca dihanja (število vdihov/min) /<br>Respiratory rate (number of breaths/min) |                                |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
|                                | Čas $t_1$ / Time $t_1$                                                               | Čas $t_2$ / Time $t_2$         |
| <b>K</b>                       | 15,40 $\pm$ 7,68                                                                     | 83,30 $\pm$ 35,44 <sup>x</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 18,70 $\pm$ 6,40                                                                     | 67,80 $\pm$ 22,60 <sup>x</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 18,80 $\pm$ 6,48                                                                     | 74,40 $\pm$ 22,53 <sup>x</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 16,40 $\pm$ 5,48                                                                     | 75,60 $\pm$ 17,46 <sup>x</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; <sup>x</sup>  $p < 0,002$  znotraj skupine.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; <sup>x</sup>  $p < 0,002$  within the group.



Slika 7: Frekvenca dihanja (št. vdihov/min) pred (čas  $t_1$ ) in po (čas  $t_2$ ) izbrani fizični aktivnosti v posameznih skupinah konj

Figure 7: Respiratory rate (number of breaths/min) before (time  $t_1$ ) and after (time  $t_2$ ) the selected physical activity in individual groups of horses

Legenda: modra črta – povprečna frekvenca dihanja (FD) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – frekvenca dihanja pri posameznih konjih.

Legend: blue line – the mean respiratory rate (FD) of horses in each group; dashed lines – the respiratory rate for individual horses.

Po izbrani fizični aktivnosti so se vrednosti telesne temperature (Tabela 7, Slika 5), frekvenca srčnega utripa (Tabela 8, Slika 6) in frekvenca dihanja (Tabela 9, Slika 7) pri primerjavi z vrednostmi pred izbrano fizično aktivnostjo značilno povišale ( $p < 0,002$ ) v vseh skupinah konj ne glede na dodatek k prehrani.

## 4.2.2 Dodatka k prehrani

### 4.2.2.1 Koncentracija koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E

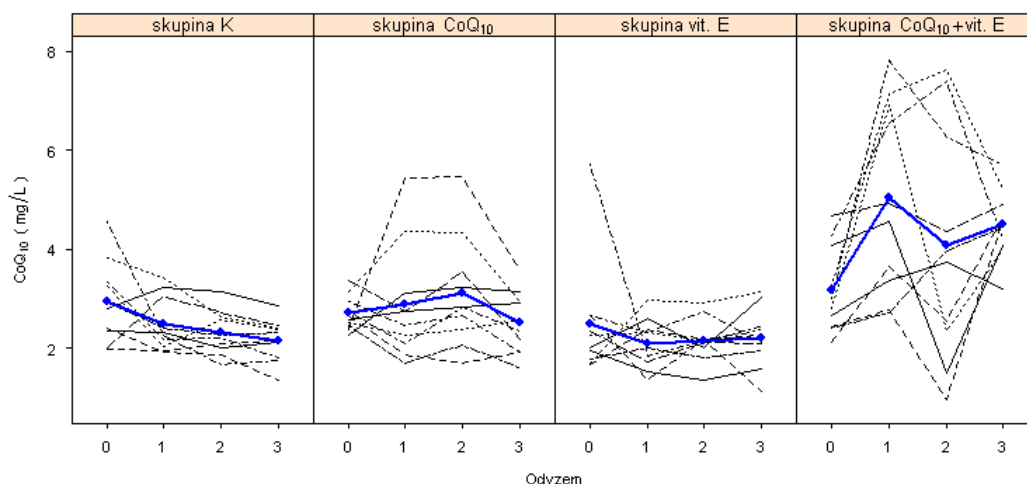
Izračunane povprečne koncentracije koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E, merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujeta tabeli 10 in 11. Spremembe koncentracije koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane njihove povprečne koncentracije za posamezno skupino konj prikazujeta sliki 8 in 9.

Tabela 10: Koncentracije koencima Q<sub>10</sub> (mg/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 10: The concentrations of coenzyme Q<sub>10</sub> (mg/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group           | Odvzem krvi / Blood sample collection |              |              |              |
|---------------------------|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
|                           | 0                                     | 1            | 2            | 3            |
| K                         | 2,94 ± 0,82                           | 2,48 ± 0,55  | 2,31 ± 0,45  | 2,16 ± 0,43  |
| CoQ <sub>10</sub>         | 2,70 ± 0,35                           | 2,88 ± 1,18  | 3,10 ± 1,11  | 2,51 ± 0,62  |
| vit. E                    | 2,47 ± 1,20                           | 2,10 ± 0,50  | 2,16 ± 0,43  | 2,21 ± 0,60  |
| CoQ <sub>10</sub> +vit. E | 3,17 ± 0,88                           | 5,04 ± 1,92* | 4,07 ± 2,36* | 4,49 ± 0,69* |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; \* p<0,05 pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; \* p<0,05 at certain blood collection time compared to the control group.



Slika 8: Koncentracije koencima Q<sub>10</sub> (mg/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 8: The concentrations of coenzyme Q<sub>10</sub> (mg/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija koencima Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracije koencima Q<sub>10</sub> pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) concentrations in horses in each group; dashed lines – coenzyme Q<sub>10</sub> concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Kljub manjšemu nihanju v koncentraciji koencima Q<sub>10</sub> med poskusom statistična analiza ni pokazala značilnih razlik (p>0,002) med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in skupinama CoQ<sub>10</sub> ter vit. E nismo ugotovili značilnih razlik (p>0,002) v koncentracijah koencima Q<sub>10</sub>; ugotovili smo značilno razliko (p<0,002) pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E. Nadaljnje post-hoc primerjave so pokazale

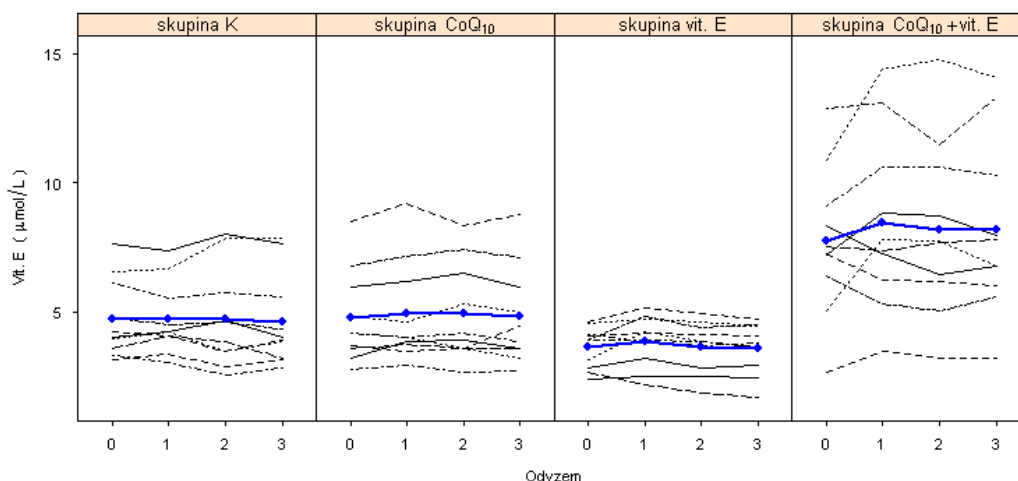
značilno nižjo ( $p < 0,05$ ) koncentracijo koencima Q<sub>10</sub> v kontrolni skupini pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E pri treh odvzemih po prejemanju dodatka (pri odvzemu 1, 2 in 3).

Tabela 11: Koncentracije vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
*Table 11: The concentrations of vitamin E ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment*

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                  |                  |                  |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                                | 0                                     | 1                | 2                | 3                |
| <b>K</b>                       | 4,75 $\pm$ 1,52                       | 4,69 $\pm$ 1,39  | 4,71 $\pm$ 1,93  | 4,64 $\pm$ 1,81  |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 4,77 $\pm$ 1,79                       | 4,91 $\pm$ 1,97  | 4,91 $\pm$ 1,89  | 4,82 $\pm$ 1,93  |
| <b>vit. E</b>                  | 3,63 $\pm$ 0,79                       | 3,87 $\pm$ 0,98  | 3,66 $\pm$ 0,98  | 3,59 $\pm$ 0,96  |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 7,73 $\pm$ 2,87*                      | 8,43 $\pm$ 3,41* | 8,19 $\pm$ 3,38* | 8,18 $\pm$ 3,43* |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; \*  $p < 0,05$  pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; \*  $p < 0,05$  at certain blood collection time compared to the control group.



Slika 9: Koncentracije vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Figure 9: The concentrations of vitamin E ( $\mu\text{mol/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment*

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija vitamina E (Vit. E) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracije vitamina E pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean vitamin E (Vit. E) concentrations in horses in each group; dashed lines – vitamin E concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Kljub manjšemu nihanju v koncentraciji vitamina E med poskusom statistična analiza ni pokazala značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in skupinama CoQ<sub>10</sub> ter vit. E nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentracijah vitamina E; ugotovili smo značilno razliko

( $p < 0,002$ ) pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E. Nadaljnje post-hoc primerjave so pokazale značilno nižjo ( $p < 0,05$ ) koncentracijo vitamina E v kontrolni skupini pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E pri vseh štirih odvzemih.

#### 4.2.3 Pokazatelj obsega lipidne peroksidacije

##### 4.2.3.1 Koncentracija malondialdehida

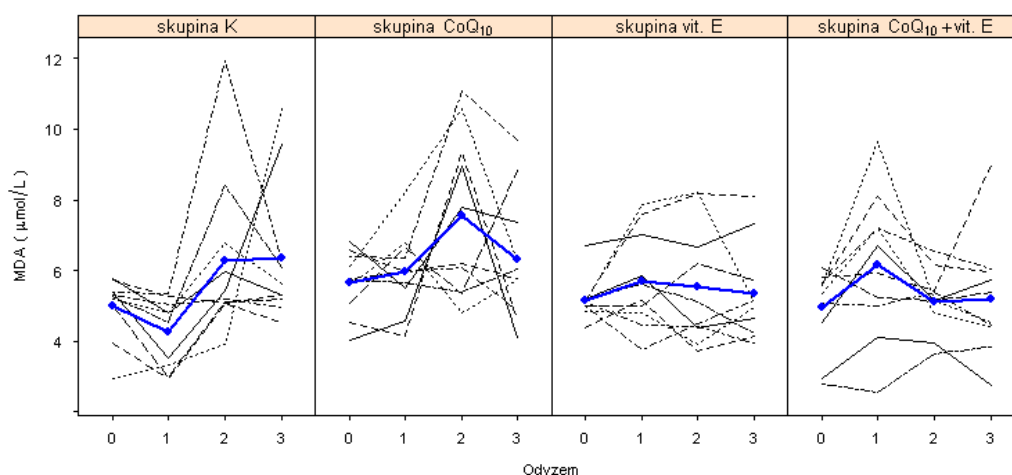
Izračunane povprečne koncentracije malondialdehida (MDA), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazuje tabela 12. Spremembe koncentracije MDA, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne koncentracije MDA za posamezno skupino konj prikazuje slika 10.

Tabela 12: Koncentracije MDA ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 12: The concentrations of MDA ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                                 |                              |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------|------------------------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2                               | 3                            |
| <b>K</b>                       | 4,99 $\pm$ 0,88                       | 4,26 $\pm$ 0,95 | 6,29 $\pm$ 2,33 <sup>x</sup>    | 6,34 $\pm$ 2,06 <sup>x</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 5,66 $\pm$ 0,90                       | 5,98 $\pm$ 1,15 | 7,55 $\pm$ 2,31 <sup>x,**</sup> | 6,33 $\pm$ 1,81              |
| <b>vit. E</b>                  | 5,16 $\pm$ 0,60                       | 5,71 $\pm$ 1,37 | 5,53 $\pm$ 1,68                 | 5,34 $\pm$ 1,37              |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 4,94 $\pm$ 1,17                       | 6,17 $\pm$ 2,05 | 5,13 $\pm$ 0,87                 | 5,21 $\pm$ 1,67              |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>\*\*</sup>  $p < 0,05$  pri določenem odvzemu pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E; MDA – malondialdehid.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1; <sup>\*\*</sup>  $p < 0,05$  at certain blood collection time compared to the group CoQ<sub>10</sub>+vit. E; MDA – malondialdehyde.



Slika 10: Koncentracije MDA ( $\mu\text{mol/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 10: The concentrations of MDA ( $\mu\text{mol/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija malondialdehida (MDA) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracije MDA pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean malondialdehyde (MDA) concentrations in horses in each group; dashed lines – the MDA concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji MDA med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placebo oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) v nobeni skupini nismo ugotovili značilnih sprememb ( $p > 0,05$ ) v koncentraciji MDA. Značilno ( $p < 0,05$ ) so se povišale koncentracije MDA po fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>, medtem ko je bilo povišanje tega parametra v skupini vit. E in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E neznačilno ( $p > 0,05$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) so koncentracije MDA ostale statistično nespremenjene ( $p > 0,05$ ). V kontrolni skupini je bila koncentracija MDA značilno višja ( $p < 0,05$ ) po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3) pri primerjavi pred fizično aktivnostjo, medtem ko v ostalih skupinah nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,05$ ).

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji MDA.

Primerjava koncentracije MDA med skupino CoQ<sub>10</sub> in skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E po posameznih odvzemih je pokazala značilno ( $p < 0,05$ ) višjo koncentracijo MDA po fizični aktivnosti

(odvzem 2) v skupini CoQ<sub>10</sub>, medtem ko med skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E in skupino vit. E nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,05$ ) v koncentraciji MDA.

#### 4.2.4 Antioksidativni parametri

##### 4.2.4.1 Koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete

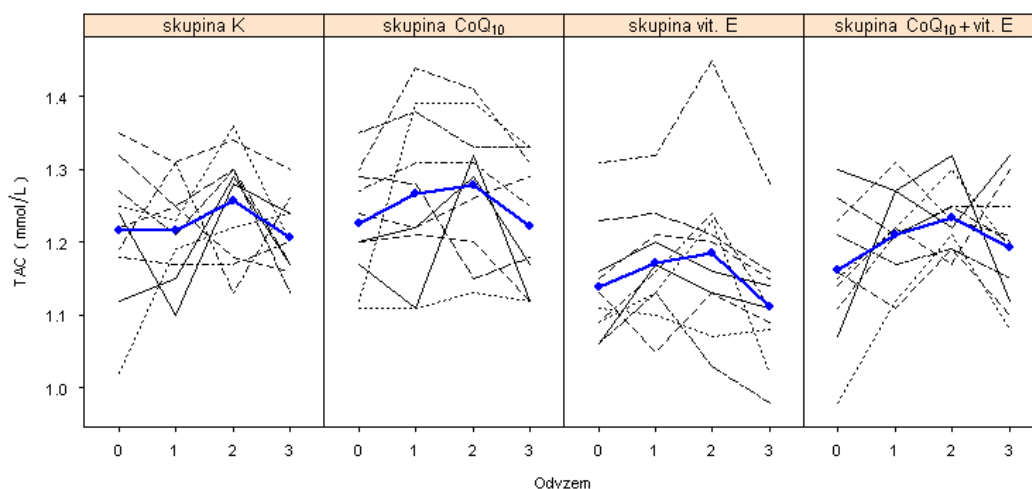
Izračunane povprečne koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete (TAC), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazuje tabela 13. Spremembe koncentracije TAC, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne koncentracije TAC za posamezno skupino konj prikazuje slika 11.

Tabela 13: Koncentracije TAC (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
*Table 13: The concentrations of TAC (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment*

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                 |                              |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2               | 3                            |
| <b>K</b>                       | 1,22 $\pm$ 0,09                       | 1,22 $\pm$ 0,07 | 1,26 $\pm$ 0,77 | 1,21 $\pm$ 0,05              |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 1,22 $\pm$ 0,08                       | 1,27 $\pm$ 0,12 | 1,28 $\pm$ 0,09 | 1,22 $\pm$ 0,09              |
| <b>vit. E</b>                  | 1,14 $\pm$ 0,08                       | 1,17 $\pm$ 0,08 | 1,18 $\pm$ 0,11 | 1,11 $\pm$ 0,08 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 1,16 $\pm$ 0,09                       | 1,21 $\pm$ 0,06 | 1,23 $\pm$ 0,05 | 1,19 $\pm$ 0,08              |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; TAC – celokupna antioksidativna kapaciteta.

*Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  within the group comparing blood collection times 2 and 3; TAC – total antioxidant capacity.*



Slika 11: Koncentracije TAC (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 11: The concentrations of TAC (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija celokupne antioksidativne kapacitete (TAC) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracije TAC pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean total antioxidant capacity (TAC) concentrations in horses in each group; dashed lines – the TAC concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji TAC, izmerjene po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3), medtem ko med ostalimi odvzemi ni bilo značilnih razlik v nobeni preiskovani skupini konj. Nadaljnje post-hoc primerjave so pokazale, da se je koncentracija TAC značilno znižala ( $p < 0,05$ ) po 24-urnem počitku le v skupini vit. E, medtem ko je bilo znižanje tega parametra v ostalih skupinah neznačilno ( $p > 0,05$ ).

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji TAC. Prav tako nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E in skupinama CoQ<sub>10</sub> in vit. E pri posameznih odvzemih.

#### 4.2.4.2 Aktivnosti glutation peroksidaze in superoksid dismutaze

Izračunane povprečne aktivnosti glutation peroksidaze (GSH-Px) in superoksid dismutaze (SOD), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujeta tabeli 14 in 15. Spremembe aktivnosti GSH-Px in SOD, merjene med poskusom pri posameznih konjih

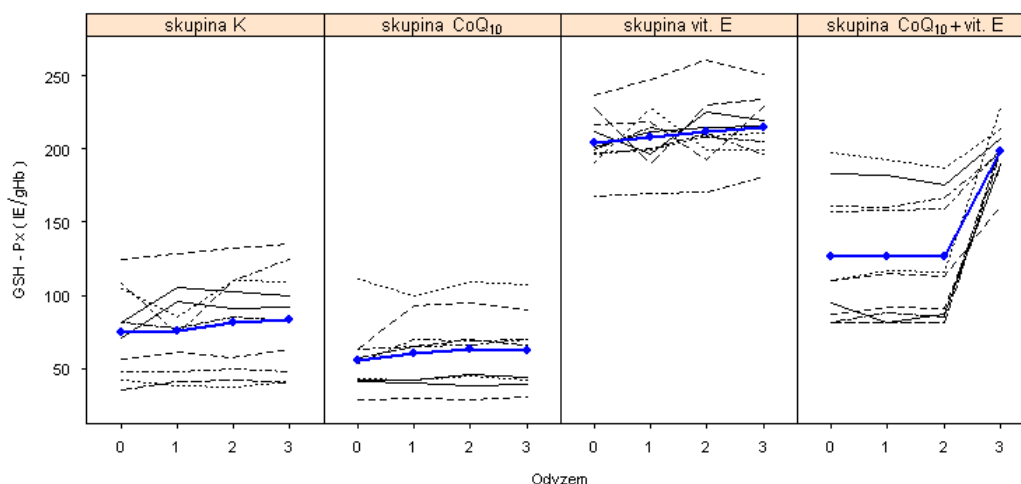
preiskovanih skupin, in izračunane njihove povprečne aktivnosti za posamezno skupino konj prikazujeta sliki 12 in 13.

Tabela 14: Aktivnosti GSH-Px (IE/g Hb) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 14: The GSH-Px activities (IE/g Hb) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                   |                   |                                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|
|                                | 0                                     | 1                 | 2                 | 3                               |
| <b>K</b>                       | 75,18 ± 30,16                         | 75,59 ± 29,46     | 81,77 ± 33,05     | 83,68 ± 34,49                   |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 55,99 ± 23,63**                       | 60,72 ± 24,41**   | 63,13 ± 26,44**   | 62,24 ± 25,31**                 |
| <b>vit. E</b>                  | 204,58 ± 19,67***                     | 207,64 ± 21,59*** | 212,17 ± 24,02*** | 214,21 ± 20,15*                 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 126,37 ± 44,06*                       | 126,83 ± 42,80*   | 126,26 ± 41,62*   | 198,27 ± 17,39 <sup>x,y,*</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; \* p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; \* p<0,05 pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino; \*\* p<0,05 pri določenem odvzemu pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E; GSH-Px – glutation peroksidaza.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; \* p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; \* p<0,05 at certain blood collection time compared to the control group; \*\* p<0,05 at certain blood collection time compared to the group CoQ<sub>10</sub>+vit. E; GSH-Px – glutathione peroxidase.



Slika 12: Aktivnosti GSH-Px (IE/g Hb) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Figure 12: The GSH-Px activities (IE/g Hb) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna aktivnost glutation peroksidaze (GSH-Px) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – aktivnosti GSH-Px pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in horses in each group; dashed lines – the GSH-Px activities in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike (p<0,002) v aktivnosti GSH-Px med posameznimi odvzemi v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) in po fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) v nobeni skupini nismo ugotovili značilnih sprememb ( $p > 0,05$ ) v aktivnosti GSH-Px. Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je aktivnost GSH-Px v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E značilno povišala ( $p < 0,05$ ), medtem ko je bilo povišanje tega parametra v ostalih skupinah neznačilno ( $p > 0,05$ ). Aktivnosti GSH-Px, izmerjene pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), so se v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E značilno povišale ( $p < 0,05$ ), medtem ko se v ostalih skupinah konj niso značilno razlikovale ( $p > 0,05$ ).

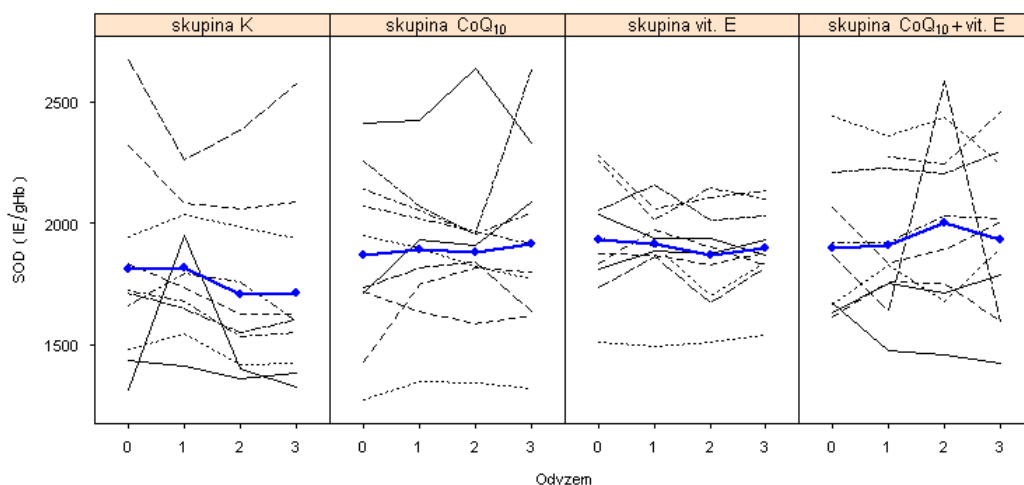
V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in skupino CoQ<sub>10</sub> nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v aktivnosti GSH-Px, medtem ko je bila razlika pri primerjavi s skupino vit. E in skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E značilna ( $p < 0,002$ ). Nadaljnje post-hoc primerjave so v kontrolni skupini konj pri primerjavi s skupino vit. E in skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E pokazale značilno nižjo ( $p < 0,05$ ) aktivnost GSH-Px pri vseh štirih odvzemih. Prav tako smo ugotovili značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v aktivnosti GSH-Px med skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E in skupinama CoQ<sub>10</sub> ter vit. E. Post-hoc primerjave so v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub> pokazale značilno višjo ( $p < 0,05$ ) aktivnost GSH-Px pri vseh štirih odvzemih, pri primerjavi s skupino vit. E pri treh odvzemih (pri odvzemu 0,1 in 2).

Tabela 15: Aktivnosti SOD (IE/g Hb) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 15: The SOD activities (IE/g Hb) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                      |                      |                      |
|--------------------------------|---------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                                | 0                                     | 1                    | 2                    | 3                    |
| <b>K</b>                       | 1809,77 $\pm$ 415,43                  | 1814,53 $\pm$ 263,69 | 1707,13 $\pm$ 336,27 | 1710,58 $\pm$ 384,22 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 1870,40 $\pm$ 360,86                  | 1894,51 $\pm$ 287,74 | 1882,32 $\pm$ 328,84 | 1915,72 $\pm$ 378,42 |
| <b>vit. E</b>                  | 1932,62 $\pm$ 234,94                  | 1915,64 $\pm$ 175,86 | 1869,67 $\pm$ 200,15 | 1896,96 $\pm$ 169,12 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 1898,04 $\pm$ 291,39                  | 1906,71 $\pm$ 290,63 | 1999,76 $\pm$ 362,35 | 1932,35 $\pm$ 337,06 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; SOD – superoksid dismutaza.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; SOD – superoxide dismutase.



Slika 13: Aktivnosti SOD (IE/g Hb) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 13: The SOD activities (IE/g Hb) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna aktivnost superoksid dismutaze (SOD) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – aktivnosti SOD pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean superoxide dismutase (SOD) activities in horses in each group; dashed lines – the SOD activities in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Kljub manjšemu nihanju aktivnosti SOD med poskusom statistična analiza ni pokazala značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v aktivnosti SOD. Prav tako nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E in skupinama CoQ<sub>10</sub> ter vit. E pri posameznih odvzemih.

#### 4.2.5 Hematološki parametri

##### 4.2.5.1 Številčna koncentracija eritrocitov, koncentracija hemoglobina in delež hematokrita

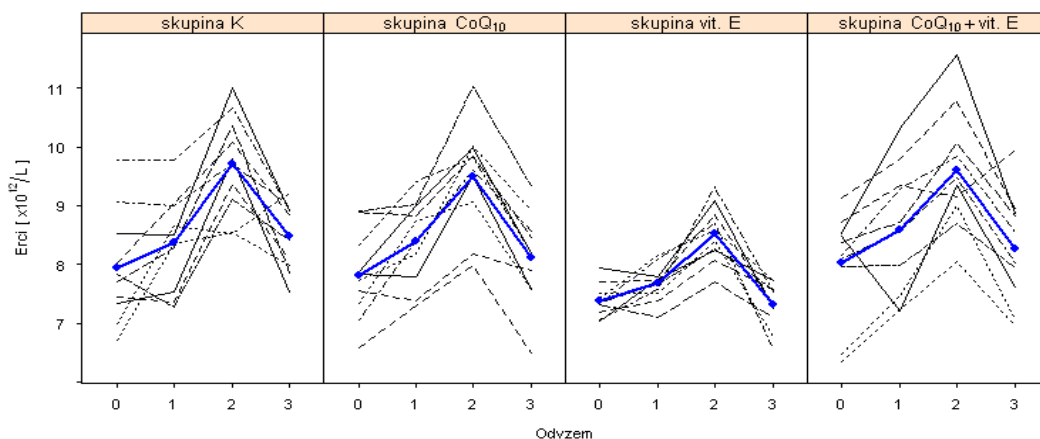
Izračunane povprečne številčne koncentracije eritrocitov (Erci), koncentracije hemoglobina (Hb) in deleža hematokrita (Ht), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujejo tabele 16, 17 in 18. Spremembe številčne koncentracije Erci, koncentracije Hb in deleža Ht, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane njihove povprečne vrednosti prikazujejo slike 14, 15 in 16.

Tabela 16: Številčne koncentracije Erci ( $\times 10^{12}/L$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 16: The numerical concentrations of RBCs ( $\times 10^{12}/L$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                              |                              |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2                            | 3                            |
| <b>K</b>                       | 7,94 $\pm$ 0,94                       | 8,37 $\pm$ 0,81 | 9,72 $\pm$ 0,84 <sup>x</sup> | 8,48 $\pm$ 0,59 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 7,81 $\pm$ 0,75 <sup>x</sup>          | 8,40 $\pm$ 0,72 | 9,50 $\pm$ 0,91 <sup>x</sup> | 8,12 $\pm$ 0,79 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 7,38 $\pm$ 0,28                       | 7,67 $\pm$ 0,31 | 8,52 $\pm$ 0,49 <sup>x</sup> | 7,31 $\pm$ 0,40 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 8,02 $\pm$ 0,91 <sup>x</sup>          | 8,59 $\pm$ 1,01 | 9,60 $\pm$ 1,02 <sup>x</sup> | 8,27 $\pm$ 0,93 <sup>y</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; Erci – eritrociti.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; RBCs – Red blood cells.



Slika 14: Številčne koncentracije Erci ( $\times 10^{12}/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 14: The numerical concentrations of RBCs ( $\times 10^{12}/L$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna številčna koncentracija eritrocitov (Erci) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – številčne koncentracije Erci pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

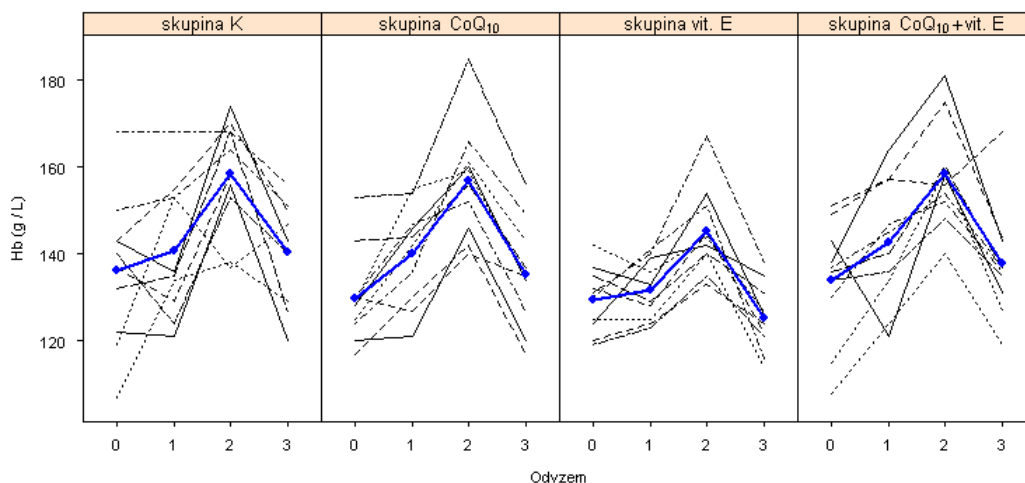
Legend: blue line – the mean numerical red blood cells (RBCs) concentrations in horses in each group; dashed lines – the numerical concentrations of RBCs in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Tabela 17: Koncentracije Hb (g/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 17: The Hb concentrations (g/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                    |                                 |                                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|                                | 0                                     | 1                  | 2                               | 3                               |
| <b>K</b>                       | 136,10 $\pm$ 17,24                    | 140,80 $\pm$ 15,48 | 158,60 $\pm$ 12,92 <sup>x</sup> | 140,30 $\pm$ 11,66 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 129,90 $\pm$ 10,71 <sup>x</sup>       | 140,20 $\pm$ 11,41 | 156,70 $\pm$ 13,14 <sup>x</sup> | 135,20 $\pm$ 12,11 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 129,50 $\pm$ 7,47                     | 131,80 $\pm$ 6,91  | 145,10 $\pm$ 10,03 <sup>x</sup> | 125,40 $\pm$ 7,72 <sup>y</sup>  |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 134,10 $\pm$ 13,65 <sup>x</sup>       | 142,50 $\pm$ 14,28 | 158,30 $\pm$ 12,03 <sup>x</sup> | 137,70 $\pm$ 12,94 <sup>y</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; Hb – hemoglobin.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; Hb – haemoglobine.



Slika 15: Koncentracije Hb (g/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 15: The Hb concentrations (g/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija hemoglobina (Hb) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracije Hb pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean haemoglobine (Hb) concentrations in horses in each group; dashed lines – the Hb concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

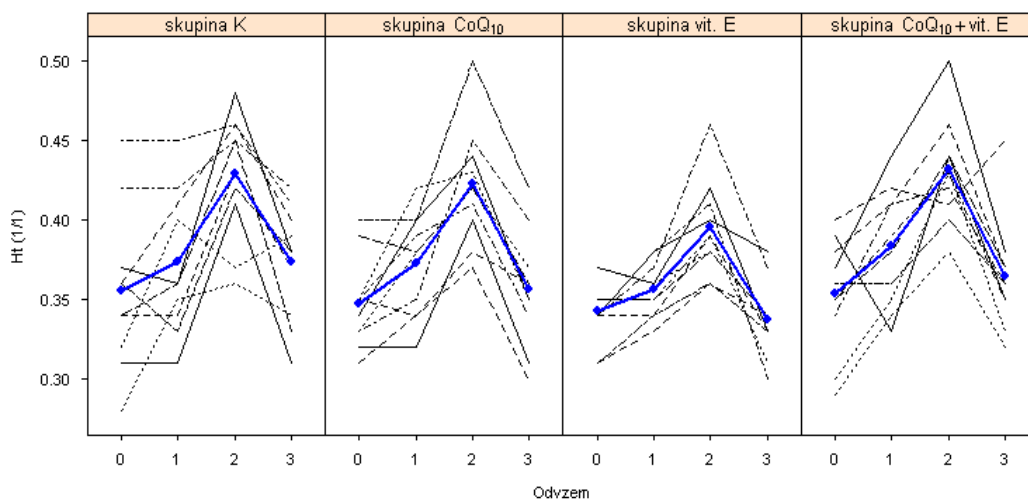
Tabela 18: Deleži Ht (1/1) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

Table 18: The shares of Ht (1/1) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |             |                          |                          |
|--------------------------------|---------------------------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|
|                                | 0                                     | 1           | 2                        | 3                        |
| <b>K</b>                       | 0,35 ± 0,05                           | 0,37 ± 0,04 | 0,43 ± 0,04 <sup>x</sup> | 0,37 ± 0,03 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 0,35 ± 0,03 <sup>x</sup>              | 0,37 ± 0,03 | 0,42 ± 0,04 <sup>x</sup> | 0,36 ± 0,04 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 0,34 ± 0,02                           | 0,36 ± 0,02 | 0,39 ± 0,03 <sup>x</sup> | 0,34 ± 0,02 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 0,35 ± 0,03 <sup>x</sup>              | 0,38 ± 0,04 | 0,43 ± 0,03 <sup>x</sup> | 0,36 ± 0,03 <sup>y</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; Ht – hematokrit.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; Ht – hematocrit.



Slika 16: Deleži Ht (1/1) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 16: The Ht shares (1/1) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečni deleži hematokrita (Ht) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – deleži Ht pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean hematocrite (Ht) shares in horses in each group; dashed lines – Ht shares in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v številčni koncentraciji Erci, koncentraciji Hb in deležu Ht med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo v skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E ugotovili značilno povišanje ( $p < 0,05$ ) številčne koncentracije Erci, koncentracije Hb in deleže Ht, medtem ko je bilo v ostalih dveh skupinah povišanje vrednosti teh hematoloških parametrov neznačilno ( $p > 0,05$ ). Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) so se številčne koncentracije Erci, koncentracije Hb in deleži Ht značilno ( $p < 0,05$ ) povišali v vseh skupinah konj, po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) pa značilno znižali ( $p < 0,05$ ) na raven pred izbrano fizično aktivnostjo v vseh skupinah konj. Številčne koncentracije Erci, koncentracije Hb in deleži Ht, izmerjeni pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se niso značilno razlikovali ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v številčni koncentraciji Erci, koncentraciji Hb in deležu Ht.

#### 4.2.5.2 Številčna koncentracija levkocitov

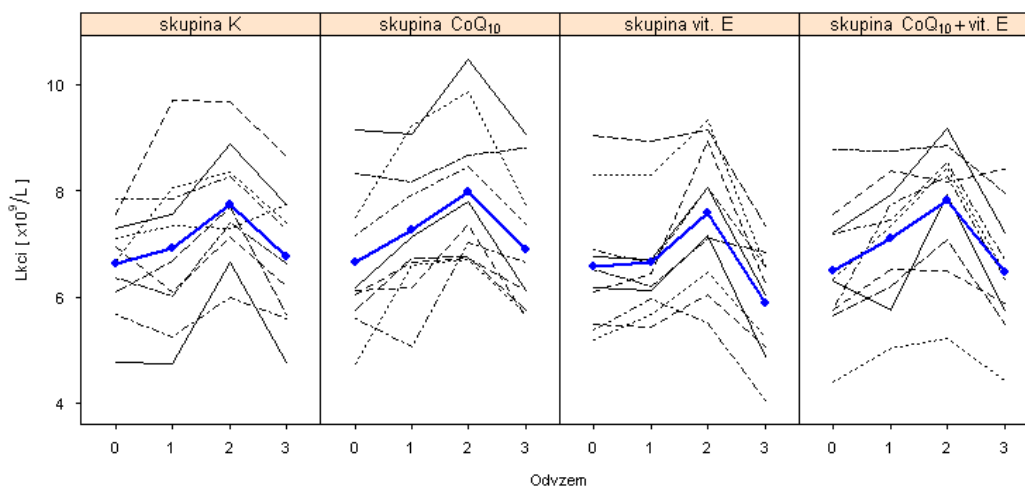
Izračunane povprečne številčne koncentracije levkocitov (Lkci), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazuje tabela 19. Spremembe številčne koncentracije Lkci, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne številčne koncentracije Lkci prikazuje slika 17.

Tabela 19: Številčne koncentracije Lkci ( $\times 10^9/L$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 19: The numerical concentrations of WBCs ( $\times 10^9/L$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                              |                                |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------------------------|--------------------------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2                            | 3                              |
| <b>K</b>                       | 6,63 $\pm$ 0,93                       | 6,92 $\pm$ 1,47 | 7,73 $\pm$ 1,08 <sup>x</sup> | 6,76 $\pm$ 1,19 <sup>y</sup>   |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 6,65 $\pm$ 1,35 <sup>x</sup>          | 7,26 $\pm$ 1,31 | 7,98 $\pm$ 1,36 <sup>x</sup> | 6,88 $\pm$ 1,29 <sup>y</sup>   |
| <b>vit. E</b>                  | 6,58 $\pm$ 1,25                       | 6,64 $\pm$ 1,12 | 5,57 $\pm$ 1,34 <sup>x</sup> | 5,89 $\pm$ 1,03 <sup>x,y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 6,49 $\pm$ 1,23 <sup>x</sup>          | 7,11 $\pm$ 1,19 | 7,80 $\pm$ 1,21 <sup>x</sup> | 6,45 $\pm$ 1,18 <sup>x,y</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; Lkci – levkociti.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; WBCs – White blood cells.



Slika 17: Številčne koncentracije Lkci ( $\times 10^9/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 17: The numerical concentrations of WBCs ( $\times 10^9/L$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna številčna koncentracija levkocitov (Lkci) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – številčne koncentracije Lkci pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean numerical White blood cells (WBCs) concentrations in horses in each group; dashed lines – the numerical concentrations of WBCs in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v številčni koncentraciji Lkci med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo v skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E ugotovili značilno povišanje ( $p < 0,05$ ) številčne koncentracije Lkci, medtem ko je bilo v ostalih dveh skupinah povišanje številčne koncentracije Lkci neznatno ( $p > 0,05$ ). Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) so se vrednosti številčne koncentracije Lkci značilno ( $p < 0,05$ ) povišale v vseh skupinah konj, po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) pa so se značilno znižale ( $p < 0,05$ ) pod raven pred izbrano fizično aktivnostjo. Številčne koncentracije Lkci izmerjene po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), so bile značilno nižje kot pred fizično aktivnostjo ( $p < 0,05$ ) v skupinah konj, ki sta prejemale vit. E in kombinacijo CoQ<sub>10</sub> ter vit. E, medtem ko je bilo v ostalih dveh skupinah znižanje številčne koncentracije Lkci neznatno ( $p > 0,05$ ).

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E, in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v številčni koncentraciji Lkci.

#### 4.2.5.3 Številčna koncentracija trombocitov

Izračunane povprečne številčne koncentracije trombocitov (Trci), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazuje tabela 20. Spremembe številčne koncentracije trombocitov, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne številčne koncentracije trombocitov prikazuje slika 18.

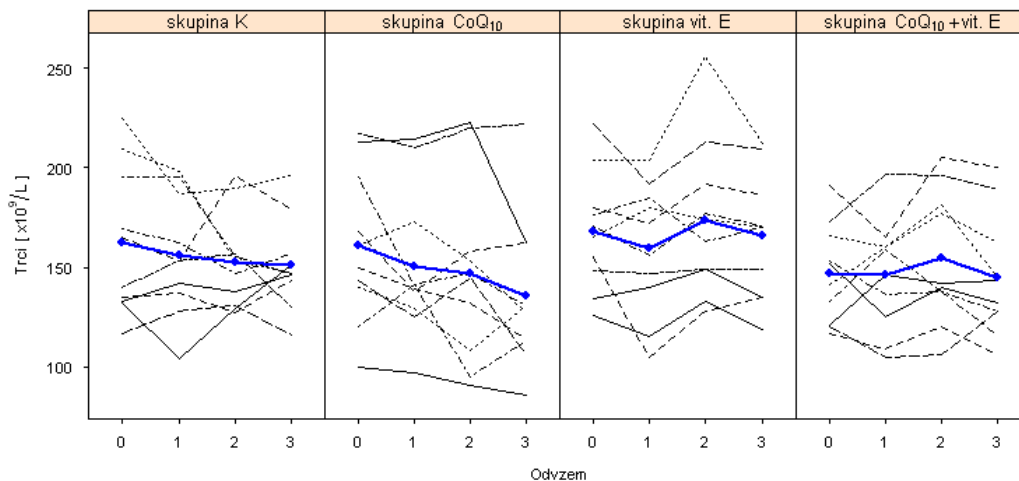
Tabela 20: Številčne koncentracije trombocitov ( $\times 10^9/L$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

Table 20: The numerical platelets concentrations ( $\times 10^9/L$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                    |                    |                    |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                                | 0                                     | 1                  | 2                  | 3                  |
| <b>K</b>                       | 162,00 $\pm$ 36,97                    | 155,90 $\pm$ 30,45 | 152,30 $\pm$ 24,11 | 151,20 $\pm$ 22,68 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 160,70 $\pm$ 38,49                    | 150,70 $\pm$ 37,30 | 147,20 $\pm$ 45,77 | 135,40 $\pm$ 38,42 |
| <b>vit. E</b>                  | 168,10 $\pm$ 29,68                    | 159,60 $\pm$ 32,93 | 173,40 $\pm$ 39,08 | 165,60 $\pm$ 31,34 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 146,70 $\pm$ 24,88                    | 146,20 $\pm$ 28,11 | 154,30 $\pm$ 33,22 | 144,90 $\pm$ 30,48 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.



Slika 18: Številčne koncentracije trombocitov ( $\times 10^9/L$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 18: The numerical platelets concentrations ( $\times 10^9/L$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna številčna koncentracija trombocitov (Trci) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – številčne koncentracije trombocitov pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean numerical platelets (Trci) concentrations in horses in each group; dashed lines – numerical platelets concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Kljub manjšemu nihanju številčne koncentracije trombocitov med poskusom statistična analiza ni pokazala značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v številčni koncentraciji trombocitov.

#### 4.2.5.4 Razmerje nevtrofilci/limfociti

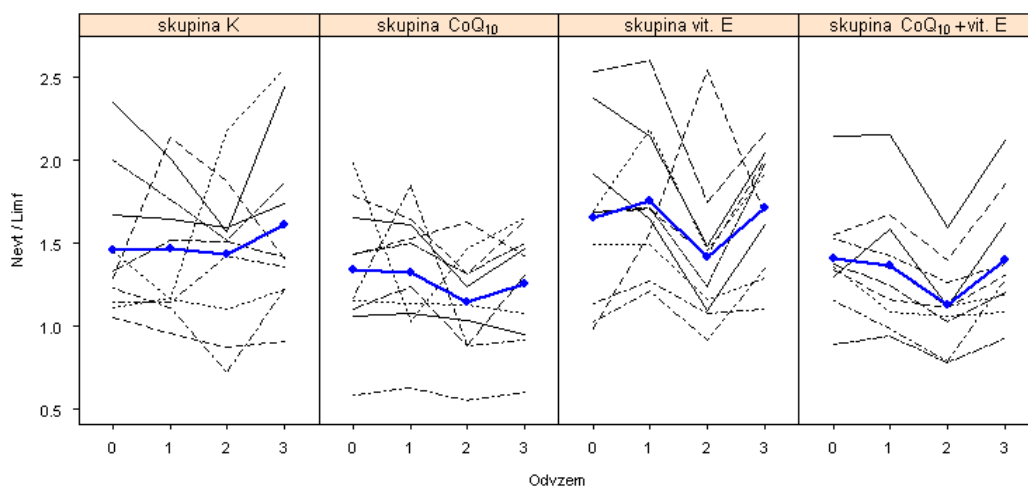
Izračunana povprečna razmerja nevtrofilcev/limfocitov (Nevt/Limf) v posameznih skupinah konj ter SD prikazuje tabela 21. Spremembe razmerja nevtrofilcev/limfocitov med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin in izračunana povprečna razmerja prikazuje slika 19.

Tabela 21: Razmerja nevtrofilci/limfociti (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 21: The ratio of neutrophil/lymphocyte (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |             |                          |                          |
|--------------------------------|---------------------------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|
|                                | 0                                     | 1           | 2                        | 3                        |
| <b>K</b>                       | 1,46 ± 0,42                           | 1,46 ± 0,41 | 1,44 ± 0,44              | 1,61 ± 0,54              |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 1,34 ± 0,41                           | 1,33 ± 0,37 | 1,14 ± 0,32              | 1,26 ± 0,35              |
| <b>vit. E</b>                  | 1,65 ± 0,53                           | 1,75 ± 0,44 | 1,41 ± 0,46 <sup>x</sup> | 1,71 ± 0,37 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 1,40 ± 0,32                           | 1,36 ± 0,37 | 1,13 ± 0,25              | 1,39 ± 0,37              |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3.



Slika 19: Razmerje nevtrofilci/limfociti v posameznih skupinah konj med poskusom  
Figure 19: The neutrophils/lymphocytes ratio in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečno razmerje nevtrofilci/limfociti (Nevt/Limf) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – razmerja nevtrofilci/limfociti pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean neutrophils/lymphocytes (Nevt/Lymph) ratio in horses in each group; dashed lines – neutrophils/lymphocytes ratio in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p<0,002$ ) v razmerju nevtrofilci/limfociti med posameznimi odvzemi v skupini vit. E. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) v nobeni skupini konj nismo ugotovili značilnih sprememb ( $p>0,05$ ) v razmerju nevtrofilci/limfociti. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) smo v

skupini vit. E ugotovili značilno znižanje ( $p < 0,05$ ) razmerja nevtrofilci/limfociti, medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah znižanje razmerja nevtrofilci/limfociti neznačilno ( $p > 0,05$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je razmerje nevtrofilci/limfociti v skupini vit. E. značilno povišalo ( $p < 0,05$ ) na raven pred izbrano fizično aktivnostjo, medtem ko v vseh ostalih skupinah nismo ugotovili značilnih sprememb ( $p > 0,05$ ). Razmerja nevtrofilci/limfociti, izračunana pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se niso značilno razlikovala ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v razmerjih nevtrofilci/limfociti.

#### 4.2.6 Biokemijski parametri

##### 4.2.6.1 Koncentracija albumina in celokupnih proteinov

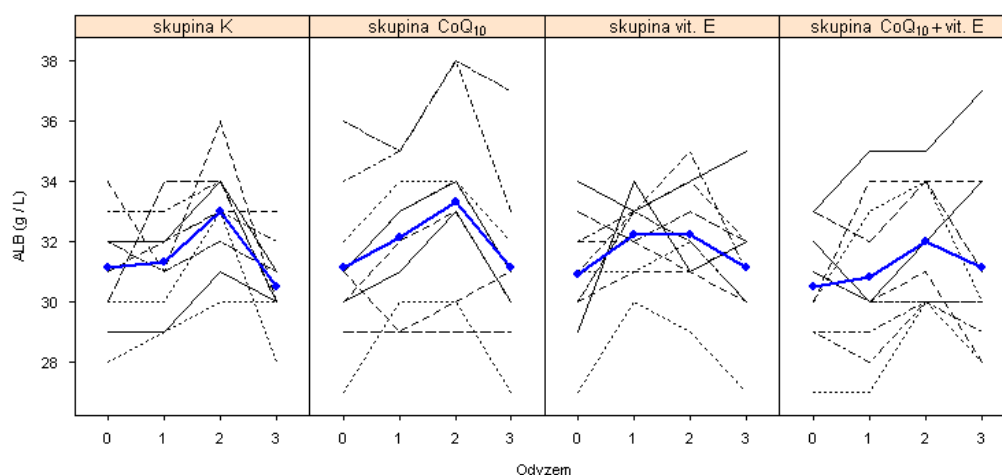
Izračunane povprečne koncentracije albumina (ALB) in celokupnih proteinov (TP), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujeta tabeli 22 in 23. Spremembe koncentracije ALB in TP, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne koncentracije ALB in TP prikazujeta sliki 20 in 21.

Tabela 22: Koncentracije ALB (g/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 22: The ALB concentrations (g/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                  |                               |                               |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                                | 0                                     | 1                | 2                             | 3                             |
| <b>K</b>                       | 31,10 $\pm$ 1,85                      | 31,30 $\pm$ 1,64 | 33,00 $\pm$ 1,70 <sup>x</sup> | 30,50 $\pm$ 1,35 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 31,10 $\pm$ 2,51                      | 32,10 $\pm$ 2,28 | 33,30 $\pm$ 3,09              | 31,10 $\pm$ 2,64 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 30,90 $\pm$ 2,02                      | 32,20 $\pm$ 1,23 | 32,20 $\pm$ 1,81              | 31,10 $\pm$ 2,08              |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 30,50 $\pm$ 1,90                      | 30,80 $\pm$ 2,61 | 32,00 $\pm$ 2,05              | 31,10 $\pm$ 2,96              |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; ALB – albumin.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  within the group comparing blood collection times 2 and 3; ALB – albumin.



Slika 20: Koncentracije ALB (g/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 20: The ALB concentrations (g/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija albumina (ALB) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – povprečna koncentracija ALB pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean albumin (ALB) concentrations in horses in each group; dashed lines – the ALB concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji ALB med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

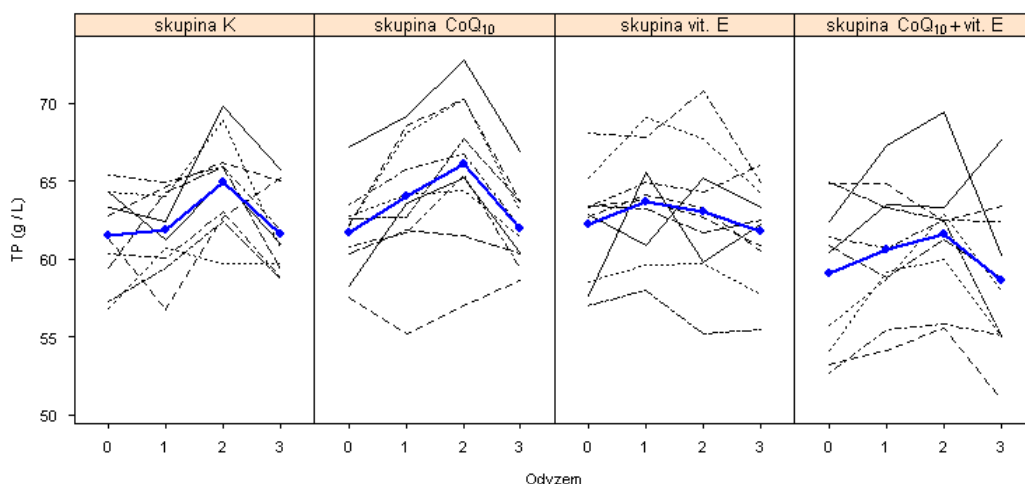
Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) nismo ugotovili značilnih sprememb ( $p > 0,05$ ) koncentracij ALB v nobeni skupini konj. V kontrolni skupini smo ugotovili značilno povišanje ( $p < 0,05$ ) koncentracije ALB po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2), medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah povišanje koncentracije ALB neznačilno ( $p > 0,05$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub> koncentracija ALB značilno znižala ( $p < 0,05$ ), medtem ko je bilo znižanje koncentracije ALB neznačilno ( $p > 0,05$ ) v ostalih dveh skupinah. Koncentracija ALB, izmerjena pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se ni značilno razlikovala ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

Tabela 23: Koncentracije TP (g/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 23: The TP concentrations (g/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |              |                           |                           |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|
|                                | 0                                     | 1            | 2                         | 3                         |
| <b>K</b>                       | 61,52 ± 3,01                          | 61,84 ± 2,70 | 64,95 ± 3,08 <sup>x</sup> | 61,60 ± 2,74 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 61,72 ± 2,74 <sup>x</sup>             | 64,07 ± 4,16 | 66,11 ± 4,59              | 61,96 ± 2,48 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 62,21 ± 3,50                          | 63,70 ± 3,47 | 63,04 ± 4,38              | 61,77 ± 3,25              |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 59,05 ± 4,71                          | 60,59 ± 4,15 | 61,56 ± 3,94              | 58,64 ± 4,91 <sup>y</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; TP – celokupni proteini.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; TP – total proteins.



Slika 21: Koncentracije TP (g/L) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Figure 21: The TP concentrations (g/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija celokupnih proteinov (TP) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – povprečna koncentracija TP pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean total protein (TP) concentrations in horses in each group; dashed lines – the TP concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike (p<0,002) v koncentraciji TP med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placebo oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo v skupini CoQ<sub>10</sub> ugotovili značilno povišanje koncentracije TP (p<0,05), medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah povišanje koncentracije TP neznačilno (p>0,05). Po fizični

aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) se je koncentracija TP značilno ( $p < 0,05$ ) povišala le v kontrolni skupini, medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah povišanje koncentracije TP neznačilno ( $p > 0,05$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je koncentracija TP značilno znižala ( $p < 0,05$ ) v kontrolni skupini, skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, medtem ko je bilo znižanje koncentracije TP v skupini vit. E neznačilno ( $p > 0,05$ ). Koncentracija TP po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3) je bila nekoliko nižja kot pred fizično aktivnostjo v vseh preiskovanih skupinah, vendar neznačilno ( $p > 0,05$ ).

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji ALB in TP.

#### 4.2.6.2 Aktivnosti encimov aspartat-aminotransferaze, kreatin-kinaze, laktat-dehidrogenaze, alanin-aminotransferaze, alkalne fosfataze in gama-glutamilttransferaze

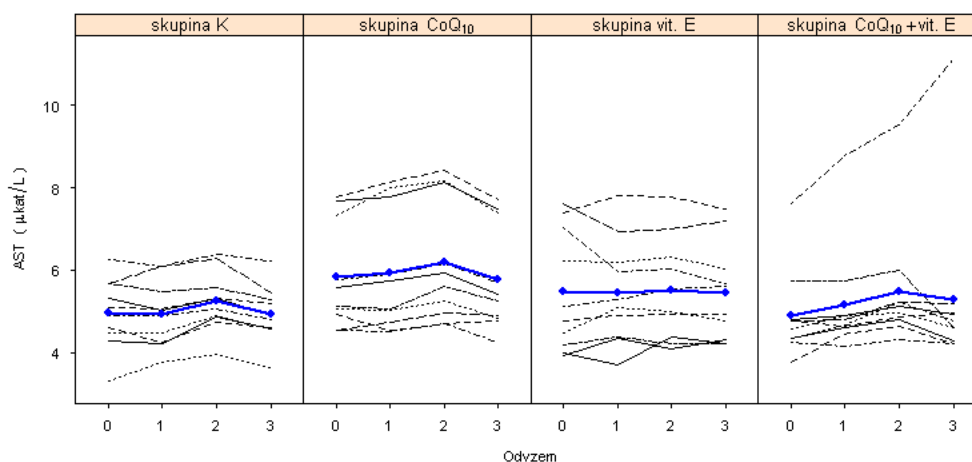
Izračunane povprečne aktivnosti encimov aspartat-aminotransferaze (AST), kreatin-kinaze (CK), laktat-dehidrogenaze (LDH), alanin-aminotransferaze (ALT), alkalne fosfataze (ALKP) in gama-glutamilttransferaze (GGT), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujejo tabele od 24 do 29. Spremembe aktivnosti encimov AST, LDH, ALT, ALKP, CK in GGT, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane njihove povprečne aktivnosti prikazujejo slike od 22 do 27.

Tabela 24: Aktivnosti AST ( $\mu\text{kat/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 24: The AST activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                 |                              |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2               | 3                            |
| <b>K</b>                       | 4,95 $\pm$ 0,84                       | 4,93 $\pm$ 0,78 | 5,24 $\pm$ 0,73 | 4,92 $\pm$ 0,68              |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 5,83 $\pm$ 1,28                       | 5,94 $\pm$ 1,48 | 6,20 $\pm$ 1,48 | 5,77 $\pm$ 1,28 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 5,47 $\pm$ 1,46                       | 5,46 $\pm$ 1,27 | 5,28 $\pm$ 1,24 | 5,44 $\pm$ 1,19              |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 4,89 $\pm$ 1,08                       | 5,16 $\pm$ 1,33 | 5,47 $\pm$ 1,50 | 5,29 $\pm$ 2,09              |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejemali koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejemali vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejemali kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; AST – aspartat-aminotransferaza.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  within the group comparing blood collection times 2 and 3; AST – aspartate aminotransferase.



Slika 22: Aktivnosti AST ( $\mu\text{kat/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 22: The AST activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna aktivnost aspartat-aminotransferaze (AST) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – aktivnost AST pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean aspartate aminotransferase (AST) activities in horses in each group; dashed lines – the AST activities in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v aktivnosti AST med posameznimi odvzemi v skupini CoQ<sub>10</sub>. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) v nobeni preiskovani skupini konj nismo ugotovili značilnih sprememb ( $p > 0,05$ ) v aktivnosti AST. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) smo v vseh skupinah ugotovili manjše, a statistično neznačilno ( $p > 0,05$ ) povišanje aktivnosti AST. Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je aktivnost AST značilno znižala ( $p < 0,05$ ) v skupini CoQ<sub>10</sub>, medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah znižanje aktivnosti AST neznačilno ( $p > 0,05$ ). Aktivnosti AST, izmerjene pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se niso značilno razlikovale ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

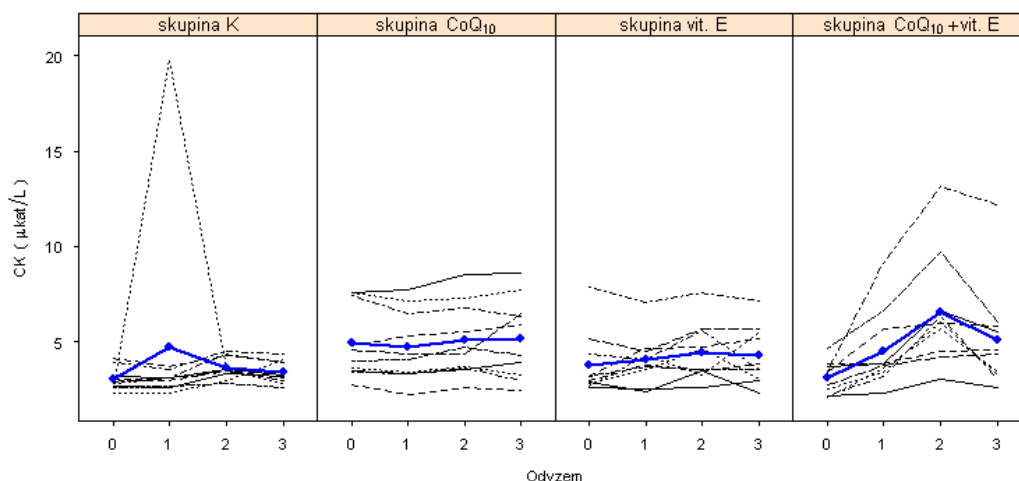
V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v aktivnosti AST.

Tabela 25: Aktivnosti CK ( $\mu\text{kat/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 25: The CK activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                 |                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2               | 3               |
| <b>K</b>                       | 3,02 $\pm$ 0,58                       | 4,70 $\pm$ 5,34 | 3,64 $\pm$ 0,56 | 3,41 $\pm$ 0,59 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 4,92 $\pm$ 1,89                       | 4,74 $\pm$ 1,83 | 5,07 $\pm$ 1,92 | 5,18 $\pm$ 2,11 |
| <b>vit. E</b>                  | 3,76 $\pm$ 1,67                       | 4,05 $\pm$ 1,29 | 4,46 $\pm$ 1,51 | 4,27 $\pm$ 1,52 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 3,08 $\pm$ 0,86                       | 4,53 $\pm$ 2,02 | 6,52 $\pm$ 2,92 | 5,07 $\pm$ 2,79 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; CK – kreatin-kinaza.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; CK – creatine kinase.



Slika 23: Aktivnosti CK ( $\mu\text{kat/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Figure 23: The CK activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna aktivnost kreatin kinaze (CK) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – aktivnost CK pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.  
Legend: blue line – the mean creatine kinase (CK) activities in horses in each group; dashed lines – the CK activities in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

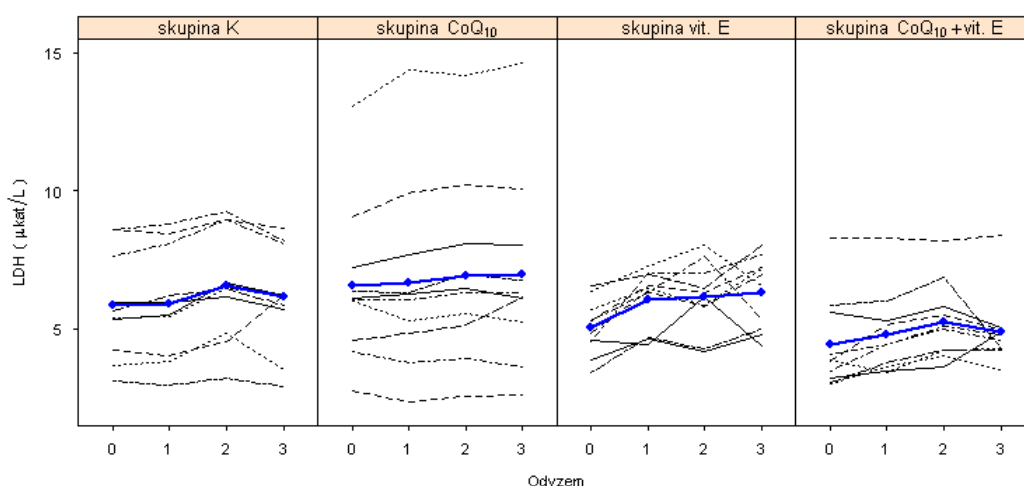
Kljub manjšemu nihanju aktivnosti CK med poskusom statistična analiza ni pokazala značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med posameznimi odvzemi v vseh preiskovanih skupinah.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v aktivnosti CK.

Tabela 26: Aktivnosti LDH ( $\mu\text{kat/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 26: The LDH activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina /Group                 | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                              |                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2                            | 3               |
| <b>K</b>                       | 5,82 $\pm$ 1,93                       | 5,91 $\pm$ 2,01 | 6,54 $\pm$ 2,03 <sup>x</sup> | 6,15 $\pm$ 1,88 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 6,54 $\pm$ 2,78                       | 6,68 $\pm$ 3,40 | 6,94 $\pm$ 3,32              | 6,95 $\pm$ 3,42 |
| <b>vit. E</b>                  | 5,04 $\pm$ 1,00 <sup>x</sup>          | 6,07 $\pm$ 1,07 | 6,17 $\pm$ 1,27              | 6,31 $\pm$ 1,32 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 4,42 $\pm$ 1,68                       | 4,79 $\pm$ 1,51 | 5,25 $\pm$ 1,42              | 4,89 $\pm$ 1,32 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; LDH – laktat-dehidrogenaza.  
Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; LDH – lactate dehydrogenase.



Slika 24: Aktivnosti LDH ( $\mu\text{kat/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Figure 24: The LDH activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna aktivnost laktat-dehidrogenaze (LDH) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – aktivnost LDH pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean lactate dehydrogenase (LDH) activities in horses in each group; dashed lines – the LDH activities in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p<0,002$ ) v aktivnosti LDH med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo ugotovili značilno povišanje ( $p<0,05$ ) aktivnosti LDH v skupini vit. E, medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah povišanje aktivnosti LDH neznačilno ( $p>0,05$ ). Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) se je aktivnost LDH značilno ( $p<0,05$ )

povišala le v kontrolni skupini, medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah povišanje aktivnosti LDH neznačilno ( $p > 0,05$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) je ostala aktivnost LDH v vseh skupinah konj statistično nespremenjena ( $p > 0,05$ ). Aktivnosti LDH, izmerjene pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se niso značilno razlikovale ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

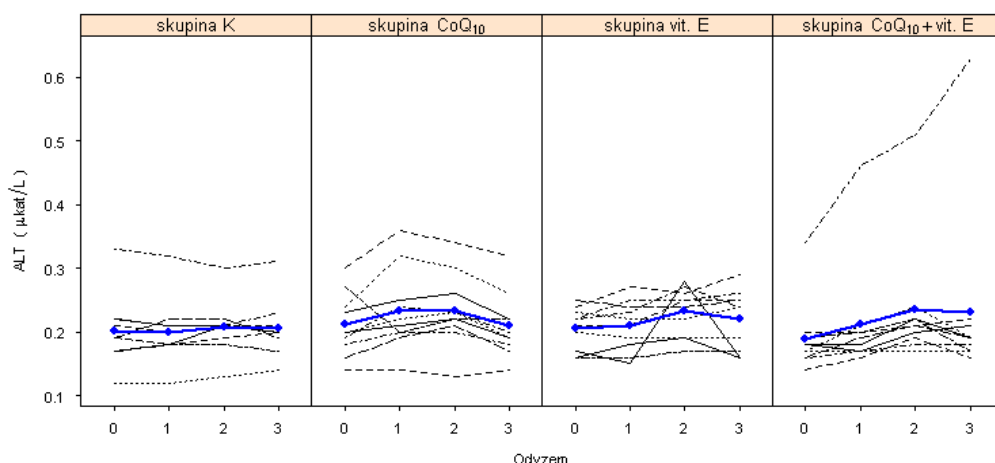
V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v aktivnosti LDH.

Tabela 27: Aktivnosti ALT ( $\mu\text{kat/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 27: The ALT activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                 |                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2               | 3               |
| <b>K</b>                       | 0,20 $\pm$ 0,05                       | 0,20 $\pm$ 0,05 | 0,21 $\pm$ 0,04 | 0,20 $\pm$ 0,04 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 0,21 $\pm$ 0,05                       | 0,23 $\pm$ 0,06 | 0,23 $\pm$ 0,06 | 0,21 $\pm$ 0,05 |
| <b>vit. E</b>                  | 0,21 $\pm$ 0,03                       | 0,21 $\pm$ 0,04 | 0,23 $\pm$ 0,04 | 0,22 $\pm$ 0,05 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 0,19 $\pm$ 0,05                       | 0,21 $\pm$ 0,09 | 0,23 $\pm$ 0,09 | 0,23 $\pm$ 0,14 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; ALT – alanin-aminotransferaza.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; ALT – alanine-aminotransferase.



Slika 25: Aktivnosti ALT ( $\mu\text{kat/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Figure 25: The ALT activities ( $\mu\text{kat/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna aktivnost alanin-aminotransferaze (ALT) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – aktivnost ALT pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

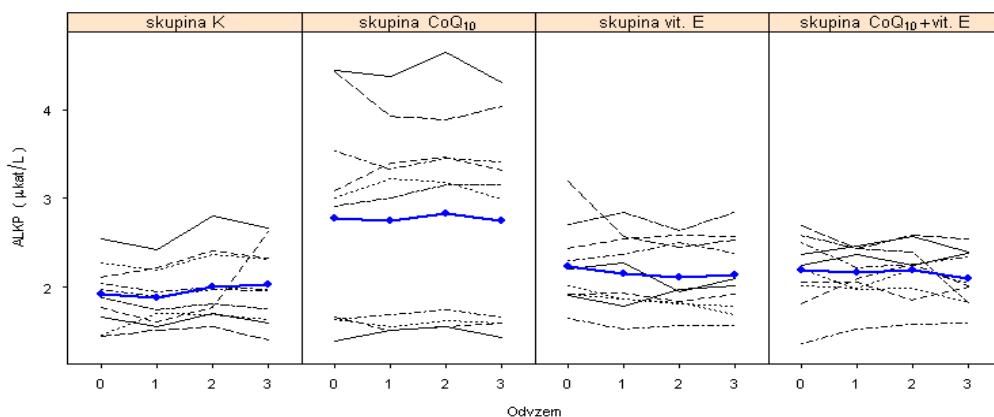
Legend: blue line – the mean alanine aminotransferase (ALT) activities in horses in each group; dashed lines – the ALT activities in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Tabela 28: Aktivnosti ALKP (μkat/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 28: The ALKP activities (μkat/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |             |             |             |
|--------------------------------|---------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
|                                | 0                                     | 1           | 2           | 3           |
| <b>K</b>                       | 1,92 ± 0,35                           | 1,88 ± 0,31 | 2,00 ± 0,39 | 2,02 ± 0,44 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 2,77 ± 1,15                           | 2,75 ± 1,09 | 2,82 ± 1,12 | 2,75 ± 1,09 |
| <b>vit. E</b>                  | 2,26 ± 0,46                           | 2,16 ± 0,42 | 2,11 ± 0,39 | 2,14 ± 0,42 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 2,19 ± 0,39                           | 2,16 ± 0,29 | 2,19 ± 0,32 | 2,09 ± 0,31 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; ALKP – alkalna fosfataza.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; ALKP – alkaline phosphatase.



Slika 26: Aktivnosti ALKP (μkat/L) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Figure 26: The ALKP activities (μkat/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna aktivnost alkalne fosfataze (ALKP) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – aktivnost ALKP pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

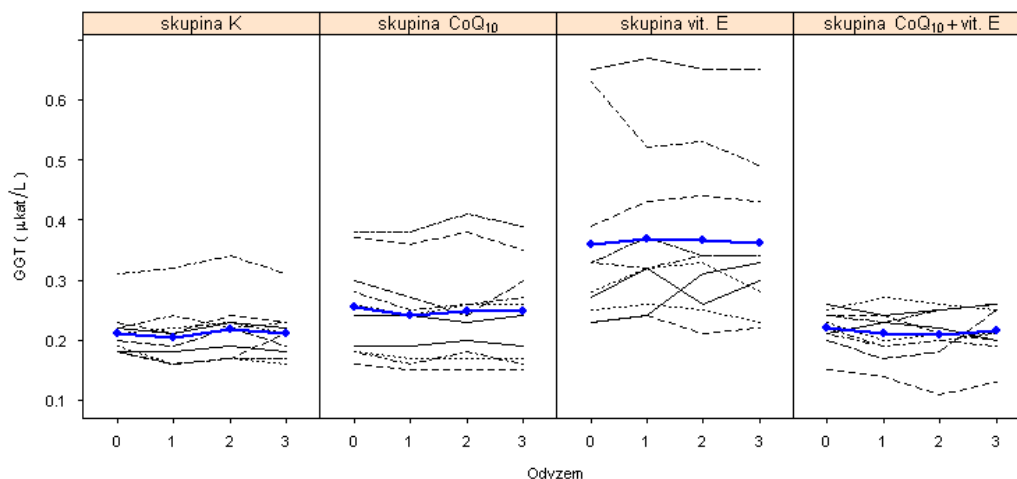
Legend: blue line – the mean alkaline phosphatase (ALKP) activities in horses in each group; dashed lines – the ALKP activities in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Tabela 29: Aktivnosti GGT (μkat/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 29: The GGT activities (μkat/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |              |              |              |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
|                                | 0                                     | 1            | 2            | 3            |
| <b>K</b>                       | 0,21 ± 0,04                           | 0,21 ± 0,05  | 0,22 ± 0,05  | 0,21 ± 0,04  |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 0,25 ± 0,08                           | 0,24 ± 0,08  | 0,25 ± 0,09  | 0,25 ± 0,08  |
| <b>vit. E</b>                  | 0,36 ± 0,16*                          | 0,37 ± 0,14* | 0,37 ± 0,14* | 0,36 ± 0,13* |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 0,22 ± 0,03                           | 0,21 ± 0,04  | 0,21 ± 0,04  | 0,22 ± 0,04  |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; \*  $p < 0,05$  pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino; GGT – gama-glutamyltransferaza.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; \*  $p < 0,05$  at certain blood collection time compared to the control group; GGT – gamma-glutamyltransferase.



Slika 27: Aktivnosti GGT (µkat/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 27: The GGT activities (µkat/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna aktivnost gama-glutamyltransferaze (GGT) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – aktivnost GGT pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean gamma-glutamyltransferase (GGT) activities in horses in each group; dashed lines – the GGT activities in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Kljub manjšemu nihanju aktivnosti ALT, ALKP in GGT med poskusom statistična analiza ni pokazala značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med posameznimi odvzemi v vseh preiskovanih skupinah.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v aktivnosti ALT in ALKP. Ugotovili smo značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v aktivnosti GGT med kontrolno skupino in skupino vit. E. Nadaljnje post-hoc primerjave so v kontrolni skupini konj pri primerjavi s skupino vit. E pokazale značilno nižje ( $p < 0,05$ ) aktivnosti GGT pri vseh štirih odvzemih.

#### 4.2.6.3 Koncentracija celokupnega bilirubina

Izračunane povprečne koncentracije celokupnega bilirubina (T-Bil), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazuje tabela 30. Spremembe koncentracije

celokupnega bilirubina, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne koncentracije celokupnega bilirubina prikazuje slika 28.

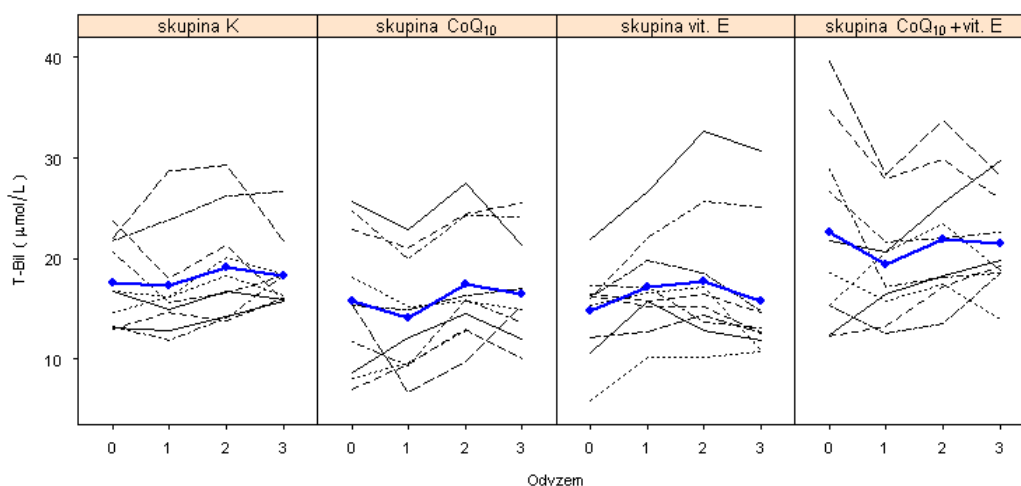
Tabela 30: Koncentracije celokupnega bilirubina ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

Table 30: The total bilirubin concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                  |                               |                  |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|
|                                | 0                                     | 1                | 2                             | 3                |
| <b>K</b>                       | 17,54 $\pm$ 4,14                      | 17,30 $\pm$ 5,20 | 19,07 $\pm$ 5,26              | 18,31 $\pm$ 3,48 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 15,76 $\pm$ 6,97                      | 14,14 $\pm$ 5,64 | 17,43 $\pm$ 5,87 <sup>x</sup> | 16,42 $\pm$ 5,58 |
| <b>vit. E</b>                  | 14,80 $\pm$ 4,34                      | 17,20 $\pm$ 4,70 | 17,66 $\pm$ 6,69              | 15,70 $\pm$ 6,70 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 22,57 $\pm$ 9,61 <sup>x</sup>         | 19,45 $\pm$ 5,50 | 21,92 $\pm$ 6,32              | 21,54 $\pm$ 4,98 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1.



Slika 28: Koncentracije celokupnega bilirubina ( $\mu\text{mol/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 28: The total bilirubin concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija celokupnega bilirubina (T-Bil) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija celokupnega bilirubina pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean total bilirubin (T-Bil) concentrations in horses in each group; dashed lines – total bilirubin concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji celokupnega bilirubina med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E ugotovili značilno ( $p<0,05$ ) znižanje koncentracije celokupnega bilirubina, medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah znižanje koncentracije celokupnega bilirubina neznačilno ( $p>0,05$ ). Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) se je koncentracija celokupnega bilirubina povišala v vseh skupinah konj, a je do značilnega povišanja ( $p<0,05$ ) prišlo le v skupini CoQ<sub>10</sub>. Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je v vseh skupinah konj koncentracija celokupnega bilirubina neznačilno znižala ( $p>0,05$ ). Koncentracija celokupnega bilirubina, izmerjena pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se ni značilno razlikovala ( $p>0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p>0,002$ ) v koncentraciji celokupnega bilirubina.

#### 4.2.6.4 Koncentracije kreatinina, sečne kisline in sečnine

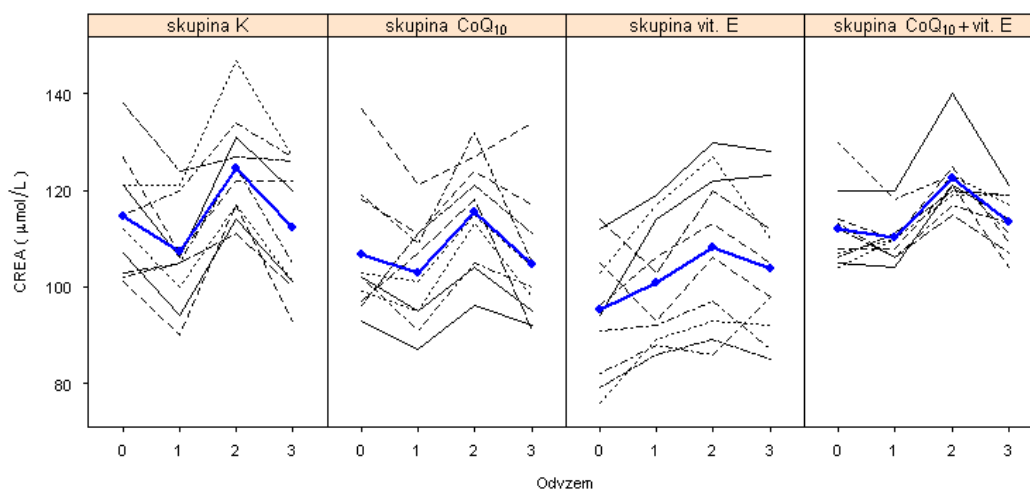
Izračunane povprečne koncentracije kreatinina (CREA) in sečne kisline (UA), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujeta tabeli 31 in 32. Spremembe koncentracije kreatinina in sečne kisline, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne koncentracije kreatinina ter sečne kisline prikazujeta sliki 29 in 30.

Tabela 31: Koncentracije kreatinina ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
*Table 31: The creatinine concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment*

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                    |                                 |                                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|                                | 0                                     | 1                  | 2                               | 3                               |
| <b>K</b>                       | 114,70 $\pm$ 12,14 <sup>x</sup>       | 107,20 $\pm$ 11,40 | 124,50 $\pm$ 10,84 <sup>x</sup> | 112,20 $\pm$ 13,36 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 106,60 $\pm$ 13,76                    | 102,80 $\pm$ 10,73 | 115,50 $\pm$ 11,27 <sup>x</sup> | 104,70 $\pm$ 13,17 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 95,20 $\pm$ 13,41                     | 100,70 $\pm$ 12,74 | 108,30 $\pm$ 16,34 <sup>x</sup> | 103,80 $\pm$ 14,54              |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 111,90 $\pm$ 8,05                     | 110,30 $\pm$ 5,12  | 120,50 $\pm$ 9,43 <sup>x</sup>  | 113,40 $\pm$ 5,66 <sup>y</sup>  |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p<0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup>  $p<0,05$  znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3.

*Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p<0,05$  within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup>  $p<0,05$  within the group comparing blood collection times 2 and 3.*



Slika 29: Koncentracije kreatinina (μmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 29: The creatinine concentrations (μmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija kreatinina (CREA) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija kreatinina pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

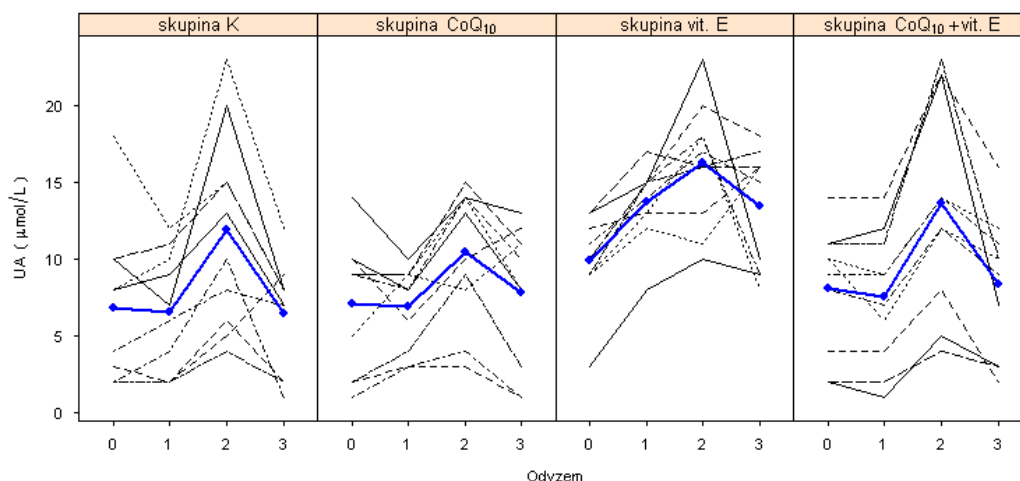
Legend: blue line – the mean creatinine (CREA) concentrations in horses in each group; dashed lines – creatinine concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Tabela 32: Koncentracije sečne kisline (μmol/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 32: The uric acid concentrations (μmol/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |              |                           |                           |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|
|                                | 0                                     | 1            | 2                         | 3                         |
| <b>K</b>                       | 6,80 ± 5,07                           | 6,50 ± 3,89  | 11,90 ± 6,44 <sup>x</sup> | 6,40 ± 3,56 <sup>y</sup>  |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 7,10 ± 4,33                           | 6,90 ± 2,68  | 10,40 ± 4,35 <sup>x</sup> | 7,80 ± 4,54 <sup>y</sup>  |
| <b>vit. E</b>                  | 9,90 ± 2,88 <sup>x</sup>              | 13,70 ± 2,45 | 16,20 ± 3,99 <sup>x</sup> | 13,40 ± 3,89 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 8,10 ± 4,09                           | 7,50 ± 4,30  | 13,60 ± 6,93 <sup>x</sup> | 8,30 ± 4,52 <sup>y</sup>  |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3.



Slika 30: Koncentracije sečne kisline ( $\mu\text{mol/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 30: The uric acid concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija sečne kisline (UA) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija sečne kisline pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean uric acid (UA) concentrations in horses in each group; dashed lines – uric acid concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji kreatinina in sečne kisline med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placebo oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo ugotovili značilno ( $p < 0,05$ ) znižanje koncentracije kreatinina v kontrolni skupini in značilno ( $p < 0,05$ ) povišanje koncentracije sečne kisline v skupini vit. E. V ostalih skupinah je prišlo do manjših, a neznačilnih ( $p > 0,05$ ) sprememb koncentracije kreatinina in sečne kisline. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) smo ugotovili značilno povišanje ( $p < 0,05$ ) koncentracije kreatinina in sečne kisline v vseh skupinah. Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) so se v vseh skupinah koncentracije sečne kisline značilno znižale ( $p < 0,05$ ); koncentracija kreatinina se je prav tako značilno znižala ( $p < 0,05$ ) v vseh skupinah, razen v skupini vit. E ( $p > 0,05$ ). Koncentracije kreatinina in sečne kisline, izmerjene pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se niso značilno razlikovale ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji kreatinina in sečne kisline.

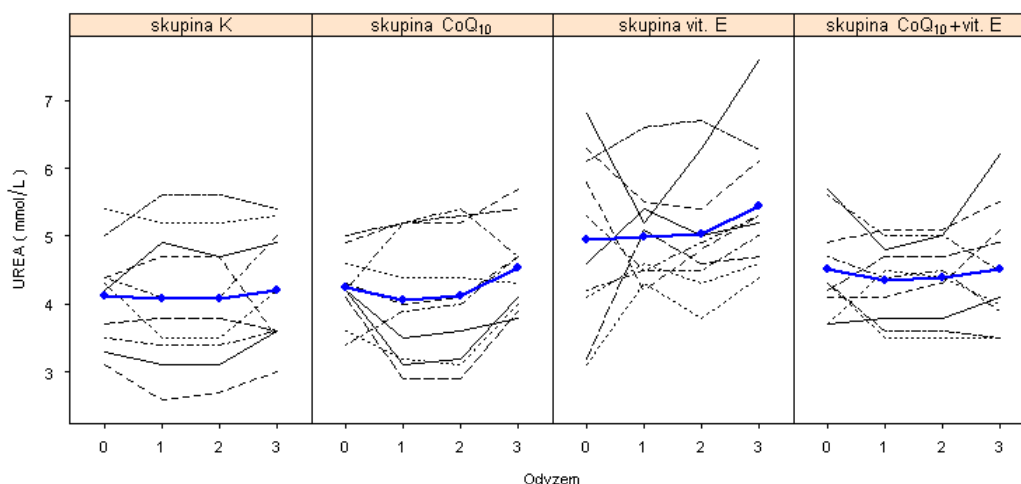
Izračunane povprečne koncentracije sečnine, merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazuje tabela 33. Spremembe koncentracije sečnine, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne koncentracije sečnine prikazuje slika 31.

Tabela 33: Koncentracije sečnine (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 33: The urea concentrations (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                 |                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2               | 3               |
| <b>K</b>                       | 4,13 $\pm$ 0,74                       | 4,09 $\pm$ 0,98 | 4,08 $\pm$ 0,95 | 4,21 $\pm$ 0,87 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 4,25 $\pm$ 0,50                       | 4,06 $\pm$ 0,90 | 4,12 $\pm$ 0,94 | 4,53 $\pm$ 0,64 |
| <b>vit. E</b>                  | 4,95 $\pm$ 1,30                       | 4,99 $\pm$ 0,73 | 5,03 $\pm$ 0,89 | 5,45 $\pm$ 0,97 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 4,52 $\pm$ 0,70                       | 4,35 $\pm$ 0,58 | 4,39 $\pm$ 0,59 | 4,52 $\pm$ 0,89 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.



Slika 31: Koncentracije sečnine (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 31: The concentrations of urea (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija sečnine (UREA) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija sečnine pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean urea (UREA) concentrations in horses in each group; dashed lines – urea concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji sečnine, izmerjene pred fizično aktivnostjo in po-24 urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), medtem ko med ostalimi odvzemi v nobeni preiskovani skupini nismo ugotovili značilnih ( $p > 0,002$ ) razlik. Nadaljnje post-hoc primerjave so pokazale le mejno značilno ( $p = 0,059$ ; ista  $p$  vrednost za obe skupini) višjo koncentracijo sečnine po 24-urnem počitku pri primerjavi pred fizično aktivnostjo (primerjava med odvzemoma 1 in 3) v skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini vit. E.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji sečnine.

#### 4.2.6.5 Koncentracija lipidov: holesterola, trigliceridov, lipoproteinov visoke gostote in lipoproteinov nizke gostote

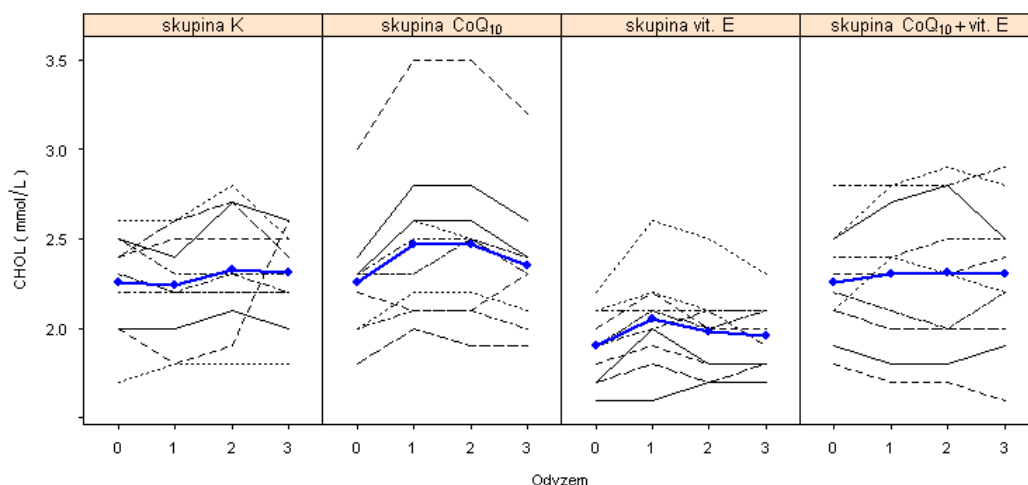
Izračunane povprečne koncentracije holesterola, trigliceridov, lipoproteinov visoke gostote (HDL) in lipoproteinov nizke gostote (LDL), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujejo tabele od 34 do 37. Spremembe koncentracije holesterola, trigliceridov, HDL in LDL, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane njihove povprečne koncentracije za posamezno skupino konj prikazujejo slike od 32 do 35.

Tabela 34: Koncentracije holesterola (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
*Table 34: The cholesterol concentrations (mmol/L)(mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment*

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                 |                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2               | 3               |
| <b>K</b>                       | 2,26 $\pm$ 0,28                       | 2,24 $\pm$ 0,29 | 0,33 $\pm$ 0,34 | 2,31 $\pm$ 0,26 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 2,26 $\pm$ 0,32 <sup>x</sup>          | 2,47 $\pm$ 0,45 | 2,47 $\pm$ 0,45 | 2,35 $\pm$ 0,36 |
| <b>vit. E</b>                  | 1,90 $\pm$ 0,20 <sup>x</sup>          | 2,05 $\pm$ 0,27 | 1,98 $\pm$ 0,24 | 1,96 $\pm$ 0,19 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 2,26 $\pm$ 0,30                       | 2,30 $\pm$ 0,39 | 2,31 $\pm$ 0,43 | 2,30 $\pm$ 0,40 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1.

*Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1.*



Slika 32: Koncentracije holesterola (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 32: The concentrations of cholesterol (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija holesterola (CHOL) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija holesterola pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean cholesterol (CHOL) concentrations in horses in each group; dashed lines – cholesterol concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji holesterola, izmerjene pred in po prejemanju antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1), medtem ko med ostalimi odvzemi v nobeni preiskovani skupini ni bilo značilnih razlik. Nadaljnje post-hoc primerjave so v skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini vit. E pokazale značilno ( $p < 0,05$ ) povišano koncentracijo holesterola po prejemanju antioksidativnega dodatka, medtem ko je bilo v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E povišanje koncentracije holesterola neznačilno ( $p > 0,05$ ).

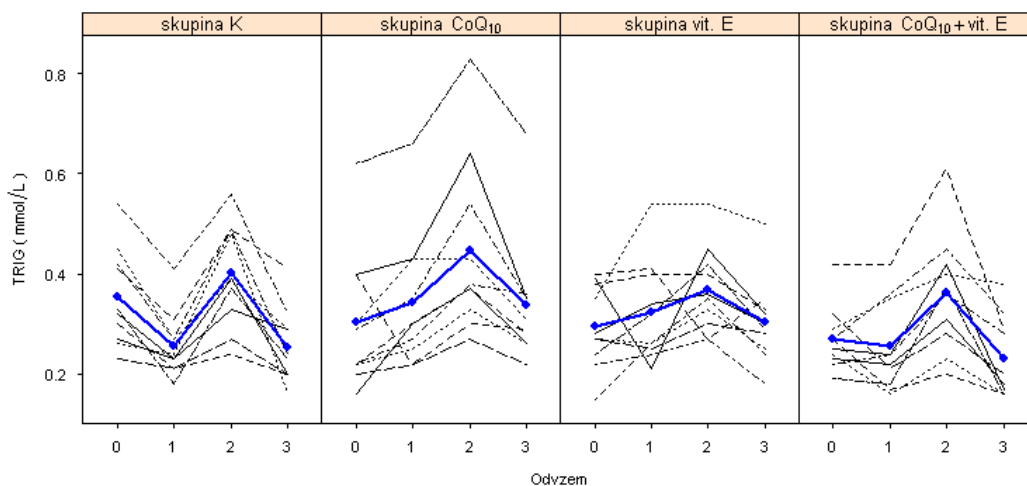
V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji holesterola.

Tabela 35: Koncentracije trigliceridov (mmol/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 35: The triglycerides concentrations (mmol/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |             |                          |                          |
|--------------------------------|---------------------------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|
|                                | 0                                     | 1           | 2                        | 3                        |
| <b>K</b>                       | 0,35 ± 0,09 <sup>x</sup>              | 0,25 ± 0,06 | 0,40 ± 0,10 <sup>x</sup> | 0,25 ± 0,07 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 0,30 ± 0,14                           | 0,34 ± 0,14 | 0,45 ± 0,17 <sup>x</sup> | 0,34 ± 0,13 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 0,29 ± 0,08                           | 0,32 ± 0,10 | 0,37 ± 0,08              | 0,30 ± 0,08 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 0,27 ± 0,06                           | 0,25 ± 0,09 | 0,36 ± 0,12 <sup>x</sup> | 0,23 ± 0,08 <sup>y</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3.



Slika 33: Koncentracije trigliceridov (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 33: The concentrations of triglycerides (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija trigliceridov (TRIG) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija trigliceridov pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean triglyceride (TRIG) concentrations in horses in each group; dashed lines – triglyceride concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike (p<0,002) v koncentraciji trigliceridov med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo ugotovili značilno (p<0,05) znižanje koncentracije trigliceridov v kontrolni skupini. V ostalih skupinah je prišlo do manjših, a neznačilnih (p>0,05) sprememb koncentracije

trigliceridov. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) smo ugotovili značilno ( $p < 0,05$ ) povišanje koncentracije trigliceridov v vseh skupinah razen v skupini vit. E, kjer je bilo povišanje na meji značilnosti ( $p = 0,064$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) so se v vseh skupinah koncentracije trigliceridov značilno znižale ( $p < 0,05$ ). Koncentracije trigliceridov, izmerjene pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se niso značilno razlikovale ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

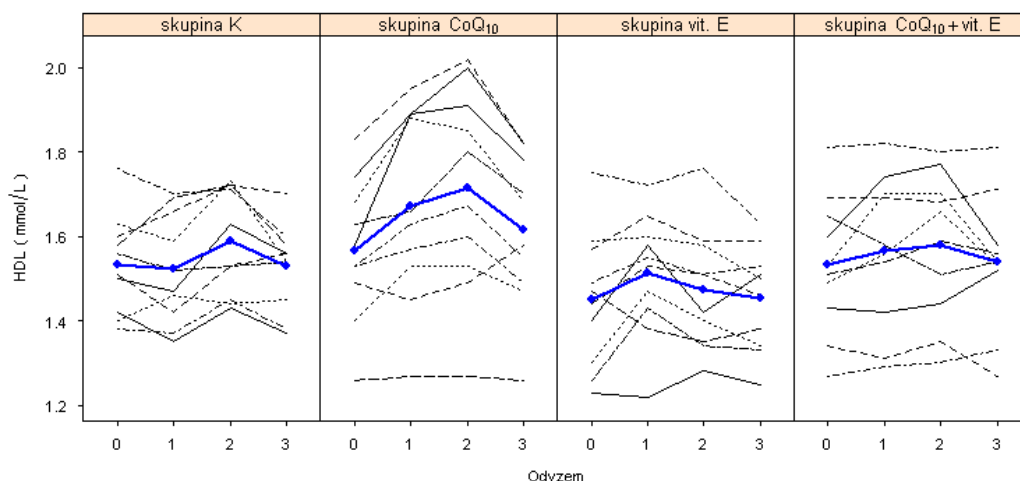
V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji trigliceridov.

Tabela 36: Koncentracije HDL (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 36: The HDL concentrations (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                              |                              |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2                            | 3                            |
| <b>K</b>                       | 1,53 $\pm$ 0,12                       | 1,52 $\pm$ 0,13 | 1,59 $\pm$ 0,13 <sup>x</sup> | 1,53 $\pm$ 0,10 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 1,57 $\pm$ 0,16 <sup>x</sup>          | 1,67 $\pm$ 0,22 | 1,71 $\pm$ 0,24              | 1,61 $\pm$ 0,18 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 1,45 $\pm$ 0,16 <sup>x</sup>          | 1,51 $\pm$ 0,14 | 1,47 $\pm$ 0,14              | 1,45 $\pm$ 0,13 <sup>x</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 1,53 $\pm$ 0,16                       | 1,56 $\pm$ 0,18 | 1,58 $\pm$ 0,17              | 1,53 $\pm$ 0,16              |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; HDL – lipoproteini visoke gostote.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  within the group comparing blood collection times 2 and 3; HDL – high density lipoproteins.



Slika 34: Koncentracije HDL (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 34: The concentrations of HDL (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija lipoproteinov visoke gostote (HDL) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija HDL pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean high density lipoprotein (HDL) concentrations in horses in each group; dashed lines – the HDL concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji HDL med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo ugotovili značilno ( $p < 0,05$ ) povišanje koncentracije HDL v skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini vit. E. V ostalih dveh skupinah je prišlo do manjših, a neznačilnih ( $p > 0,05$ ) sprememb koncentracije HDL. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) smo ugotovili značilno ( $p < 0,05$ ) povišanje koncentracije HDL le v kontrolni skupini, medtem ko je bilo v vseh ostalih skupinah povišanje koncentracije HDL neznačilno ( $p > 0,05$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) so se v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub> koncentracije HDL značilno znižale ( $p < 0,05$ ), medtem ko je bilo v skupini vit. E in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E znižanje koncentracije HDL neznačilno ( $p > 0,05$ ). Koncentracije HDL, izmerjene pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), so bile značilno ( $p < 0,05$ ) nižje le v skupini vit. E, medtem ko je bilo znižanje koncentracije HDL na meji značilnosti ( $p = 0,054$ ) v skupini CoQ<sub>10</sub>, v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E je bilo znižanje koncentracije HDL neznačilno ( $p > 0,05$ ).

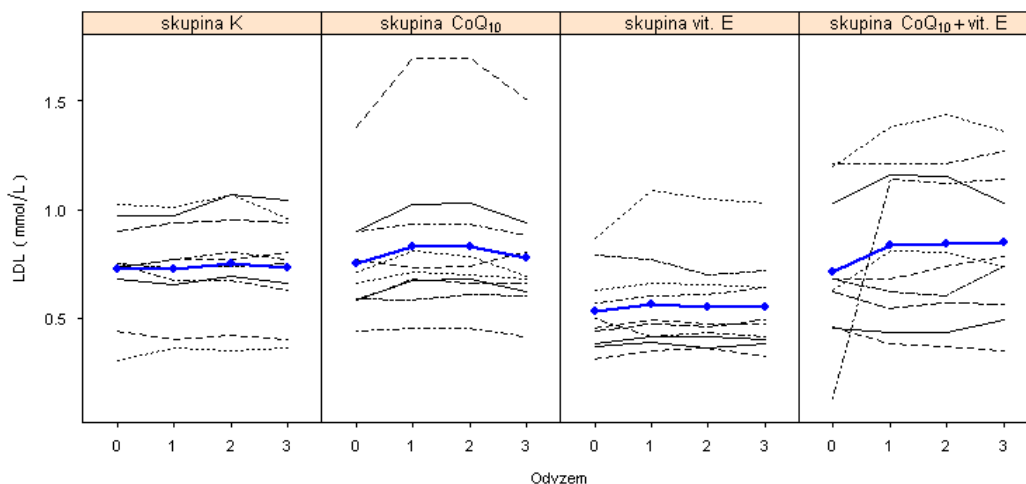
V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p>0,002$ ) v koncentraciji HDL.

Tabela 37: Koncentracije LDL (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 37: The LDL concentrations (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                 |                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2               | 3               |
| <b>K</b>                       | 0,73 $\pm$ 0,22                       | 0,73 $\pm$ 0,22 | 0,75 $\pm$ 0,24 | 0,73 $\pm$ 0,23 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 0,75 $\pm$ 0,26                       | 0,83 $\pm$ 0,35 | 0,83 $\pm$ 0,35 | 0,78 $\pm$ 0,30 |
| <b>vit. E</b>                  | 0,53 $\pm$ 0,18                       | 0,56 $\pm$ 0,23 | 0,55 $\pm$ 0,23 | 0,55 $\pm$ 0,22 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 0,71 $\pm$ 0,35                       | 0,83 $\pm$ 0,36 | 0,84 $\pm$ 0,36 | 0,85 $\pm$ 0,34 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; LDL – lipoproteini nizke gostote.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; LDL – low density lipoproteins.



Slika 35: Koncentracije LDL (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Figure 35: The concentrations of LDL (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija lipoproteinov nizke gostote (LDL) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija LDL pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean low density lipoproteins (LDL) concentrations in horses in each group; dashed lines – the LDL concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Kljub manjšemu nihanju v koncentracijah LDL med poskusom statistična analiza ni pokazala značilnih razlik ( $p>0,002$ ) med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji LDL.

#### 4.2.6.6 Koncentracija elektrolitov: kalija, natrija in kloridov

Izračunane povprečne koncentracije kalija (K), natrija (Na) in kloridov (Cl), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujejo tabele 38, 39 in 40. Spremembe koncentracije kalija, natrija in kloridov, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane njihove povprečne koncentracije za posamezno skupino konj prikazujejo slike 36, 37 in 38.

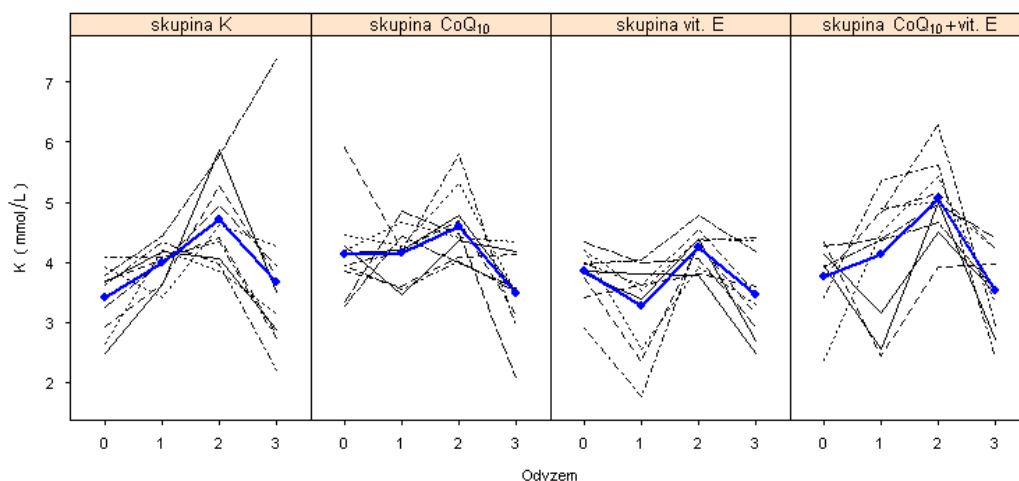
Tabela 38: Koncentracije kalija (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 38: The concentrations of potassium (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment*

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                              |                              |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2                            | 3                            |
| <b>K</b>                       | 3,41 $\pm$ 0,55                       | 3,99 $\pm$ 0,33 | 4,71 $\pm$ 0,73 <sup>x</sup> | 3,66 $\pm$ 1,45 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 4,14 $\pm$ 0,73                       | 4,14 $\pm$ 0,47 | 4,59 $\pm$ 0,59              | 3,48 $\pm$ 0,67 <sup>y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 3,84 $\pm$ 0,42                       | 3,26 $\pm$ 0,77 | 4,24 $\pm$ 0,33 <sup>x</sup> | 3,46 $\pm$ 0,68 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 3,76 $\pm$ 0,64                       | 4,13 $\pm$ 1,03 | 5,05 $\pm$ 0,64 <sup>x</sup> | 3,52 $\pm$ 0,68 <sup>y</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3.

*Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  within the group comparing blood collection times 2 and 3.*



Slika 36: Koncentracije kalija (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 36: The concentrations of potassium (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija kalija (K) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija kalija pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean potassium (K) concentrations in horses in each group; dashed lines – potassium concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji kalija med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) nismo ugotovili značilnih sprememb koncentracije kalija v nobeni skupini konj. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) smo ugotovili značilno povišanje ( $p < 0,05$ ) koncentracije kalija v vseh skupinah razen v skupini CoQ<sub>10</sub>. Pri slednji se je koncentracija kalija povišala neznatno ( $p > 0,05$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) so se v vseh skupinah koncentracije kalija značilno znižale ( $p < 0,05$ ). Koncentracije kalija, izmerjene pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), se niso značilno razlikovale ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E, in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji kalija.

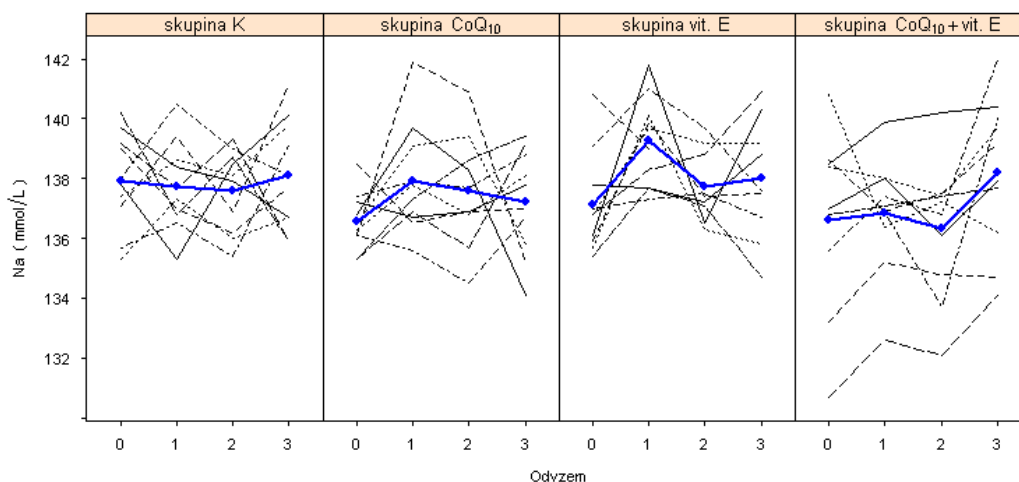
Tabela 39: Koncentracije natrija (mmol/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

Table 39: The concentrations of sodium (mmol/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |               |               |               |
|--------------------------------|---------------------------------------|---------------|---------------|---------------|
|                                | 0                                     | 1             | 2             | 3             |
| <b>K</b>                       | 137,94 ± 1,63                         | 137,75 ± 1,51 | 137,60 ± 1,38 | 138,11 ± 1,84 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 136,55 ± 0,98                         | 137,94 ± 1,85 | 137,57 ± 1,84 | 137,21 ± 1,78 |
| <b>vit. E</b>                  | 137,14 ± 1,69                         | 139,25 ± 1,51 | 137,74 ± 1,20 | 138,01 ± 1,94 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 136,62 ± 2,91                         | 136,84 ± 1,92 | 136,32 ± 2,28 | 138,19 ± 2,56 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.



Slika 37: Koncentracije natrija (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 37: The concentrations of sodium (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija natrija (Na) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija natrija pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean sodium (Na) concentrations in horses in each group; dashed lines – sodium concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Kljub manjšemu nihanju koncentracije natrija med poskusom statistična analiza ni pokazala značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj.

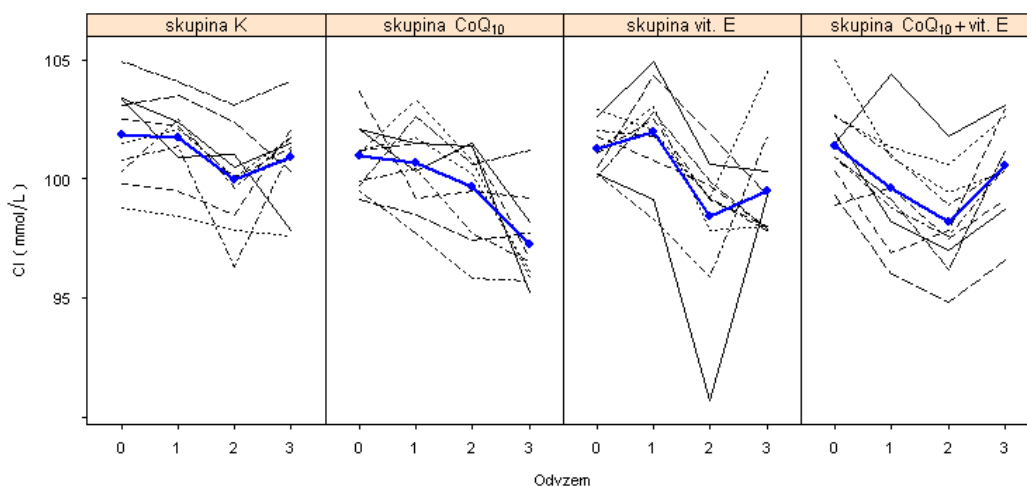
V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji natrija.

Tabela 40: Koncentracije kloridov (mmol/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 40: The concentrations of chlorides (mmol/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |               |                           |                               |
|--------------------------------|---------------------------------------|---------------|---------------------------|-------------------------------|
|                                | 0                                     | 1             | 2                         | 3                             |
| <b>K</b>                       | 101,84 ± 1,91                         | 101,70 ± 1,73 | 99,93 ± 2,04 <sup>x</sup> | 100,92 ± 1,95                 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 100,96 ± 1,43                         | 100,67 ± 1,79 | 99,63 ± 1,99              | 97,23 ± 1,87 <sup>x,y,*</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 101,26 ± 1,03                         | 101,95 ± 2,08 | 98,40 ± 3,14 <sup>x</sup> | 99,48 ± 2,20 <sup>x</sup>     |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 101,40 ± 1,79 <sup>x</sup>            | 99,62 ± 2,41  | 98,16 ± 2,07              | 100,55 ± 2,05 <sup>y</sup>    |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; \* p<0,05 pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; \* p<0,05 at certain blood collection time compared to the control group.



Slika 38: Koncentracije kloridov (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 38: The concentrations of chlorides (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija kloridov (Cl) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija kloridov pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean chlorides (Cl) concentrations in horses in each group; dashed lines – chlorides concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike (p<0,002) v koncentraciji kloridov med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo ugotovili značilno znižanje (p<0,05) koncentracije kloridov v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E. V

ostalnih skupinah je prišlo do manjših, a neznačilnih ( $p>0,05$ ) sprememb koncentracije kloridov. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) smo ugotovili značilno znižanje ( $p<0,05$ ) koncentracije kloridov v kontrolni skupini in skupini vit. E. Koncentracija kloridov se je, sicer neznačilno ( $p>0,05$ ), znižala tudi v ostalih dveh skupinah. Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je koncentracija kloridov značilno povišala ( $p<0,05$ ) v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, medtem ko je bilo v kontrolni skupini in skupini vit. E povišanje koncentracije kloridov neznačilno ( $p>0,05$ ). Nasprotno smo v skupini CoQ<sub>10</sub> ugotovili značilno ( $p<0,05$ ) znižanje koncentracije kloridov po 24-urnem počitku. V skupinah CoQ<sub>10</sub> in vit. E so bile koncentracije kloridov izmerjene po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3) značilno nižje ( $p<0,05$ ) kot pred fizično aktivnostjo, medtem ko je bilo znižanje koncentracije kloridov v preostalih dveh skupinah neznačilno ( $p>0,05$ ).

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in skupinama konj, ki sta prejemale vit. E in kombinacijo CoQ<sub>10</sub> ter vit. E (skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p>0,002$ ) v koncentraciji kloridov. Ugotovili smo značilne razlike ( $p<0,002$ ) v koncentraciji kloridov med kontrolno skupino in skupino CoQ<sub>10</sub>. Nadaljnje post-hoc primerjave so v kontrolni skupini konj pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub> pokazale značilno ( $p<0,05$ ) višjo koncentracijo kloridov po 24-urnem počitku (odvzem 3).

#### 4.2.6.7 Koncentracije kalcija, anorganskega fosfata in magnezija

Izračunane povprečne koncentracije kalcija (Ca), anorganskega fosfata (P) in magnezija (Mg), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujejo tabele 41, 42 in 43. Spremembe koncentracije kalcija, anorganskega fosfata in magnezija, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane njihove povprečne koncentracije za posamezno skupino konj prikazujejo slike 39, 40 in 41.

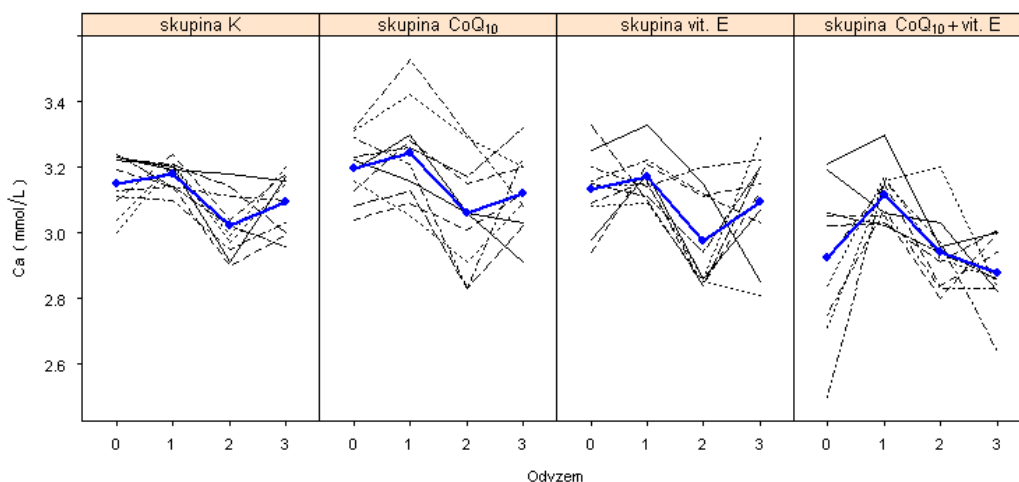
Tabela 41: Koncentracije kalcija (mmol/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

Table 41: The concentrations of calcium (mmol/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |             |                          |                              |
|--------------------------------|---------------------------------------|-------------|--------------------------|------------------------------|
|                                | 0                                     | 1           | 2                        | 3                            |
| <b>K</b>                       | 3,15 ± 0,86                           | 3,18 ± 0,04 | 3,02 ± 0,09 <sup>x</sup> | 3,09 ± 0,09 <sup>y</sup>     |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 3,19 ± 0,09                           | 3,24 ± 0,15 | 3,06 ± 0,17 <sup>x</sup> | 3,12 ± 0,12 <sup>x,y</sup>   |
| <b>vit. E</b>                  | 3,13 ± 0,12                           | 3,17 ± 0,07 | 3,98 ± 0,15 <sup>x</sup> | 3,09 ± 0,16 <sup>y</sup>     |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 2,95 ± 0,23 <sup>x,*</sup>            | 3,12 ± 0,09 | 2,94 ± 0,11 <sup>x</sup> | 2,88 ± 0,11 <sup>x,y,*</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; \* p<0,05 pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; \* p<0,05 at certain blood collection time compared to the control group.



Slika 39: Koncentracije kalcija (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 39: The concentrations of calcium (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija kalcija (Ca) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija kalcija pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean calcium (Ca) concentrations in horses in each group; dashed lines – calcium concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike (p<0,002) v koncentraciji kalcija med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo ugotovili značilno zvišanje (p<0,05) koncentracije kalcija v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E. V ostalih skupinah je prišlo do manjšega, a neznačilnega (p>0,05) povišanja koncentracije

kalcija. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) smo v vseh skupinah ugotovili značilno znižanje ( $p < 0,05$ ) koncentracije kalcija. Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je koncentracija kalcija neznačilno povišala ( $p > 0,05$ ) v vseh skupinah. Koncentracija kalcija, izmerjena po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3), je bila pri primerjavi s koncentracijo pred fizično aktivnostjo značilno nižja ( $p < 0,05$ ) v skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, medtem ko je bilo v preostalih dveh skupinah znižanje koncentracije kalcija neznačilno ( $p > 0,05$ ).

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in skupino CoQ<sub>10</sub> ter skupino vit. E nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji kalcija. Ugotovili smo značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji kalcija med kontrolno skupino in skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E. Nadaljnje post-hoc primerjave so v kontrolni skupini konj pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E pokazale značilno višjo ( $p < 0,05$ ) koncentracijo kalcija pred prejetjem dodatka (odvzem 0) in po 24-urnem počitku (odvzem 3).

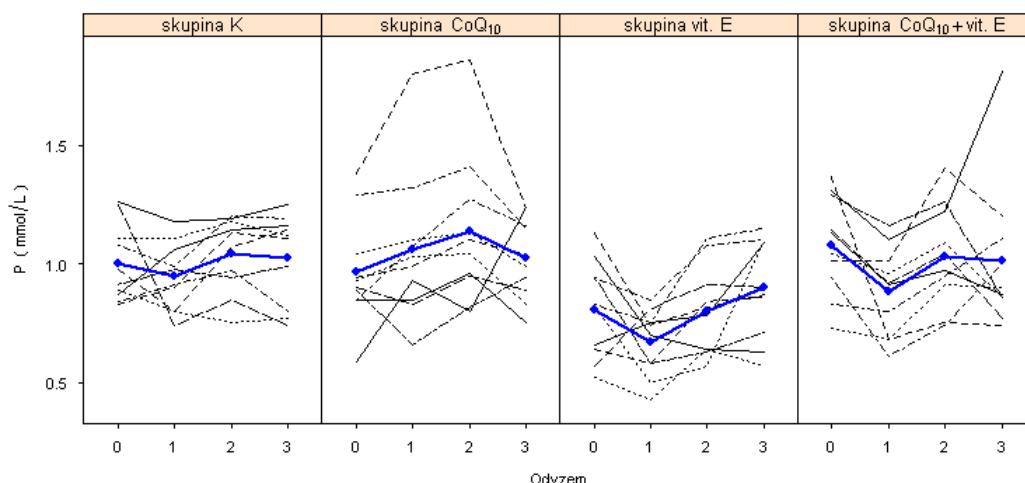
Tabela 42: Koncentracije anorganskega fosfata (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

*Table 42: The concentrations of inorganic phosphate (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment*

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                 |                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2               | 3               |
| <b>K</b>                       | 1,00 $\pm$ 0,16                       | 0,95 $\pm$ 0,14 | 1,04 $\pm$ 0,16 | 1,03 $\pm$ 0,19 |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 0,97 $\pm$ 0,23                       | 1,06 $\pm$ 0,32 | 1,13 $\pm$ 0,32 | 1,02 $\pm$ 0,17 |
| <b>vit. E</b>                  | 0,81 $\pm$ 0,20                       | 0,67 $\pm$ 0,14 | 0,80 $\pm$ 0,19 | 0,90 $\pm$ 0,21 |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 1,08 $\pm$ 0,21                       | 0,89 $\pm$ 0,19 | 1,03 $\pm$ 0,21 | 1,01 $\pm$ 0,31 |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

*Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.*



Slika 40: Koncentracije anorganskega fosfata (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 40: The concentrations of inorganic phosphate (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija anorganskega fosfata (P) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija anorganskega fosfata pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean inorganic phosphate (P) concentrations in horses in each group; dashed lines – inorganic phosphate concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Kljub manjšemu nihanju koncentracije anorganskega fosfata med poskusom, statistična analiza ni pokazala značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) med posameznimi odvzemi v vseh skupinah konj.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji anorganskega fosfata.

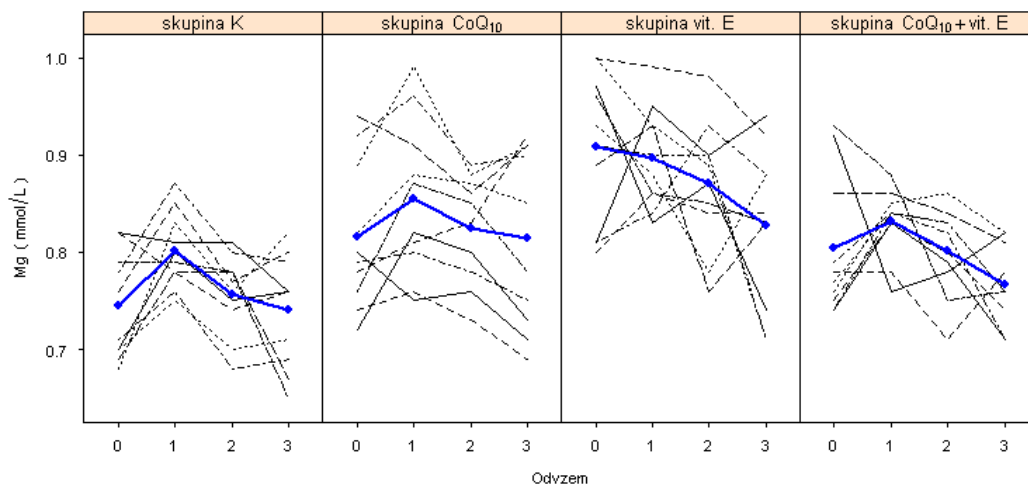
Tabela 43: Koncentracije magnezija (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 43: The concentrations of magnesium (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                  |                  |                                |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------|------------------|--------------------------------|
|                                | 0                                     | 1                | 2                | 3                              |
| <b>K</b>                       | 0,74 $\pm$ 0,05 <sup>x</sup>          | 0,80 $\pm$ 0,04  | 0,76 $\pm$ 0,04  | 0,74 $\pm$ 0,06 <sup>y</sup>   |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 0,82 $\pm$ 0,08*                      | 0,85 $\pm$ 0,08  | 0,82 $\pm$ 0,05* | 0,82 $\pm$ 0,09*               |
| <b>vit. E</b>                  | 0,91 $\pm$ 0,08*                      | 0,90 $\pm$ 0,05* | 0,87 $\pm$ 0,07* | 0,83 $\pm$ 0,08 <sup>y,*</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 0,80 $\pm$ 0,07                       | 0,83 $\pm$ 0,04  | 0,80 $\pm$ 0,04  | 0,77 $\pm$ 0,04 <sup>y</sup>   |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemi 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; \*  $p < 0,05$  pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before

physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  within the group comparing blood collection times 2 and 3; <sup>\*</sup>  $p < 0,05$  at certain blood collection time compared to the control group.



Slika 41: Koncentracije magnezija (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 41: The concentrations of magnesium (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija magnezija (Mg) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija magnezija pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean magnesium (Mg) concentrations in horses in each group; dashed lines – magnesium concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji magnezija med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo v kontrolni skupini ugotovili značilno ( $p < 0,05$ ) povišanje koncentracije magnezija. V skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E je prišlo do manjšega, a neznačilnega ( $p > 0,05$ ) povišanja koncentracije magnezija, v skupini vit. E do manjšega, prav tako neznačilnega ( $p > 0,05$ ) znižanja koncentracije magnezija. Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je koncentracija magnezija v vseh skupinah neznačilno znižala ( $p > 0,05$ ). Koncentracija magnezija, izmerjena po 24-urnem počitku, se je pri primerjavi s koncentracijo pred fizično aktivnostjo (primerjava med odvzemoma 1 in 3) značilno znižala ( $p < 0,05$ ) v kontrolni skupini, skupini vit. E in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in skupino CoQ<sub>10</sub>+vit. E nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,05$ ) v koncentraciji magnezija. Ugotovili smo značilne razlike ( $p < 0,002$ )

v koncentraciji magnezija med kontrolno skupino in skupino CoQ<sub>10</sub> ter med kontrolno skupino in skupino vit. E. Nadaljnje post-hoc primerjave so v kontrolni skupini konj pri primerjavi s skupino vit. E pokazale značilno višjo ( $p < 0,05$ ) koncentracijo magnezija pri vseh štirih odvzemih, ter pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub> značilno višjo ( $p < 0,05$ ) koncentracijo magnezija pred prejetjem dodatka (odvzem 0), po fizični aktivnosti (odvzem 2) in po 24-urnem počitku (odvzem 3).

#### 4.2.6.8 Koncentracija glukoze in laktata

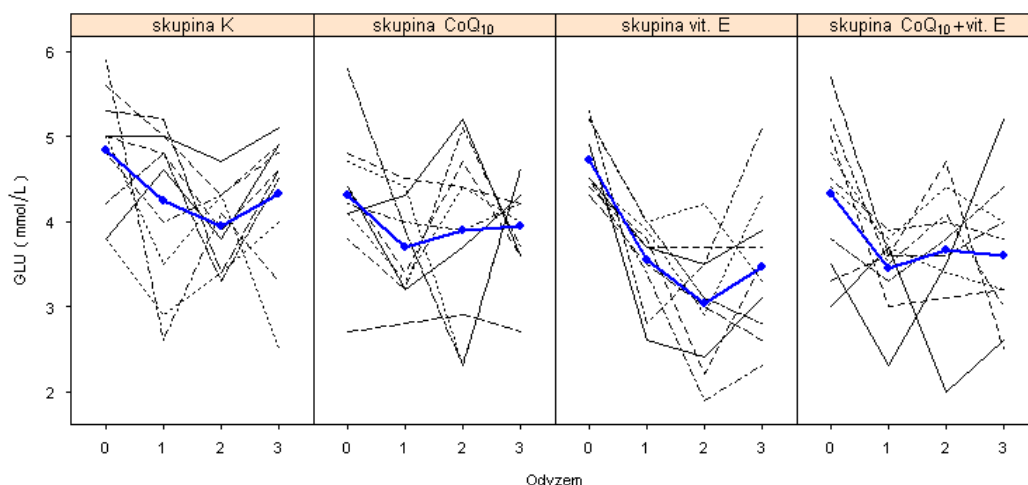
Izračunane povprečne koncentracije glukoze (GLU) in laktata (LAC), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazujeta tabeli 44 in 45. Spremembe koncentracije glukoze in laktata, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne koncentracije glukoze ter laktata za posamezno skupino konj prikazujeta sliki 42 in 43.

Tabela 44: Koncentracije glukoze (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
*Table 44: The concentrations of glucose (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment*

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                 |                              |                              |
|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|
|                                | 0                                     | 1               | 2                            | 3                            |
| <b>K</b>                       | 4,87 $\pm$ 0,86                       | 4,24 $\pm$ 0,94 | 3,95 $\pm$ 0,47              | 4,32 $\pm$ 0,83              |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 4,30 $\pm$ 0,79                       | 3,70 $\pm$ 0,59 | 3,89 $\pm$ 1,07              | 3,95 $\pm$ 0,57              |
| <b>vit. E</b>                  | 4,72 $\pm$ 0,39 <sup>x</sup>          | 3,54 $\pm$ 0,48 | 3,04 $\pm$ 0,71 <sup>*</sup> | 3,46 $\pm$ 0,84 <sup>*</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 4,32 $\pm$ 0,89 <sup>x</sup>          | 3,44 $\pm$ 0,48 | 3,66 $\pm$ 0,75              | 3,59 $\pm$ 0,85              |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>\*</sup>  $p < 0,05$  pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino.

*Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1; <sup>\*</sup>  $p < 0,05$  at certain blood collection time compared to the control group.*



Slika 42: Koncentracije glukoze (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 42: The concentrations of glucose (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija glukoze (GLU) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija glukoze pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean glucose (GLU) concentrations in horses in each group; dashed lines – glucose concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je v posameznih skupinah konj pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji glukoze, izmerjene pred in po prejemanju placebo oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1). Nadaljnje post-hoc primerjave so pokazale značilno znižanje ( $p < 0,05$ ) koncentracije glukoze v skupini vit. E in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E. Med ostalimi odvzemi kljub manjšemu nihanju koncentracije glukoze ni bilo značilnih ( $p > 0,05$ ) razlik v nobeni preiskovani skupini konj.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in skupinama CoQ<sub>10</sub> ter CoQ<sub>10</sub>+vit. E, nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji glukoze, medtem ko je bila razlika pri primerjavi s skupino vit. E značilna ( $p < 0,002$ ). Nadaljnje post-hoc primerjave so v kontrolni skupini pri primerjavi s skupino vit. E pokazale značilno višjo ( $p < 0,05$ ) koncentracijo glukoze po fizični aktivnosti (odvzem 2) in 24-urnem počitku (odvzem 3).

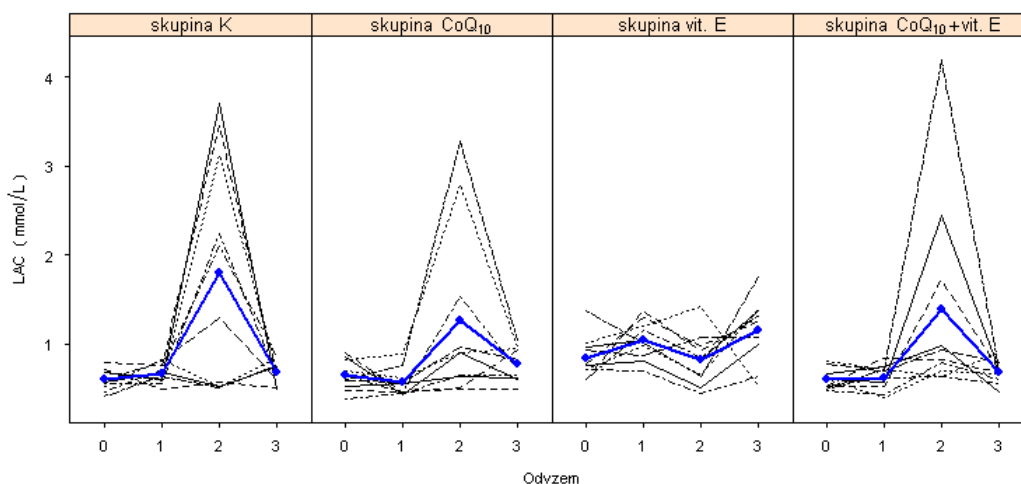
Tabela 45: Koncentracije laktata (mmol/L) (povprečje ± SD) v posameznih skupinah konj med poskusom

Table 45: The concentrations of lactate (mmol/L) (mean ± SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |             |                          |                          |
|--------------------------------|---------------------------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|
|                                | 0                                     | 1           | 2                        | 3                        |
| <b>K</b>                       | 0,60 ± 0,12                           | 0,67 ± 0,11 | 1,81 ± 1,29 <sup>x</sup> | 0,68 ± 0,28 <sup>y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 0,65 ± 0,17                           | 0,57 ± 0,15 | 1,27 ± 0,98 <sup>x</sup> | 0,78 ± 0,19              |
| <b>vit. E</b>                  | 0,85 ± 0,23                           | 1,04 ± 0,21 | 0,83 ± 0,29*             | 1,16 ± 0,37              |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 0,60 ± 0,12                           | 0,63 ± 0,14 | 1,39 ± 1,14 <sup>x</sup> | 0,68 ± 0,12 <sup>y</sup> |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup> p<0,05 znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3; \* p<0,05 pri določenem odvzemu pri primerjavi s kontrolno skupino.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup> p<0,05 within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup> p<0,05 within the group comparing blood collection times 2 and 3; \* p<0,05 at certain blood collection time compared to the control group.



Slika 43: Koncentracije laktata (mmol/L) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 43: The concentrations of lactate (mmol/L) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija laktata (LAC) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija laktata pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.

Legend: blue line – the mean lactate (LAC) concentrations in horses in each group; dashed lines – lactate concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike (p<0,002) v koncentraciji laktata med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) v nobeni skupini konj nismo ugotovili značilnih sprememb (p>0,05) v koncentraciji laktata. Po

izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) se je koncentracija laktata značilno ( $p < 0,05$ ) povišala v kontrolni skupini, skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, medtem ko se je koncentracija laktata v skupini vit. E neznačilno znižala ( $p > 0,05$ ). Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je koncentracija laktata značilno ( $p < 0,05$ ) znižala v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, medtem ko je bilo v skupini CoQ<sub>10</sub> znižanje in skupini vit. E zvišanje koncentracije laktata neznačilno ( $p > 0,05$ ). Koncentracije laktata izmerjene pred fizično aktivnostjo in po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 1 in 3) se niso značilno razlikovale ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in skupinama CoQ<sub>10</sub> ter CoQ<sub>10</sub>+vit. E nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji laktata, medtem ko je bila razlika pri primerjavi s skupino vit. E značilna ( $p < 0,002$ ). Nadaljnje post-hoc primerjave so v kontrolni skupini konj pri primerjavi s skupino vit. E pokazale značilno višjo ( $p < 0,05$ ) koncentracijo laktata po fizični aktivnosti (odvzem 2).

#### 4.2.6.9 Koncentracija železa

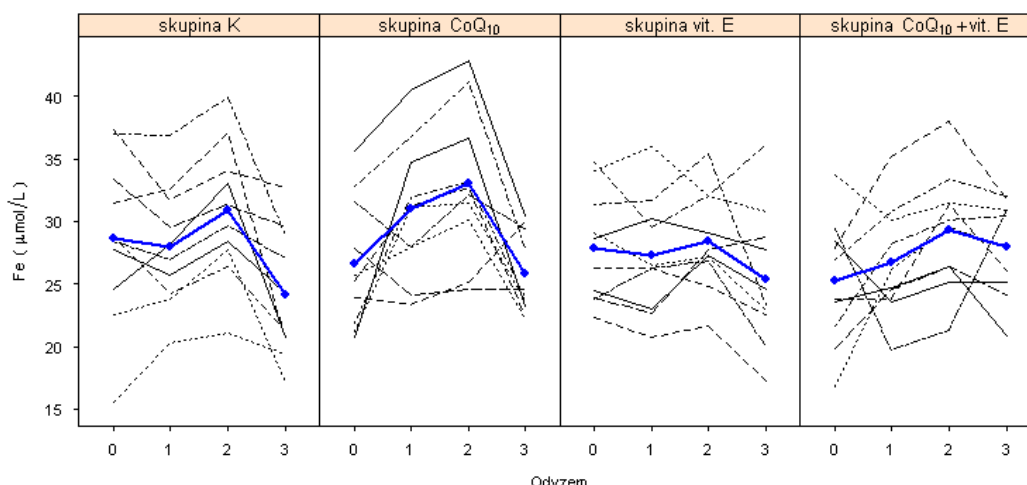
Izračunane povprečne koncentracije železa (Fe), merjene med poskusom v posameznih skupinah konj, ter SD prikazuje tabela 46. Spremembe koncentracije železa, merjene med poskusom pri posameznih konjih preiskovanih skupin, in izračunane povprečne koncentracije železa za posamezno skupino konj prikazuje slika 44.

Tabela 46: Koncentracije železa ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) v posameznih skupinah konj med poskusom  
Table 46: The concentrations of iron ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in individual groups of horses during the experiment

| Skupina / Group                | Odvzem krvi / Blood sample collection |                  |                  |                                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------|------------------|---------------------------------|
|                                | 0                                     | 1                | 2                | 3                               |
| <b>K</b>                       | 28,68 $\pm$ 6,67                      | 27,99 $\pm$ 4,87 | 30,87 $\pm$ 5,46 | 24,15 $\pm$ 5,17 <sup>x,y</sup> |
| <b>CoQ<sub>10</sub></b>        | 26,66 $\pm$ 5,18 <sup>x</sup>         | 30,96 $\pm$ 5,41 | 33,01 $\pm$ 5,99 | 25,78 $\pm$ 3,28 <sup>x,y</sup> |
| <b>vit. E</b>                  | 27,86 $\pm$ 4,42                      | 27,31 $\pm$ 4,63 | 28,40 $\pm$ 3,93 | 25,39 $\pm$ 5,56                |
| <b>CoQ<sub>10</sub>+vit. E</b> | 25,22 $\pm$ 5,01                      | 26,69 $\pm$ 4,45 | 29,31 $\pm$ 4,72 | 28,00 $\pm$ 3,81                |

Legenda: K – kontrolna skupina konj; CoQ<sub>10</sub> – konji, ki so prejeli koencim Q<sub>10</sub>; vit. E – konji, ki so prejeli vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – konji, ki so prejeli kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi z odvzemom 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  znotraj skupine pri primerjavi odvzemov 2 in 3.

Legend: K – control group of horses; CoQ<sub>10</sub> – horses supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub>; vit. E – horses supplemented with vitamin E; CoQ<sub>10</sub>+vit. E – horses supplemented with combination of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  within the group compared to blood collection 1; <sup>y</sup>  $p < 0,05$  within the group comparing blood collection times 2 and 3.



Slika 44: Koncentracije železa ( $\mu\text{mol/L}$ ) v posameznih skupinah konj med poskusom

Figure 44: The concentrations of iron ( $\mu\text{mol/L}$ ) in individual groups of horses during the experiment

Legenda: modra črta – povprečna koncentracija železa (Fe) konj v posameznih skupinah; črtkane črte – koncentracija železa pri posameznih konjih; 0 – pred dajanjem dodatkov k prehrani; 1 – pred fizično aktivnostjo; 2 – 40 min po fizični aktivnosti; 3 – 24 ur po fizični aktivnosti.  
Legend: blue line – the mean iron (Fe) concentrations in horses in each group; dashed lines – iron concentrations in individual horses; 0 – before adding food supplements; 1 – before physical activity; 2 – 40 min after physical activity; 3 – 24 hours after physical activity.

Statistična analiza je pokazala značilne razlike ( $p < 0,002$ ) v koncentraciji železa med posameznimi odvzemi v posameznih skupinah konj. Rezultati post-hoc primerjav po Holmovi metodi so navedeni v naslednjem odstavku.

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka (primerjava med odvzemoma 0 in 1) smo ugotovili značilno povišanje ( $p < 0,05$ ) koncentracije železa v skupini CoQ<sub>10</sub>, medtem ko je bilo v ostalih skupinah povišanje koncentracije železa neznačilno ( $p > 0,05$ ). Po izbrani fizični aktivnosti (primerjava med odvzemoma 1 in 2) ni bilo značilnih razlik ( $p > 0,05$ ) v nobeni preiskovani skupini. Po 24-urnem počitku (primerjava med odvzemoma 2 in 3) se je koncentracija železa značilno znižala ( $p < 0,05$ ) v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>, medtem ko je bilo v skupini vit. E in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E znižanje koncentracije železa neznačilno ( $p > 0,05$ ). Koncentracije železa, izmerjene po 24-urnem počitku, so bile pri primerjavi s koncentracijami, izmerjenimi pred fizično aktivnostjo (primerjava med odvzemoma 1 in 3), značilno ( $p < 0,05$ ) nižje v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>.

V poskusu med kontrolno skupino (skupina K) in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativni dodatek (skupina CoQ<sub>10</sub>, skupina vit. E in skupina CoQ<sub>10</sub>+vit. E), nismo ugotovili značilnih razlik ( $p > 0,002$ ) v koncentraciji železa.

#### **4.2.7 Korelacije med malondialdehidom in posameznimi encimi (kreatin-kinaza, aspartat-aminotransferaza in laktat-dehidrogenaza)**

Statistična analiza ni pokazala značilnih povezav (korelacije) med koncentracijo malondialdehida in aktivnostjo posameznih mišičnih encimov kreatin-kinaze, aspartat-aminotransferaze in laktat-dehidrogenaze med posameznimi odvzemi pri nobeni preiskovani skupini konj.

## 5 RAZPRAVA

Ali rekreativni konji res potrebujejo antioksidativne dodatke k prehrani za preprečevanje oz. zmanjšanje posledic oksidativnega stresa, ki se lahko pojavi pri občasnem delu z njimi? Večina raziskav, izvedenih pri športnih konjih in ljudeh, je pokazala, da različne oblike fizične aktivnosti povzročijo oksidativni stres, ki narašča z intenzivnostjo in trajanjem (Chiaradia in sod., 1998; Frankiewicz-Józko in Szarska, 2000; Balogh in sod., 2001; Hargreaves in sod., 2002; Deaton in Marlin, 2003; Williams in sod., 2003; Kinnunen in sod., 2005<sup>a</sup>; Kinnunen in sod., 2005<sup>b</sup>; Kirschvink in sod., 2008; Nikolaidis in sod., 2008; Jagrič Munih, 2012). Dodatki različnih antioksidantov in njihove kombinacije k prehrani pozitivno vplivajo na izboljšanje izvedbe fizične aktivnosti in zmanjšanje oksidativnega stresa, povzročenega s fizično aktivnostjo pri športnih konjih in ljudeh (Sumida in sod., 1989; Rathgeber-Lawrence in sod., 1991; Laaksonen in sod., 1995; Kaikkonen in sod., 1998; Avellini in sod., 1999; Sacke in sod., 2003; Urso in Clarkson, 2003; De Moffarts in sod., 2005; Gaeini in sod., 2006; Kienzle in sod., 2006; Cooke in sod., 2008; Gül in sod., 2011; Díaz-Castro in sod., 2012), spet drugi tega niso dokazali (McMeniman in Hintz, 1992; Viitala in sod., 2004; Williams in sod., 2004; McAnulty in sod., 2005; Williams in sod., 2005; Zhou in sod., 2005; Williams in Carlucci, 2006; Jagrič Munih, 2012). Podobnih raziskav pri rekreativnih konjih še ni bilo izvedenih, zato smo v naši raziskavi ugotavljali, ali antioksidativna dodatka, vitamin E in koencim Q<sub>10</sub>, ter njuna kombinacija vplivajo na zmanjšanje oksidativnega stresa in zmanjšanje povečane aktivnosti mišičnih encimov, ki naj bi ju povzročila izbrana fizična aktivnost. Za program izbrane fizične aktivnosti smo izbrali srednje težko fizično aktivnost (*ang. moderate exercise*; Lawrence, 2009), s katero smo želeli rekreativnim konjem, ki so le občasno oz. neredno podvrženi fizični aktivnosti večjega obsega, povzročiti oksidativni stres. S tem bi povečali potrebo po celičnem dihanju in vnosu O<sub>2</sub>, ki se porabi za dodatni metabolizem in nastanek ATP, hkrati pa predstavlja dodaten vir reaktivnih spojin, predvsem ROS. Posledica delovanja reaktivnih spojin bi lahko bil povečan obseg lipidne peroksidacije, ki vodi do primarne poškodbe tkiv na mestih nastanka reaktivnih spojin, npr. mitohondrijev oz. sekundarne poškodbe ostalih celičnih struktur, med drugimi tudi celičnih membran, npr. skeletnih mišic. Končni posledici fizične aktivnosti sta lahko tudi pojav obremenitvene miopatije in hemoliza, ki vodi do sprememb hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov. Vrednosti večine merjenih parametrov v naši raziskavi so bile takoj po končani izbrani fizični aktivnosti izven meja referenčnih vrednosti (Kingston, 2004;

McGowan in Hodgson, 2014; Priloga 1: Tabela 7, Tabela 8 in Tabela 9). Vse to lahko vpliva na utrujenost, slabšo izvedbo fizične aktivnosti in zdravje konj (Chiaradia in sod., 1998; Banerjee in sod., 2003; Deaton in Marlin, 2003; Kingston, 2004; Art in Lekeux, 2005; Halliwell in Gutteridge, 2007; Soffler, 2007; Nikolaidis in sod., 2008; McGowan in Hodgson, 2014). Štiriindvajset urni počitek po izvedbi izbrane fizične aktivnosti je zadostoval, da so se vrednosti večine merjenih parametrov vrnile na raven bazalnih vrednosti. Zdravju konj z izvedbo izbrane fizične aktivnosti nismo škodili.

Zanimalo nas je tudi morebitno kooperativno in sinergistično delovanje vitamina E in koencima Q<sub>10</sub>. Rezultati naše raziskave niso potrdili, a nakazujejo, da je vitamin E kot dodatek k prehrani posamezno in v kombinaciji s koencimom Q<sub>10</sub> obranil rekreativne konje pred oksidativnim stresom, ki ga je povzročila izbrana fizična aktivnost. Sinergističnega delovanja nismo dokazali.

## 5.1 BAZALNE VREDNOSTI MERJENIH PARAMETROV

Pred dajanjem dodatkov k prehrani (placebo, vitamin E, koencim Q<sub>10</sub>, in kombinacija vitamina E ter koencima Q<sub>10</sub>) so bile bazalne vrednosti izmerjenih hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov (vključno z vitaminom E) ter pokazatelja oksidativnega stresa (malondialdehid) v mejah referenčnih vrednosti oz. primerljive z rezultati drugih raziskovalcev (Priloga 1: Tabela 7, Tabela 8 in Tabela 9). Med posameznimi skupinami konj nismo ugotovili značilnih razlik merjenih parametrov.

V uporabljeni strokovni literaturi nismo zasledili vrednosti plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub> pri rekreativnih konjih, zato smo v okviru raziskave določili koncentracije koencima Q<sub>10</sub> pri kategoriji konj, ki so bili vključeni v našo raziskavo in kjer so bile koncentracije precej višje ( $1,027 \pm 0,364$  mg/L; razpon: 0,38-2,09 mg/L; Bohar Topolovec in sod., 2013) kot pri športnih konjih ( $0,187 \pm 0,048$  mg/L; razpon: 0,138-0,273 mg/L (Sinatra in sod., 2013) ter  $0,71 \pm 0,27$  mg/L (Jagrič Munih, 2012)) in pri ljudeh ( $1,04 \pm 0,33$  mg/L; razpon: 0,43-1,64 mg/L (Miles in sod., 2004) ter  $0,65 \pm 0,04$  mg/L (Hosoe in sod., 2007)). Razlike v povprečni koncentraciji koencima Q<sub>10</sub> v plazmi preiskovanih rekreativnih in športnih konjih bi lahko bile posledica neprestane izpostavljenosti športnih konj oksidativnemu stresu, kot so to pokazali tudi v raziskavi pri ljudeh športnikih (Miles in sod., 2004). V raziskavah pri športnih konjih (Sinatra in sod., 2013; Sinatra in sod., 2014) bi lahko razlike v koncentraciji koencima

Q<sub>10</sub> pripisali tudi razlikam v uporabljenih metodah določanja koencima Q<sub>10</sub>. Razlik ne moremo pripisati starosti konj (rekreativni konji stari 3–18 let (Bohar Topolovec in sod., 2013), športni konji povprečno 2 leti (Sinatra in sod., 2013)), saj se s starostjo koncentracija koencima Q<sub>10</sub> v krvi niža (Sohal in Forster, 2007). Pri ljudeh je za razliko od rastlinojedih konj absorpcija koencima Q<sub>10</sub> boljša, zato bi pri konjih pričakovali nižje vrednosti kot pri ljudeh. Absorpcija koencima Q<sub>10</sub> poteka v tankem črevesju skupaj s hilomikroni, ki se prenesejo v jetra. V jetrih se koencim Q<sub>10</sub> sprosti iz hilomikronov in vgradi najpogosteje v lipoproteine zelo nizke (VLDL) ali nizke gostote (LDL) in se tako prenese v krvni obtok (Sinatra in sod., 2014).

## 5.2 DODATKI K PREHRANI, VITAMIN E IN KOENCIM Q<sub>10</sub> TER NJUNA KOMBINACIJA

### 5.2.1 Vitamin E

Številne raziskave, ki so proučevale vpliv vitamina E – največkrat skupaj z drugimi antioksidanti – in so bile narejene pri športnih konjih (Ono in sod., 1990; McMeniman in Hintz, 1992; Siciliano in sod., 1997; Avellini in sod., 1999; Hargreaves, 2002; Williams in sod., 2004; De Moffarts in sod., 2005; Williams in sod., 2005; Kienzle in sod., 2006; Williams in Carlucci, 2006) so v večini primerov pokazale, da se je vitamin E izkazal kot dober antioksidant, predvsem naravni d- $\alpha$ -tokoferil acetat (Meydani, 1995; Hargreaves, 2002). Tega smo uporabili tudi v naši raziskavi pri rekreativnih konjih (visoka biorazpoložljivost (Hargreaves, 2002) in podoben potek absorpcije kot koencim Q<sub>10</sub>). Z drugačnimi odmerki in daljšim časom dajanja vitamina E kot v naši raziskavi so znižanje koncentracije pokazateljev lipidne peroksidacije (malondialdehid, TBARS, F<sub>2</sub>-izoprostani idr.) po fizični aktivnosti ugotovili pri športnih konjih (McMeniman in Hintz, 1992; Avellini in sod., 1999). Nekatere raziskave pri športnih konjih pa niso potrdile pozitivnega učinka vitamina E na oksidativni stres pri različnih oblikah fizične aktivnosti (Williams in sod., 2005; William in Carlucci, 2006). Kljub nasprotujočim si rezultatom so različni proizvajalci hrane za konje vitamin E že vključili kot dodatek k prehrani.

V naši raziskavi med kontrolno skupino in skupino konj, ki je prejemale vitamin E, nismo ugotovili značilnih razlik v plazemski koncentraciji vitamina E. Prav tako tudi po dajanju samo vitamina E kot dodatka k prehrani nismo ugotovili značilnega povišanja plazemske koncentracije vitamina E pri primerjavi z bazalnimi koncentracijami. Podobno kot v naši

raziskavi se serumska oz. plazemska koncentracija vitamina E ni povišala tudi pri športnih konjih (Siciliano in sod., 1997; Hargreaves, 2002; Kienzle in sod., 2006; Williams in Carlucci, 2006), čeprav so prejeli vitamin E daljši čas in v višjih odmerkih kot rekreativni konji, vključeni v našo raziskavo. Izostanek značilnega povišanja plazemske koncentracije vitamina E bi v naši raziskavi lahko pripisali slabi absorpciji kot posledici premajhne vsebnosti maščob v hrani konj (Williams in Carlucci, 2006). Na absorpcijo vitamina E in s tem biorazpoložljivost vpliva tako prisotnost ustrezne količine maščob v hrani kakor tudi sam matriks hrane ter koncentracija lipoproteinov, s katerimi se prenaša vitamin E (Hargreaves, 2002; Jeanes in sod., 2004). V nasprotju z rezultati naše raziskave so značilno povišanje plazemske koncentracije vitamina E po dajanju vitamina E kot dodatka k prehrani ugotovili v raziskavah pri športnih konjih (McMeniman in Hintz, 1992; Williams in sod., 2005). Razlike bi lahko pripisali daljšemu času dajanja večjih odmerkov vitamina E (McMeniman in Hintz, 1992) kot v naši raziskavi, kot tudi individualnim razlikam pri konjih, vključenih v raziskavo. V naši raziskavi nismo pri nobeni skupini konj po končani izbrani fizični aktivnosti in 24-urnem počitku ugotovili značilnih sprememb v koncentraciji vitamina E. Podobno so ugotovili tudi v raziskavah pri športnih konjih, podvrženim različnim oblikam fizične aktivnosti (McMeniman in Hintz, 1992; Avellini in sod., 1999; Hargreaves 2002; Marlin in sod., 2002; Kinnunen in sod., 2005<sup>a</sup>; Williams in Burke, 2010). Nasprotno so značilno povišanje plazemske koncentracije vitamina E po fizični aktivnosti ugotovili v raziskavah pri športnih konjih Williams in Carlucci (2006) ter Jagrič Munih (2012). Slednji so povišanje plazemske koncentracije vitamina E pripisali sprostitvi vitamina E iz maščobnega tkiva (Bergero in sod., 2005) kot posledico adaptacijskega mehanizma na povečan oksidativni stres, povzročen s fizično aktivnostjo. McMeniman in Hintz (1992) sta v podobni raziskavi pri športnih konjih, ki so prejeli vitamin E in so bili podvrženi različnim oblikam fizične aktivnosti, ugotovila nasprotujoče si rezultate. Nasprotujoči si rezultati med različnimi raziskavami so najverjetneje posledica individualnih razlik med konji, vključenih v te raziskave, različnih oblik fizične aktivnosti ter uporabe različnih odmerkov in časov dajanja.

### 5.2.2 Koencim Q<sub>10</sub>

Koencim Q<sub>10</sub> je predvsem zaradi svoje poglavitne vloge prenašalca elektronov v mitohondrijski dihalni verigi ter antioksidativnih lastnosti pogosto uporabljen kot dodatek k prehrani pri proučevanju oksidativnega stresa, povzročenega s fizično aktivnostjo in fizičnih

sposobnosti pri ljudeh športnikih ter zdravih ljudeh (Braun in sod., 1991; Laaksonen in sod., 1995; Porter in sod., 1995; Malm in sod., 1997; Zhou in sod., 2005; Cooke in sod., 2008; Gül in sod., 2011; Bloomer in sod., 2012; Díaz-Castro in sod., 2012; Östman in sod., 2012).

V nasprotju s humano medicino so tovrstne raziskave pri športnih konjih izjemno redke. Ena izmed teh je raziskava Jagrič Munih (2012), ki ni pokazala pozitivnega vpliva koencima Q<sub>10</sub> na oksidativni stres, ki bi bil povzročen s fizično aktivnostjo. Pozitivni učinek dajanja koencima Q<sub>10</sub>, tj. značilno večja nasičenost hemoglobina z O<sub>2</sub> pri skupini, ki je prejela koencim Q<sub>10</sub> pri primerjavi s placebo skupino, so ugotovili Rathgeber-Lawrence in sod. (1991). Pri zelo intenzivni fizični aktivnosti (*ang. high intensity exercise*) lahko pri športnih konjih pride do pomanjkanja endogenega koencima Q<sub>10</sub>, kar kaže na pomen dajanja koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani pri tovrstnih obremenitvah in treningih (Sinatra in sod., 2014). Predvidevamo, da se lahko tudi pri rekreativnih konjih, ki niso izpostavljeni redni fizični aktivnosti, z občasno fizično aktivnostjo poraba endogenega koencima Q<sub>10</sub> poveča, zato bi podobno kot pri športnih konjih, lahko dajanje koencima Q<sub>10</sub> kot dodatka k prehrani povečalo fizične sposobnosti in zmanjšalo oksidativni stres.

V okviru prvega sklopa naše raziskave so pri vseh treh skupinah konj, ki so dobivali 28 dni zapored, 2-krat dnevno (boljša absorpcija manjših količin; Bhagavan in Chopra, 2007), tri različne odmerke koencima Q<sub>10</sub> na dan (400, 600 in 800 mg/L), povprečne plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub> dosegle najvišjo vrednost 6–12 ur po prvem odmerku, podobno kot so to ugotovili pri športnih konjih (Jagrič Munih, 2012) in ljudeh (Weber in sod., 1997; Miles in sod., 2002; Bhagavan in Chopra, 2006), kjer so uporabili različne odmerke različnih oblik (prašek, oljne raztopine, paste idr.). Manjše povišanje koncentracije koencima Q<sub>10</sub> v plazmi kaže na počasno absorpcijo iz prebavnega trakta v jetrih in nato prehod v sistemski krvni obtok ter naprej prerazporeditev v različna tkiva, kar lahko pripišemo slabi topnosti v vodi, saj je koencim Q<sub>10</sub> topen v maščobah tako kot tudi njegovi veliki molekulski masi (865,34 g/mol) (Bhagavan in Chopra, 2006; Bhagavan in Chopra, 2007). V pasti, ki smo jo uporabili, je koencim Q<sub>10</sub> vključen v kompleks z β-ciklodekstrinom, ki je topen v vodi in s tem bolj biorazpoložljiv (Prošek in sod., 2008). Nasprotno je farmakokinetična analiza pri športnih konjih (Jagrič Munih, 2012) pokazala nizko biološko uporabnost vodotopne oblike koencima Q<sub>10</sub> (ista oblika, kot smo jo uporabili v naši raziskavi ter Prošek in sod. (2008)), kar

je raziskovalka pripisala slabi absorpciji koencima Q<sub>10</sub>. Mehanizem absorpcije in prenosa koencima Q<sub>10</sub> je namreč zelo podoben kot pri vitaminu E (Žmitek in Žmitek, 2009).

V naši raziskavi smo po 14 dneh dajanja koencima Q<sub>10</sub> ugotovili porast povprečne plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub> v krvi na dvakratno vrednost bazalne vrednosti pri odmerku 400 in 600 mg/dan, podobno kot so to ugotovili v raziskavi pri ljudeh športnikih Cooke in sod. (2008). Nasprotno s pričakovanji je bila povprečna plazemska koncentracija koencima Q<sub>10</sub> po 14 dneh dajanja pri odmerku 800 mg/dan približno enaka začetni vrednosti, kar je v nasprotju z rezultati pri športnih konjih (Sinatra in sod., 2014) in ljudeh športnikih (Zhou in sod., 2005; Cooke in sod., 2008), kjer se različni peroralno vneseni odmerki naraščajočih koncentracij odražajo v približno sorazmerno naraščajočih koncentracijah koencima Q<sub>10</sub> v krvi vse od 6 ur do 48 dni. Pri odmerku 800 mg/dan je bila dosežena najvišja povprečna plazemska koncentracija koencima Q<sub>10</sub> 12 ur po dajanju ter je bila 7. dan po dajanju še vedno 1,5-krat višja kot prva vrednost. Od 14. do 28. dne dajanja je plazemska koncentracija koencima Q<sub>10</sub> neprekinjeno padala ter 28., zadnji dan dajanja dosegla vrednost, ki je bila celo nižja od prve vrednosti. Pri odmerku 400 in 600 mg/dan so povprečne plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub> začele padati od 14. pa vse do 28. dneva dajanja koencima Q<sub>10</sub>, kar je v nasprotju z našimi pričakovanji. Rezultate naše raziskave bi morda lahko pripisali slabi biorazpoložljivosti koencima Q<sub>10</sub> (Jagrič Munih, 2012) ter farmakokinetiki koencima Q<sub>10</sub>, ki ni proporcionalna odmerku (Jagrič Munih, 2012), kot tudi majhnemu številu rekreativnih konj, ki so prejeli različne odmerke koencima Q<sub>10</sub>.

Na podlagi naših rezultatov in podatkov farmakokinetične študije (Jagrič Munih, 2012) ter rezultatov raziskave (Sinatra in sod., 2013), ki sta bili izvedeni pri športnih konjih, smo se odločili, da bodo rekreativni konji, vključeni v našo raziskavo, pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti prejeli najvišji izbrani odmerek 800 mg/dan koencima Q<sub>10</sub> in to 14 dni zapored. Enako so naredili v raziskavi pri športnih konjih Sinatra in sod. (2013), saj se je izkazalo, da je odmerek varen in ga konji dobro prenesejo, so brez prebavnih težav ter drugih stranskih učinkov.

V okviru drugega sklopa raziskave med kontrolno skupino in skupino konj, ki je prejela koencim Q<sub>10</sub>, nismo ugotovili značilnih razlik v plazemski koncentraciji koencima Q<sub>10</sub>. Tudi po dajanju samo koencima Q<sub>10</sub> nismo ugotovili značilnega povišanja plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub>, prav tako nismo ugotovili značilnih sprememb plazemske koncentracije

koencima Q<sub>10</sub> po končani izbrani fizični aktivnosti in 24-urnem počitku, kar bi morda lahko pripisali prekratemu času dajanja, slabi absorpciji in individualnim razlikam pri rekreativnih konjih, vključenih v našo raziskavo. Rekreativni konji so – v primerjavi s konji kasači ali katero drugo skupino športnih konj – precej bolj nehomogena skupina (različne pasme, razlike v obsegu treningov, razlike v pogostosti izvajanja fizične aktivnosti, v prehrani idr.), kar lahko privede do raznolikega odziva na fizično aktivnost. Nasprotno so povišane plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub> po daljšem času dajanja koencima Q<sub>10</sub>, kot dodatka k prehrani in uporabi drugačnih odmerkov ugotovili v raziskavah pri športnih konjih (Jagrič Munih, 2012; Sinatra in sod., 2014). Do podobnih ugotovitev so prišli tudi v raziskavah pri ljudeh športnikih (Braun in sod., 1991; Bhagavan in Chopra, 2006; Bhagavan in Chopra, 2007; Hosoe in sod., 2007; Cooke in sod., 2008; Lee in sod., 2012; Östaman in sod., 2012) in zdravih ljudeh (Laaksonen in sod., 1995; Zhou in sod., 2005).

Pri nobeni od preiskovanih skupin konj v naši raziskavi nismo po končani izbrani fizični aktivnosti in 24-urnem počitku ugotovili značilnih sprememb v plazemski koncentraciji koencima Q<sub>10</sub>. Podobno je v raziskavi pri športnih konjih ugotovila Jagrič Munih (2012). Nasprotno so Sinatra in sod. (2014) poročali o značilnem znižanju plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub> pri športnih konjih, in sicer po fizični aktivnosti majhne kot tudi visoke intenzivnosti.

### **5.2.3 Kombinacija vitamina E in koencima Q<sub>10</sub>**

Z dajanjem vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> skupaj k prehrani rekreativnih konj smo ugotavljali njuno morebitno kooperativno in sinergistično delovanje.

V tej skupini preiskovanih konj smo po 14-dnevnem dajanju pri primerjavi s kontrolno skupino ugotovili značilno višje plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub> takoj po končani izvedbi izbrane fizične aktivnosti in še po 24-urnem počitku. Na osnovi rezultatov ugotavljamo, da dajanje obeh antioksidativnih dodatkov k prehrani hkrati vpliva na značilno povišanje koncentracije koencima Q<sub>10</sub> v plazmi rekreativnih konj, kar bi morda lahko pripisali antioksidativnim lastnostim vitamina E. Med posameznimi odvzemi v tej skupini nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji koencima Q<sub>10</sub>.

Izmerjene povprečne koncentracije vitamina E so bile v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E pri primerjavi s kontrolno skupino značilno višje ves čas poskusa, kar bi lahko pripisali dejavnikom, ki jih nismo mogli opredeliti. Prav tako v tej skupini med posameznimi odvzemi nismo ugotovili

značilnih razlik v koncentraciji vitamina E. Nasprotno so povišanje koncentracij obeh antioksidativnih parametrov po skupnem dajanju kot dodatkov k prehrani ugotovili v raziskavi pri ljudeh športnikih Kaikkonen in sod. (1998), medtem ko zmanjšanja oksidativnega stresa po fizični aktivnosti niso ugotovili. Vzrok za to so pripisali premajhnim odmerkom.

### 5.3 SPREMEMBE FIZIOLOŠKIH IN ZUNANJIH PARAMETROV

#### 5.3.1 Spremembe telesne temperature, temperature zraka in relativne vlažnosti

Vsi konji, ki so bili vključeni v našo raziskavo, so imeli pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti telesno temperaturo znotraj referenčne vrednosti za konje v mirovanju (Priloga 1: Tabela 7; Skušek, 1995). Povprečne telesne temperature pri vseh skupinah konj so bile po koncu izbrane fizične aktivnosti značilno povišane, in to nekoliko nad zgornjo mejo referenčne vrednosti zaradi povečanega metabolizma mišic med izvedbo izbrane fizične aktivnosti. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi pri športnih konjih (Art in Lekeux, 2005; Piccione in sod., 2011<sup>b</sup>). Telesna temperatura pri rekreativnih konjih se je v povprečju povišala le za 1,7 °C, kar kaže na dobro regulacijo telesne temperature kot fiziološkega procesa (potenje, vazodilatacija idr.) in na primerne zunanje pogoje za izvajanje izbrane fizične aktivnosti.

Izmerjene povprečne temperature zraka in relativne vlažnosti pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti so bile znotraj priporočenih vrednosti za normalno delo konj (Priloga 1: Tabela 7; Jurkovič, 1983; Morgan, 1998). Pri športnih konjih (Ott, 2005) in ljudeh športnikih (Zhao in sod., 2013) so ugotovili, da povišana temperatura zraka značilno vpliva na telesno temperaturo in s tem na slabšo izvedbo fizične aktivnosti. V naši raziskavi temperatura zraka in relativna vlažnost na slednjo nista vplivali.

#### 5.3.2 Spremembe frekvence srčnega utripa

Konji, vključeni v našo raziskavo, so imeli pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti ne glede na skupino povprečne vrednosti frekvence srčnega utripa znotraj referenčne vrednosti (Priloga 1: Tabela 7; Skušek, 1995) in podobne, kot so ugotovili Gehrke in sod. (2011), ki so konjem merili frekvenco srčnega utripa s podobnim telemetričnim aparatom, kot smo ga uporabili v naši raziskavi. V povprečju so se pri vseh skupinah konj frekvence srčnega utripa po končani

izbrani fizični aktivnosti značilno povišale približno za 100 %, kar lahko pripišemo povečani potrebi po kisiku in energiji ob povečani fizični aktivnosti. Pri športnih konjih (Muñoz in sod., 1995; Zobba in sod., 2011; Lewinski in sod., 2013; Piccione in sod., 2013) so ugotovili povišane frekvence srčnega utripa pri različnih oblikah fizične aktivnosti (tekoči trak, preskakovanje ovir, galopiranje, dresura idr.), vendar nižje, kot smo jih izmerili našim rekreativnim konjem. Nižje frekvence srčnega utripa pri športnih konjih lahko pripišemo že prilagojenemu odzivu organizma na intenzivnejše fizične aktivnosti, kot so to ugotovili Rietman in sod. (2004), zaradi česar odziv simpatičnega živčevja ni bil tako izrazit.

### 5.3.3 Spremembe frekvence dihanja

Povprečne vrednosti frekvence dihanja pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti so bile pri vseh skupinah konj, vključenih v našo raziskavo, znotraj referenčne vrednosti (Priloga 1: Tabela 7; Skušek, 1995). V povprečju so se vrednosti pri vseh skupinah po končani izbrani fizični aktivnosti značilno povišale za približno 400 %. Tako visoko povišanje pri vseh skupinah rekreativnih konjih lahko pripišemo izbrani fizični aktivnosti, ki je povzročila povečanje potreb po O<sub>2</sub> v mišicah. Mehanizmi, ki pospešujejo dihanje med fizično aktivnostjo, še niso v celoti razjasnjeni. Verjetno nevroni možganske skorje, ki aktivirajo motorne nevrone delujočih mišic, stimulirajo tudi respiratorni center. Dodatne dražljaje respiratorni center dobiva tudi iz proprioreceptorjev v sklepih, kitah in mišicah (Sjaastad in sod., 2010). Pri športnih konjih so raziskovalci (Lafortuna in Saibene, 1991; Art in Lekeux, 2005) ugotovili, da frekvence dihanja naraščajo sorazmerno z intenzivnostjo in trajanjem fizične aktivnosti ter obratno sorazmerno s stopnjo treniranosti konj.

Glede na vrednosti fizioloških parametrov (frekvenca srčnega utripa, frekvenca dihanja in telesna temperatura), ki se v naši raziskavi niso značilno razlikovale med skupinami konj, ugotavljamo, da antioksidativni dodatki niso vplivali na vrednosti merjenih fizioloških parametrov pri rekreativnih konjih.

## 5.4 SPREMEMBE PLAZEMSKKE KONCENTRACIJE OZNAČEVALCA LIPIDNE PEROKSIDACIJE

### 5.4.1 Spremembe plazemske koncentracije malondialdehida

Povišana plazemska koncentracija malondialdehida, najpogosteje uporabljenega označevalca lipidne peroksidacije (Nielsen in sod., 1997) in s tem pokazatelja oksidativnega stresa, kaže odziv organizma na stres, npr. fizično aktivnost, ki je povzročila prekomerno nastajanje ROS ter posledično povečan obseg lipidne peroksidacije (Deaton in Marlin, 2003; Vollaard in sod., 2005; Fisher-Wellman in Bloomer, 2009; Marciniak in sod., 2009). Številne raziskave pri konjih so potrdile povečan obseg lipidne peroksidacije pri različnih oblikah fizične aktivnosti (Chiaradia in sod., 1998; Avellini in sod., 1999; Frankiewicz-Józko in Szarska, 2000; Marlin in sod., 2002; Kinnunen in sod., 2005<sup>a</sup>; Muñoz-Escassi in sod., 2006; Jagrič Munih in sod., 2012). Z dajanjem antioksidantov kot dodatkov k prehrani, naj bi ti zmanjšali obseg lipidne peroksidacije in s tem znižali koncentracije malondialdehida oz. drugih produktov lipidne peroksidacije (Rokitzki in sod., 1994; Ji, 1995; Vasankari in sod., 1997; Avellini in sod., 1999; Sacheck in sod., 2003; Urso in Clarkson, 2003; Gül in sod., 2011; Díaz-Castro in sod., 2012).

V naši raziskavi smo pri konjih po končani izbrani fizični aktivnosti v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub> ugotovili značilno višjo koncentracijo malondialdehida pri primerjavi z vrednostjo, izmerjeno pred izbrano fizično aktivnostjo, kar kaže na povečan obseg lipidne peroksidacije pri teh dveh skupinah konj. Nasprotno smo pri skupinah konj, ki sta prejemale vitamin E oz. kombinacijo vitamina E in koencima Q<sub>10</sub>, po izvedbi izbrane fizične aktivnosti ugotovili celo rahlo, a neznačilno znižanje koncentracije malondialdehida. Rezultati naše raziskave vsekakor nakazujejo pozitiven vpliv vitamina E in kombinacije vitamina E ter koencima Q<sub>10</sub> na zmanjšanje obsega lipidne peroksidacije. Raziskava ni pokazala pozitivnega vpliva antioksidativnih dodatkov k prehrani, vitamina E, koencima Q<sub>10</sub> ter njune kombinacije na obseg lipidne peroksidacije kot posledice oksidativnega stresa povzročenega z izbrano fizično aktivnostjo. Med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke, nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji malondialdehida po izvedbi izbrane fizične aktivnosti. Značilno nižja koncentracija malondiladehida po končani izbrani fizični aktivnosti v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub>, ne pa tudi pri primerjavi s skupino vit. E, sicer ne potrjuje sinergističnega delovanja teh dveh

antioksidativnih dodatkov, kljub temu kaže na pozitiven učinek kombinacije vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> na zmanjšanje obsega lipidne peroksidacije.

Podobno kot v naši raziskavi tudi pri športnih konjih Jagrič Munih (2012) ni ugotovila značilnega vpliva dajanja samo koencima Q<sub>10</sub> na zmanjšanje obsega lipidne peroksidacije kot posledice fizične aktivnosti.

Do ugotovitve, da dajanje vitamina E kot dodatka k prehrani zmanjša obseg lipidne peroksidacije po fizični aktivnosti, so prišli pri športnih konjih Avellini in sod. (1999).

Povišane koncentracije malondialdehida so v naši raziskavi ostale v kontrolni skupini značilno povišane še po 24-urnem počitku, kar lahko pripišemo počasnemu procesu izločanja produktov lipidne peroksidacije. Podobno so povišane koncentracije malondialdehida ugotovili 24 ur (Balogh in sod., 2001; Jagrič Munih, 2012), 48 ur (Jagrič Munih, 2012) ter 14 dni (Chiaradia in sod., 1998) po končani fizični aktivnosti pri športnih konjih, pri ljudeh športnikih pa znižanje koncentracije malondialdehida po 24-urnem počitku (Sacheck in sod., 2003).

## 5.5 SPREMEMBE KONCENTRACIJ ANTIOKSIDATIVNIH PARAMETROV

Podatki iz strokovne literature navajajo, da sta antioksidativni odziv in adaptacija antioksidativnega obrambnega sistema, ki zajemata tako znotrajcelične (antioksidativni encimi) kot tudi zunajcelične plazemske antioksidante ( $\alpha$ -tokoferol, sečna kislina, celokupna antioksidativna kapaciteta), prisotna tako pri akutni kot tudi kronični fizični aktivnosti (Ji, 1995).

### 5.5.1 Spremembe koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete

Celokupna antioksidativna kapaciteta zajema skupno delovanje vseh antioksidantov v plazmi ter telesnih tekočinah in predstavlja integriran parameter, ne le vsote vseh merljivih antioksidantov, kot so urati, askorbinska kislina, bilirubin, proteinske sulfhidrilne (SH) skupine, koencim Q<sub>10</sub>, vitamin E ter mnogi drugi (Aejmelaeus in sod., 1997; Ghiselli in sod., 2000; Serafini in Del Rio, 2004). Izčrpavanje celokupne antioksidativne kapacitete, ki nastaja zaradi oksidativnega stresa med fizično aktivnostjo, se prekine s sproščanjem antioksidantov (z indukcijo ali aktivacijo antioksidativnih encimov), ki so nakopičeni v maščobnem tkivu in jetrih, kar se kaže s povišanjem plazemske oz. serumske koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete (Psotová in sod., 2001; Fisher-Wellman in Bloomer, 2009). V

kasnejši fazi oksidativnega stresa lahko vrednost celokupne antioksidativne kapacitete v krvi pade zaradi znižanja količine antioksidantov. Na povišanje koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete lahko značilno vplivajo antioksidativni dodatki k prehrani in tudi sama prehrana (Cao in sod., 1998; Serafini in Del Rio, 2004).

V naši raziskavi nismo pri nobenem odvzemu ugotovili značilnih razlik celokupne antioksidativne kapacitete med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke, zato ugotavljamo, da dodatki k prehrani rekreativnih konj niso vplivali na koncentracijo celokupne antioksidativne kapacitete. Podobno je pri športnih konjih, ki so 8 tednov prejemali koencim Q<sub>10</sub>, ugotovila Jagrič Munih (2012). Nasprotno so značilno povišano koncentracijo celokupne antioksidativne kapacitete po dajanju koencima Q<sub>10</sub> ugotovili pri ljudeh športnikih (Díaz-Castro in sod., 2012), kar bi, pričakovano, lahko pripisali antioksidativnim lastnostim koencima Q<sub>10</sub> (Kaikkonen in sod., 2002; Bentinger in sod., 2007). V omenjenih raziskavah so po dajanju tega antioksidativnega dodatka ugotovili značilno povišane plazemske koncentracije koencima Q<sub>10</sub>.

Glede na antioksidativne lastnosti vitamina E bi pričakovali, da bo tudi po dajanju vitamina E prišlo do značilnega povišanja plazemske koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete. Edini raziskavi pri ljudeh športnikih, kjer so za oceno antioksidativnega statusa po fizični aktivnosti in dajanju vitamina E določali tudi celokupno antioksidativno kapaciteto, nista ugotovili povišanja koncentracije tega parametra po dajanju vitamina E, kljub značilnemu povišanju plazemske koncentracije vitamina E (Sacheck in sod., 2003; McAnulty in sod., 2005). Podobno so ugotovili po dajanju kombinacije vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> pri ljudeh športnikih Kaikkonen in sod. (1998).

Izostanek značilnega povišanja celokupne antioksidativne kapacitete v naši raziskavi bi morda lahko pripisali nespremenjenim plazemskim koncentracijam vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> po 14 dneh dajanja teh dveh antioksidativnih dodatkov posamezno in skupaj ter pri vseh skupinah konj tudi uporabi metode TEAC (troloks ekvivalentna antioksidativna kapaciteta – ABTS metoda). Metode določanja celokupne antioksidativne kapacitete v plazmi oz. serumu se med seboj zelo razlikujejo. Zaradi tega rezultatov raziskav, ki so uporabljale različne metode določanja celokupne antioksidativne kapacitete, ne moremo primerjati med seboj (Cao in Prior, 1998; Prior in Cao, 1999). Zaradi metodoloških razlik določanja celokupne antioksidativne kapacitete so Balogh in sod. (2001) uporabili dve različni metodi določanja

tega parametra pri ugotavljanju vpliva fizične aktivnosti na ta antioksidativni parameter pri športnih konjih ter ugotovili značilno povišanje celokupne antioksidativne kapacitete takoj po fizični aktivnosti z metodo FRAP (železo reducirajoči antioksidativni potencial), medtem ko značilnega povišanja niso ugotovili z metodo TEAC (troloks ekvivalentna antioksidativna kapaciteta). Slednjo metodo smo uporabili tudi v naši raziskavi.

V naši raziskavi pri nobeni skupini konj nismo ugotovili vpliva izbrane fizične aktivnosti na koncentracijo celokupne antioksidativne kapacitete, saj se vrednosti pred in po izbrani fizični aktivnosti, kljub manjšemu povišanju niso značilno razlikovale. Glede na rezultate naše raziskave ugotavljamo podobno kot pri športnih konjih Kedzierski in sod. (2009), da izbrana fizična aktivnost ni bila dovolj intenzivna, da bi prišlo do sproščanja antioksidantov, ki bi prispevali k značilnemu povišanju celokupne antioksidativne kapacitete po izbrani fizični aktivnosti. Podobno so ugotovili pri športnih konjih Kinnunen in sod. (2005<sup>b</sup>), nasprotno značilno povišanje koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete po fizični aktivnosti pri športnih konjih (Avellini in sod., 1999; Balogh in sod. 2001; Jagrič Munih, 2012), kar pripisujejo sproščanju antioksidantov iz maščobnega tkiva in jeter ter aktivaciji nekaterih antioksidativnih encimov med fizično aktivnostjo. Izostanek povišanja celokupne antioksidativne kapacitete bi lahko pripisali tudi metodi, ki smo jo uporabili v naši raziskavi.

Po 24-urnem počitku se je v naši raziskavi koncentracija celokupne antioksidativne kapacitete pri vseh skupinah konj znižala oz. približala koncentracijam, izmerjenim pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti, kar najverjetneje kaže na porabo antioksidantov v krvi in njihovo morebitno prerazporeditev med znotraj- in zunajceličnim prostorom, kot je pri športnih konjih podobno ugotovila Jagrič Munih (2012).

### **5.5.2 Spremembe aktivnosti glutathion peroksidaze in superoksid dismutaze**

Glutathion peroksidaza je poleg superoksid dismutaze eden najpogostejše merjenih krvnih parametrov pri proučevanju antioksidativnega statusa oz. oksidativnega stresa, povzročenega s fizično aktivnostjo pri konjih in ljudeh. Veliko število raziskav na tem področju kaže na nasprotujoče si rezultate glede sprememb aktivnosti eritrocitne glutathion peroksidaze in superoksid dismutaze po fizični aktivnosti konj in ljudi (Ji, 1995; Ji in Leichtweis, 1997; Deaton in Marlin, 2003; Finaud in sod., 2006; Kirschvink in sod., 2008; Fisher-Wellman in Bloomer, 2009). Raznoliki antioksidativni odgovor naj bi bil posledica razlik v časih vzorčenja, intenzivnosti in trajanju fizične aktivnosti ter v velikih individualnih razlikah med

konji, vključenimi v raziskave (Deaton in Marlin, 2003; Kirschvink in sod., 2008; Fisher-Wellman in Bloomer, 2009). Aktivnost antioksidativnih encimov naj bi se povišala na začetku oksidativnega stresa, in sicer kot sestavni del adaptacijskega mehanizma, medtem ko naj bi bila znižana aktivnost posledica dlje trajajočega oksidativnega stresa (velika poraba encimov) (Finaud in sod., 2006).

Strokovna literatura navaja, da na aktivnost eritrocitne superoksid dismutaze vplivata intenzivnost in trajanje fizične aktivnosti. Večina raziskav poroča o povišani aktivnosti eritrocitne superoksid dismutaze pri konjih in ljudeh po fizični aktivnosti večje intenzivnosti, medtem ko po fizični aktivnosti manjše intenzivnosti ali kratkega trajanja ni bilo sprememb v aktivnosti tega antioksidativnega encima. V primerjavi z aktivnostjo eritrocitne superoksid dismutaze naj bi si bili rezultati glede aktivnosti glutathion peroksidaze po fizični aktivnosti še bolj nasprotujoči (Ji in Leichtweis, 1997; Deaton in Marlin, 2003).

Pri primerjavi, kjer so proučevali vpliv fizične aktivnosti na tri glavne znotrajcelične antioksidativne encime: glutathion peroksidazo, superoksid dismutazo in katalazo, so raziskave o vplivu antioksidativnih dodatkov k prehrani (vitamin E in koencim Q<sub>10</sub>) in fizični aktivnosti na te tri antioksidativne encime zelo redke. Pri večini primerov so raziskave usmerjene v proučevanje vpliva antioksidativnih dodatkov na zmanjšanje obsega lipidne peroksidacije kot posledice oksidativnega stresa, povzročenega s fizično aktivnostjo ter fizične sposobnosti sodelujočih (Ji, 1995; Ji in Leichtweis, 1997; Deaton in Marlin, 2003; Finaud in sod., 2006; Kirschvink in sod., 2008; Fisher-Wellman in Bloomer, 2009).

V naši raziskavi pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik v aktivnosti glutathion peroksidaze med kontrolno skupino in skupino CoQ<sub>10</sub>, medtem ko smo pri vseh odvzemih ugotovili značilno nižje aktivnosti v kontrolni skupini pri primerjavi s skupinama vit. E in CoQ<sub>10</sub>+vit. E. Glede na to, da je bila aktivnost glutathion peroksidaze značilno višja v skupinah, ki sta prejemale vitamin E oz. kombinacijo vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> že pred dajanjem antioksidativnih dodatkov, lahko te rezultate pripišemo individualnim razlikam med konji ter zaključimo, da v naši raziskavi antioksidativni dodatki niso vplivali na aktivnost glutathion peroksidaze. Podobno kot v naši raziskavi tudi pri športnih konjih Jagrič Munih (2012) ni ugotovila značilnega vpliva 8-tedenskega dajanja koencima Q<sub>10</sub> na aktivnost glutathion peroksidaze. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi v raziskavi pri ljudeh športnikih, ki so prejemale koencim Q<sub>10</sub> Díaz-Castro in sod. (2012). Podobno kot tudi v naši raziskavi

značilnega vpliva vitamina E na aktivnost tega antioksidativnega encima niso ugotovili pri športnih konjih McMeniman in Hintz (1992) ter Williams in Carlucci (2006).

V naši raziskavi pred in takoj po končani izvedbi izbrane fizične aktivnosti pri nobeni skupini konj nismo ugotovili značilnih sprememb v aktivnosti glutathion peroksidaze. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi pri športnih konjih McMeniman in Hintz (1992), Balogh in sod. (2001), Jagrič Munih (2012) ter Siqueira in sod. (2014). Rezultate bi morda lahko pripisali premajhni intenzivnosti izbrane fizične aktivnosti, zaradi katere pri rekreativnih konjih ni prišlo do povečanega nastajanja ROS (vodikov peroksid, lipidni hidroperoksidi) v taki meri, da bi ti privedli do aktivacije in s tem povišanja aktivnosti tega antioksidativnega encima. Domnevajo, da povišana aktivnost glutathion peroksidaze kaže na povečano znotrajcelično nastajanje vodikovega peroksida in lipidnih hidroperoksidov med fizično aktivnostjo (Ji in Leichtweis, 1997). Nasprotno naj bi bila znižana aktivnost glutathion peroksidaze posledica povečane tvorbe kisikovih prostih radikalov pri fizični aktivnosti, predvsem superoksidnih radikalov. Dokazano je, da ti inaktivirajo glutathion peroksidazo in tako znižajo aktivnost tega encima (Blum in Fridovich, 1985). Pri športnih konjih so po fizični aktivnosti ugotovili značilno znižane aktivnosti glutathion peroksidaze (Ono in sod., 1990; Williams in sod., 2003; Al-Qudah in Al-Majali, 2006; Muñoz-Escassi in sod., 2006; Jagrič Munih, 2012) kot tudi značilno povišane (Frankiewicz-Józko in Szarska, 2000; Hargreaves in sod., 2002; Williams in Carlucci, 2006).

Po 24-urnem počitku se je v naši raziskavi aktivnost glutathion peroksidaze značilno povišala le v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E; podobno povišanje je v raziskavi pri športnih konjih ugotovila Jagrič Munih (2012). Kasnejše povišanje aktivnosti glutathion peroksidaze lahko pomeni, da gre za nadomestni odgovor in, da je glutathion peroksidaza občutljiv pokazatelj oksidativnega stresa, ki ga povzroči fizična aktivnost (Sacheck in Blumberg, 2001).

V raziskavi med kontrolno skupino in skupinami, ki so prejemale antioksidativni dodatek, pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik v aktivnosti superoksid dismutaze, zato ugotavljamo, da dodatki k prehrani rekreativnih konj niso vplivali na aktivnost tega antioksidativnega encima. Podobno kot v naši raziskavi tudi v raziskavi pri športnih konjih Jagrič Munih (2012) ni ugotovila značilnega vpliva 8-tedenskega dajanja koencima Q<sub>10</sub> na aktivnost superoksid dismutaze. Tako kot dajanje koencima Q<sub>10</sub> tudi dajanje vitamina E k prehrani športnih konj ni vplivalo na povišanje aktivnosti superoksid dismutaze (Ono in sod.,

1990; McMeniman in Hintz, 1992). Povišane aktivnosti superoksid dismutaze so po dajanju enega odmerka koencima Q<sub>10</sub> pri ljudeh športnikih izmerili po fizični aktivnosti Cooke in sod. (2008), ne pa tudi po 14-dnevnem dajanju.

V naši raziskavi nismo pri nobeni skupini konj med posameznimi odvzemi ugotovili značilnih razlik v aktivnosti superoksid dismutaze. Na podlagi tega ugotavljamo, da izbrana fizična aktivnost pri rekreativnih konjih ni povzročila nastanka superoksidnega radikala v taki meri, da bi prišlo do aktivacije tega antioksidativnega encima. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi pri športnih konjih (Ono in sod., 1990; McMeniman in Hintz, 1992; Balogh in sod., 2001; De Moffarts in sod., 2006; Jagrič Munih, 2012; Siqueira in sod., 2014). Nasprotno so povišanje aktivnosti tega antioksidativnega encima po fizični aktivnosti pri športnih konjih ugotovili Frankiewicz-Józko in Szarska (2000).

## 5.6 SPREMEMBE HEMATOLOŠKIH IN BIOKEMIJSKIH PARAMETROV

Hematološki parametri imajo pomembno vlogo pri podpori povečanega metabolizma med fizično aktivnostjo, zato so dober pokazatelj zdravstvenega stanja in odgovora na fizično aktivnost (Kingston, 2004; McGowan in Hodgson, 2014). Fizična aktivnost poveča presnovo ogljikovih hidratov, maščob in proteinov zaradi povečanih potreb po energiji v skeletnih mišicah. Učinek fizične aktivnosti na biokemijske parametre je odvisen od intenzivnosti in časa trajanja fizične aktivnosti. Spremembe biokemijskih parametrov v serumu oz. plazmi kažejo predvsem na spremembe v prepustnosti celične membrane ali na njeno poškodbo in so, tako kot hematološki parametri, dober pokazatelj zdravstvenega stanja in odgovora na fizično aktivnost. Spremenjene vrednosti večine biokemijskih parametrov se v času od 30 minut do 24 ur po končani fizični aktivnosti približajo vrednostim, izmerjenim pred fizično aktivnostjo (Kingston, 2004; McGowan in Hodgson, 2014).

V naši raziskavi smo ugotovili značilne spremembe nekaterih hematoloških in biokemijskih parametrov, ki kažejo na fiziološki odziv rekreativnih konj na izbrano fizično aktivnost. Kljub značilnim spremembam nekaterih hematoloških in biokemijskih parametrov med raziskavo so vrednosti večine teh parametrov ostale znotraj meja referenčnih vrednosti (Priloga 1: Tabela 9). Pri maloštevilnih biokemijskih parametrih smo ugotovili manjša odstopanja od meja referenčnih vrednosti, ki niso bila klinično pomembna.

### **5.6.1 Spremembe številčne koncentracije eritrocitov, levkocitov, trombocitov, koncentracije hemoglobina, deleža hematokrita in razmerja nevtrofilci/limfociti**

V raziskavi med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konjev, ki so prejemale antioksidativne dodatke k prehrani, nismo pri nobenem odvzemu ugotovili značilnih razlik pri merjenih hematoloških parametrih, zato ugotavljamo, da dodatki k prehrani rekreativnih konj niso vplivali na vrednosti hematoloških parametrov. Podobno kot v naši raziskavi vpliva antioksidativnih dodatkov na hematološke parametre nista ugotovila v raziskavah Jagrič Munih (2012) pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejemali koencim Q<sub>10</sub>, ter Kaikkonen in sod. (1998) pri ljudeh športnikih, ki so 3 tedne prejemali kombinacijo vitamina E in koencima Q<sub>10</sub>.

V skupinah CoQ<sub>10</sub> in CoQ<sub>10</sub>+vit. E smo ugotovili značilno povišane številčne koncentracije eritrocitov in levkocitov ter koncentracije hemoglobina, deleže hematokrita in razmerja nevtrofilci/limfociti po dajanju dodatkov k prehrani pri primerjavi z bazalnimi vrednostmi, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji.

Takoj po izbrani fizični aktivnosti smo pri vseh skupinah konj ugotovili značilno povišanje vseh hematoloških parametrov, z izjemo številčne koncentracije trombocitov in razmerja nevtrofilci/limfociti, ki se je značilno znižalo v skupini vit. E, medtem ko je pri ostalih skupinah prišlo do manjšega, neznačilnega znižanja tega parametra. Povišane številčne koncentracije eritrocitov in levkocitov ter koncentracije hemoglobina in deleža hematokrita lahko pripišemo sproščanju kateholaminov sredice nadledvične žleze (adrenalin, noradrenalin, dopamin) in posledično krčenju vranice, ki iztisne številne krvne celice v krvni obtok kot odziv konja na vznemirjenje in fizično aktivnost (Kingston, 2004; McGowan in Hodgson, 2014). Povišanje številčne koncentracije eritrocitov, koncentracije hemoglobina in deleža hematokrita lahko deloma pripišemo tudi padcu volumna plazme, ki je posledica dehidracije (Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; McGowan in Hodgson, 2014). Do podobnih ugotovitev so prišli v različnih raziskavah pri športnih konjih (Snow, 1990; Piccione in sod., 2010<sup>a</sup>; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012; Escribano in sod., 2013). Padec razmerja nevtrofilci/limfociti po izbrani fizični aktivnosti v naši raziskavi je podoben kot pri intenzivnejši fizični aktivnosti, ki traja krajši čas (npr. galopske ali kasaške dirke), saj se zaradi sproščanja limfocitov iz vranice njihovo število poviša (Čebulj-Kadunc in Cestnik, 2002; Kingston, 2004; Zobba in sod., 2011; McGowan in Hodgson, 2014), kar se je posebej pokazalo pri skupini vit. E.

Po 24-urnem počitku smo pri vseh skupinah konj ugotovili značilno znižanje vseh hematoloških parametrov na raven pred izbrano fizično aktivnostjo, z izjemo številčne koncentracije trombocitov in razmerja nevtrofilci/limfociti. Vrednost razmerja nevtrofilci/limfociti se je značilno povežala v skupini vit. E, medtem ko je pri ostalih skupinah prišlo do manjšega, neznačilnega povišanja tega parametra na raven pred izbrano fizično aktivnostjo. Številčna koncentracija eritrocitov in levkocitov se povrne ali približa bazalni vrednosti že 1–2 uri po zmerni fizični aktivnosti, razmerje nevtrofilci/limfociti pa v času 6 ur (McGowan in Hodgson, 2014).

Do sprememb številčne koncentracije trombocitov ni prišlo pri nobeni skupini konj in pri nobenem odvzemu zato, ker so trombociti stalno prisotni v krvi, vendar se aktivirajo šele po poškodbi stene krvnih žil in takrat bi pričakovali povišanje njihove številčne koncentracije (Silverthorn, 2007). Ugotavljamo, da izvedba izbrane fizične aktivnosti pri rekreativnih konjih ni povzročila poškodb sten krvnih žil. Znižanje številčne koncentracije trombocitov po končani fizični aktivnosti so ugotovili pri športnih konjih Zobba in sod. (2011).

#### **5.6.2 Spremembe koncentracije albumina in celokupnih proteinov**

Merjenje in spremljanje koncentracije albumina ter celokupnih proteinov se pogosto uporablja za ugotavljanje dehidracije in vzpostavitev normalnega stanja po intenzivnejši fizični aktivnosti pri športnih konjih, predvsem v vročih in vlažnih zunanjih pogojih (McGowan in Hodgson, 2014).

V naši raziskavi med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke k prehrani, pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik koncentracije albumina in celokupnih proteinov, zato ugotavljamo, da antioksidativni dodatki niso vplivali na koncentracije teh dveh biokemijskih parametrov. Podobno je pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejemali koencim Q<sub>10</sub>, ugotovila Jagrič Munih (2012).

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka nismo ugotovili značilnih sprememb koncentracije albumina pri nobeni skupini konj, značilno povišanje koncentracije celokupnih proteinov smo ugotovili le v skupini CoQ<sub>10</sub>, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji.

Značilno povišane koncentracije albumina in celokupnih proteinov po izbrani fizični aktivnosti smo ugotovili le v kontrolni skupini. V skupinah CoQ<sub>10</sub> in CoQ<sub>10</sub>+vit. E je prišlo do rahlega, vendar neznačilnega povišanja, medtem ko je v skupini vit. E koncentracija albumina ostala praktično nespremenjena, koncentracija celokupnih proteinov se je celo nekoliko znižala, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji. Značilno povišane koncentracije albumina in/ali celokupnih proteinov po končanih različnih oblikah fizičnih aktivnosti so ugotovili pri športnih konjih (Snow in sod., 1982; Lekeux in sod., 1991; Balogh in sod., 2001; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012; Adamu in sod., 2013; Escribano in sod., 2013; Tofé in sod., 2013). Manjše, neznačilno povišanje koncentracije albuminov in/ali celokupnih proteinov so podobno kot v naši raziskavi ugotovili tudi pri športnih konjih (Snow, 1990; Özcan in sod., 2002; Kedzierski in sod., 2009). Razlike v odzivu konj na fizično aktivnost med raziskavami bi lahko pripisali razlikam v intenzivnosti in trajanju fizične aktivnosti ter individualnim razlikam med konji (pasma, spol, kondicijsko stanje), ki so sodelovali v teh raziskavah.

Po 24-urnem počitku se je pri preiskovanih konjih koncentracija albumina in celokupnih proteinov pri vseh skupinah konj znižala na nivo pred fizično aktivnostjo, kar je tudi pri športnih konjih ugotovila Jagrič Munih (2012).

### **5.6.3 Spremembe aktivnosti aspartat-aminotransferaze, kreatin-kinaze, laktat-dehidrogenaze, alanin-aminotransferaze, alkalne fosfataze in gama-glutamilttransferaze**

Za oceno poškodbe mišičnih celic po intenzivnejših fizičnih aktivnostih zaradi povečanega metabolizma se najpogosteje uporabljajo encimi aspartat-aminotransferaza, kreatin-kinaza in laktat-dehidrogenaza, za oceno delovanja jeter pa alanin-aminotransferaza, alkalna fosfataza in gama-glutamilttransferaza (Kingston, 2004; McGowan in Hodgson, 2014).

Po 14-dnevnem prejemanju antioksidativnih dodatkov (pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti) med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj nismo ugotovili značilnih razlik v aktivnosti aspartat-aminotransferaze, kreatin-kinaze, laktat-dehidrogenaze, alanin-aminotransferaze in alkalne fosfataze, zato ugotavljamo, da antioksidativni dodatki k prehrani rekreativnih konj v naši raziskavi niso vplivali na aktivnosti teh encimov. Ugotovili smo le značilno višje aktivnosti gama-glutamilttransferaze v skupini vit. E pri primerjavi s kontrolno skupino, in sicer pri vseh štirih odvzemih, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med

konji, saj so bili vsi konji zdravi, vrednosti gama-glutamilttransferaze pa so bile pri vseh odvzemih v mejah referenčnih vrednosti (Priloga 1, Tabela 9). Podobno je pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejeli koencim Q<sub>10</sub>, ugotovila Jagrič Munih (2012). Tako kot v naši raziskavi tudi Siciliano in sod. (1997) ter Williams in Carlucci (2006) pri športnih konjih niso ugotovili vpliva vitamina E na zmanjšanje porasta mišičnih encimov (aspartat-aminotransferaze in kreatin kinaze) v serumu po fizični aktivnosti. Vendar je bila pri športnih konjih aktivnost kreatin-kinaze po fizični aktivnosti precej višja (na meji značilnosti;  $p=0,05$ ) v kontrolni skupini konj kot v skupini konj, ki je prejela vitamin E (Williams in Carlucci, 2006). Rezultati te raziskave nakazujejo vpliv vitamina E na zmanjšanje porasta aktivnosti kreatin-kinaze v serumu po fizični aktivnosti, na kar kažejo tudi rezultati pri športnih konjih (Williams in sod., 2005), kjer so ugotovili značilno negativno povezavo med odmerkom zaužitega vitamina E in aktivnostjo mišičnih encimov (kreatin-kinaze in aspartat-aminotransferaze). Podobno kot v naši raziskavi tudi v raziskavi pri ljudeh Helgheim in sod. (1979) niso ugotovili vpliva vitamina E na zmanjšanje porasta aktivnosti aspartat-aminotransferaze, kreatin-kinaze in laktat-dehidrogenaze po fizični aktivnosti večje intenzivnosti. Nasprotno so značilno zmanjšanje porasta serumske aktivnosti mitohondrijskega izoencima aspartat-aminotransferaze po fizični aktivnosti pri ljudeh, ki so kot dodatek k prehrani prejeli vitamin E pred fizično aktivnostjo, ugotovili Sumida in sod. (1989). Značilno nižjo aktivnost serumske kreatin-kinaze po fizični aktivnosti so pri primerjavi s placebo skupino ugotovili pri zdravih ljudeh, ki so 12 tednov prejeli kot dodatek k prehrani vitamin E (Sacheck in sod., 2003), ter pri ljudeh športnikih, ki so vitamin E prejeli 5 mesecev (Rokitzki in sod., 1994). V teh primerih naj bi vitamin E kot najučinkovitejši antioksidant v biološki membrani zmanjšal obseg oksidativne poškodbe (lipidno peroksidacijo) membran miocitov in mitohondrijske membrane ter na ta način vplival na manjši porast aktivnosti mišičnih encimov (aspartat-aminotransferaza in kreatin-kinaza) po fizični aktivnosti (Sumida in sod., 1989; Sacheck in sod., 2003).

Aspartat-aminotransferaza in kreatin-kinaza sta najpogosteje merjena mišična encima pri proučevanju odziva športnih konj in ljudi športnikov na fizično aktivnost. V nekaterih primerih raziskovalci poročajo tudi o povišanju mišičnega encima laktat-dehidrogenaze, ki se nahaja tudi v celicah miocitov (Kingston, 2004; McGowan in Hodgson, 2014). Povišanje aktivnosti kreatin-kinaze po fizični aktivnosti je hitrejše (razpolovna doba 2 uri) pri primerjavi

z aktivnostjo aspartat-aminotransferaze, saj ima slednja precej daljšo razpolovno dobo (7 do 8 dni). Po poškodbi mišic doseže aktivnost kreatin-kinaze maksimalno vrednost že po 4 do 6 urah, medtem ko aktivnost aspartat-aminotransferaze doseže maksimalno vrednost 12 do 14 ur po poškodbi mišic oz. jeter. Ugotavljanje aktivnosti obeh mišičnih encimov skupaj z aktivnostmi jetrnih encimov nam tako omogoča natančno določitev vzroka oz. izvora povišanja aktivnosti teh encimov ter ločevanje med akutno in kronično boleznijo mišic pri športnih konjih (Kingston, 2004; McKenzie, 2014). V naši raziskavi smo po izbrani fizični aktivnosti ugotovili manjše, a neznačilno povišane aktivnosti aspartat-aminotransferaze pri vseh skupinah konj, z izjemo skupine vit. E, kjer je bila aktivnost celo nekoliko nižja. Neznačilne spremembe aktivnosti tega mišičnega encima lahko pripišemo majhni intenzivnosti izbrane fizične aktivnosti, ki so ji bili podvrženi rekreativni konji. Podobno so ugotovili tudi pri športnih konjih (Kinnunen in sod., 2005<sup>a</sup>, Kedzierski in sod., 2009; Mendes Soares in sod., 2011; Zobba in sod., 2011; Adamu in sod., 2012<sup>a</sup>; Jagrič Munih, 2012). Nasprotno so pri športnih konjih ugotovili značilno povišane aktivnosti aspartat-aminotransferaze po končanih različnih oblikah fizične aktivnosti (Snow, 1990; Lekeux in sod., 1991; Siciliano in sod., 1995; Hargreaves in sod., 2002; Marlin in sod., 2002; Adamu in sod., 2013; Escibano in sod., 2013). Rahlo povišane aktivnosti aspartat-aminotransferaze po končani fizični aktivnosti naj ne bi bile posledica trajnejših sprememb mišičnih ali jetrnih celic, temveč posledica prehodnega povečanja prepustnosti membrane miocitov, na kar kažejo tudi vrednosti izmerjene po 24-urnem počitku (Snow in sod., 1982; Kingston, 2004). Po 24-urnem počitku se je pri preiskovanih konjih aktivnost aspartat-aminotransferaze značilno znižala na nivo, izmerjen pred izbrano fizično aktivnostjo v skupini CoQ<sub>10</sub>, medtem ko je bilo pri vseh ostalih skupinah zaradi majhnih razlik znižanje neznačilno.

Kreatin-kinaza je relativno specifičen mišični encim, ki prehaja skozi celično membrano v krvni obtok kot posledica normalnega fiziološkega odgovora na fizično aktivnost ali po poškodbi celične membrane miocitov (Kingston, 2004). V naši raziskavi smo pri konjih pričakovali značilno povišanje aktivnosti kreatin-kinaze po izbrani fizični aktivnosti, ugotovili pa manjše, neznačilno povišanje aktivnosti tega encima v skupinah, ki so prejemale antioksidativne dodatke, v kontrolni skupini pa celo manjši padec aktivnosti kreatin-kinaze po izvedbi izbrane fizične aktivnosti. Podobno so raziskovalci (Chiardia in sod., 1998; Kinnunen in sod., 2005<sup>a</sup>; Piccione in sod., 2007; Kedzierski in sod., 2009; Adamu in sod., 2012<sup>a</sup>)

neznačilno povišanje aktivnosti kreatin-kinaze po različnih oblikah fizične aktivnosti pri športnih konjih pripisali premalo intenzivni fizični aktivnosti, kar bi lahko bil vzrok neznačilnih sprememb v aktivnosti kreatin-kinaze tudi v naši raziskavi. Nasprotno so značilno povišane aktivnosti kreatin-kinaze ugotovili pri športnih konjih, če so bile fizične aktivnosti intenzivnejše (Snow, 1990; Lekeux in sod., 1991; Siciliano in sod., 1995; Frankiewicz-Józko in Szarska, 2000; Balogh in sod., 2001; Hargreaves in sod., 2002; Marlin in sod., 2002; Al-Qudah in Al-Majali, 2006; Piccione in sod., 2009; Mendes Soares in sod., 2011; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012; Adamu in sod., 2013; Escribano in sod., 2013; Janicki in sod., 2013).

Po 24-urnem počitku je v naši raziskavi ostala aktivnost kreatin-kinaze pri vseh skupinah konj nespremenjena v primerjavi z vrednostjo pred izbrano fizično aktivnostjo.

Povišana aktivnost encima laktat-dehidrogenaze je lahko posledica fizične aktivnosti ali poškodbe mišičnih in jetrnih celic (Kingston, 2004; McGowan in Hodgson, 2014). Značilno povišane aktivnosti laktat-dehidrogenaze smo ugotovili po prejemanju antioksidativnega dodatka samo v skupini vit. E, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji.

Po izbrani fizični aktivnosti se je v naši raziskavi aktivnost laktat-dehidrogenaze značilno povišala le v kontrolni skupini, medtem ko je pri vseh ostalih skupinah prišlo do manjšega, neznačilnega povišanja. Značilno povišane aktivnosti laktat-dehidrogenaze po končanih fizičnih aktivnostih so ugotovili tudi pri športnih konjih (Lekeux in sod., 1991; Chiardia in sod., 1998; Balogh in sod., 2001; Muñoz-Escassi in sod., 2006; Piccione in sod., 2007; Teixeira-Neto in sod., 2008; Mendes Soares in sod., 2011; Escribano in sod., 2013; Janicki in sod., 2013). Nasprotno Kedzierski in sod. (2009) niso ugotovili značilnega povišanja tega encima takoj po fizični aktivnosti športnih konj, podobno, kot smo v naši raziskavi ugotovili v skupinah konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke. Povišane aktivnosti po 30-minutnem počitku so ugotovili pri športnih konjih Zobba in sod. (2011).

Po 24-urnem počitku je v naši raziskavi ostala aktivnost laktat-dehidrogenaze pri vseh skupinah konj nespremenjena, razlike so bile minimalne. Znižane aktivnosti 30 minut po počitku so ugotovili pri športnih konjih, kjer so bile fizične aktivnosti intenzivnejše in so trajale dlje časa (Kedzierski in sod., 2009; Janicki in sod., 2013) ter po 24-urnem počitku (Mendes Soares in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012).

Statistična analiza ni pri posameznih odvzemih pri nobeni skupini konj pokazala značilnih povezav (korelacije) med koncentracijo malondialdehida in aktivnostjo posameznih mišičnih encimov: kreatin-kinaze, aspartat-aminotransferaze in laktat-dehidrogenaze. Iz tega lahko povzamemo, da z izbrano fizično aktivnostjo pri rekreativnih konjih povečan obseg lipidne peroksidacije, ki smo ga ugotovili v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>, ni povzročil značilnih poškodb celičnih membran mišičnih celic. Podobno so ugotovili pri športnih konjih Chiaradia in sod. (1998) ter Jagrič Munih (2012). Nasprotno so Williams in sod. (2004) ugotovili pozitivno, značilno povezavo med obsegom lipidne peroksidacije in aktivnostjo mišičnih encimov.

Kljub manjšemu nihanju aktivnosti encimov alanin-aminotransferaze, alkalne fosfataze, in gama-glutamilttransferaze med raziskavo nismo ugotovili značilnih razlik med posameznimi odvzemi pri vseh skupinah konj. Iz tega ugotavljamo, da v raziskavi izbrana fizična aktivnost ni povzročila izrazito povečanega metabolizma v jetrih. Podobno je pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejeli koencim Q<sub>10</sub>, ugotovila Jagrič Munih (2012).

Aktivnosti alkalne fosfataze so bile z izjemo skupine CoQ<sub>10</sub> v ostalih skupinah pri vseh odvzemih nekoliko pod spodnjo mejo referenčnih vrednosti (Priloga 1, Tabela 9). Nekoliko nižje aktivnosti niso klinično pomembne, saj so bili konji zdravi in primerno hranjeni. Nekoliko nižje aktivnosti bi lahko pripisali razlikam v uporabljenih metodah in biokemijskih analizatorjih. Lastnih referenčnih vrednosti za aktivnost alkalne fosfataze pri konjih nimamo.

#### **5.6.4 Spremembe koncentracije celokupnega bilirubina**

Med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke v naši raziskavi, nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji celokupnega bilirubina, zato ugotavljamo, da dodatki k prehrani rekreativnih konj niso vplivali na koncentracijo tega biokemijskega parametra. Podobno je pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejeli koencim Q<sub>10</sub>, ugotovila Jagrič Munih (2012). Po prejemanju antioksidativnega dodatka smo ugotovili značilno znižane koncentracije celokupnega bilirubina samo v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, kar lahko pripišemo dejavnikom, ki jih nismo mogli opredeliti.

Koncentracija celokupnega bilirubina se je po izbrani fizični aktivnosti rahlo povišala pri vseh skupinah, značilno le v skupini CoQ<sub>10</sub>, verjetno zaradi razgradnje eritrocitov. Podobno kot v naši raziskavi so neznačilno povišanje koncentracije celokupnega bilirubina po fizični aktivnosti ugotovili tudi pri športnih konjih (Judson in sod., 1983; Özcan in sod., 2002; Krumrych, 2010). Večje povišanje koncentracije bilirubina v serumu pripisujejo razpadu eritrocitov zaradi krhkosti eritrocitne membrane in prisotnosti nenormalnih eritrocitov (ehinocitov) po zelo intenzivni fizični aktivnosti pri športnih konjih (McGowan in Hodgson, 2014). Povišane koncentracije bilirubina po intenzivnejši fizični aktivnosti in 18-, 24- ter 48-urnem počitku so ugotovili pri športnih konjih (Snow in sod., 1982; Krumrych, 2010; Jagrič Munih, 2012; Le Moyec in sod., 2014).

Po 24-urnem počitku se je v naši raziskavi pri vseh skupinah konj koncentracija celokupnega bilirubina rahlo, vendar neznačilno znižala na nivo, izmerjen pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti.

### **5.6.5 Spremembe koncentracije kreatinina, sečne kisline in sečnine**

V raziskavi med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke, pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik v koncentracijah kreatinina, sečne kisline in sečnine, zato ugotavljamo, da dodatki k prehrani rekreativnih konj niso vplivali na koncentracije teh biokemijskih parametrov. Podobno je pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejemali koencim Q<sub>10</sub>, ugotovila Jagrič Munih (2012); z izjemo sečne kisline, ki je v omenjeni raziskavi niso določali.

Vpliv vitamina E na koncentracijo sečne kisline v serumu po fizični aktivnosti so Sumida in sod. (1989) ugotovili pri zdravih ljudeh, ki so 4 tedne prejemali vitamin E. Ti so imeli značilno nižjo koncentracijo sečne kisline po končani fizični aktivnosti (od 1 do 3 ur) pri primerjavi s koncentracijo, izmerjeno po fizični aktivnosti, ki so jo izvedli brez dodatka vitamina E. Raziskovalci na osnovi teh rezultatov navajajo povezavo povečanega nastanka prostih radikalov in lipidne peroksidacije s povišano aktivnostjo ksantin-oksidade, encima, ki katalizira pretvorbo hipoksantina v ksantin ter ksantina v sečno kislino (Hellsten in sod., 1988; Räsänen in sod., 1996). Reakcije s ksantin-oksidazo so eden pomembnejših virov nastanka ROS med fizično aktivnostjo (Ji, 1995; Deaton in Marlin, 2003). Značilno povišano

aktivnost ksantin-oksidade v plazmi so ugotovili po fizični aktivnosti tudi pri športnih konjih (Räsänen, 1995; Räsänen in sod., 1996).

Podobno kot v naši raziskavi tudi Kaikkonen in sod. (1998) pri ljudeh športnikih niso ugotovili vpliva dajanja kombinacije vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> na koncentracijo sečne kisline v plazmi po končani fizični aktivnosti.

Značilno znižane koncentracije kreatinina smo v naši raziskavi ugotovili po prejemanju placeba v kontrolni skupini in značilno povišane koncentracije sečne kisline po prejemanju vitamina E v skupini vit. E, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji.

Po izbrani fizični aktivnosti smo v naši raziskavi ugotovili značilno povišane koncentracije kreatinina in sečne kisline pri vseh skupinah konj. Podobno so značilna povišanja koncentracije kreatinina in/ali sečne kisline ugotovili pri športnih konjih (Snow in sod., 1982, Räsänen in sod., 1993; Mills in sod., 1996; Räsänen in sod., 1996; Schuback in Essén-Gustavsson, 1998; Balogh in sod., 2001; De Moffarts in sod., 2005; Castejón in sod., 2006; Piccione in sod., 2009; Adamu in sod., 2012<sup>a</sup>; Adamu in sod., 2012<sup>b</sup>; Jagrič Munih, 2012; Adamu in sod., 2013; Escribano in sod., 2013). Povišano koncentracijo sečne kisline oz. kreatinina, ugotovljeno po fizični aktivnosti, pripisujejo/pripisujemo povečani razgradnji purinskih nukleotidov (primarno razgradnja ATP) oz. povečanemu obratu fosfokreatina (iz katerega v mišicah nastaja kreatinin), ki je zaradi večjih potreb po energiji med fizično aktivnostjo pomembna zaloga energetske bogatih fosfatov v mišicah (Räsänen, 1995; Räsänen in sod., 1996; Escribano in sod., 2013; McGowan in Hodgson, 2014). Raziskave pri športnih konjih so po fizični aktivnosti večje intenzivnosti pokazale značilen padec vsebnosti ATP in temu ustrezen značilen porast IMP (inozitol monofosfat) v mišicah ter posledično značilen porast produktov razgradnje purinskih nukleotidov, to je ksantina, hipoksantina, sečne kisline in allantoina (Harris in sod., 1991; Sewell in Harris, 1992; Räsänen in sod., 1993; Räsänen, 1995; Räsänen in sod., 1996; Schuback in Essén-Gustavsson, 1998). Sečna kislina je eden izmed pomembnejših endogenih vodotopnih antioksidantov (v plazmi), ki ima tudi škodljive, pro-oksidativne lastnosti (v celici) (Sautin in Johnson, 2008). Deloma bi lahko povišano koncentracijo kreatinina, kot tudi sečne kisline, pripisali dehidraciji zaradi povečane izgube tekočine s potenjem (McGowan in Hodgson, 2014).

Po 24-urnem počitku se je koncentracija sečne kisline pri vseh skupinah značilno znižala na nivo pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti, podobno kot pri športnih konjih (Mills in sod., 1996; Räsänen in sod., 1996), povišane so ostale še po 24-urnem počitku (Mendes Soares in

sod., 2011). Po 24-urnem počitku se je tudi v naši raziskavi na nivo pred izvedbo fizične aktivnosti značilno znižala koncentracija kreatinina pri vseh skupinah razen v skupini vit. E, kjer je izbrana fizična aktivnost verjetno povzročila večjo dehidracijo.

Po izbrani fizični aktivnosti pri vseh skupinah konj nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji sečnine. Podobno so ugotovili pri športnih konjih (Judson in sod., 1983; Özcan in sod., 2002; Jagrič Munih in sod., 2012). Značilno povišane koncentracije sečnine so ugotovili v raziskavi po fizični aktivnosti pri športnih konjih Adamu in sod. (2013), kar so pripisali dehidraciji.

Rahlo povišane koncentracije smo v naši raziskavi ugotovili po 24-urnem počitku, kar lahko pripišemo katabolizmu proteinov, ki poteka tudi po prenehanju fizične aktivnosti (Snow in sod., 1982; Le Moyec in sod., 2014; McGowan in Hodgson, 2014). Do podobnih ugotovitev je pri športnih konjih prišla tudi Jagrič Munih (2012).

Medtem ko so bile koncentracije sečnine in kreatinina pri vseh skupinah konj med raziskavo ves čas v mejah referenčnih vrednosti, so bile koncentracije sečne kisline v kontrolni skupini, skupinah CoQ<sub>10</sub> in CoQ<sub>10</sub>+vit. E pri vseh odvzemih, z izjemo odvzema po fizični aktivnosti, pod spodnjo mejo referenčnih vrednosti (Priloga 1, Tabela 9). Tako nizke koncentracije sečne kisline bi lahko pripisali razlikam v uporabljeni metodi in uporabi različnih biokemijskih analizatorjev; koncentracije so bile v skladu s koncentracijami, izmerjenimi pri športnih konjih (Mills in sod., 1996; Adamu in sod., 2012<sup>a</sup>).

#### **5.6.6 Spremembe koncentracije lipidov: holesterola, trigliceridov, lipoproteinov visoke gostote in lipoproteinov nizke gostote**

Med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke v naši raziskavi, pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji holesterola, trigliceridov, lipoproteinov visoke gostote in lipoproteinov nizke gostote, zato ugotavljamo, da dodatki k prehrani rekreativnih konj niso vplivali na koncentracije teh biokemijskih parametrov. Podobno je pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejemali koencim Q<sub>10</sub>, ugotovila Jagrič Munih (2012).

Metabolizem lipidov pri konjih variira glede na intenzivnost in trajanje fizične aktivnosti kot tudi glede na pasmo, spol in starost konj, kar je lahko vzrok nasprotujočih si rezultatov glede

spremembe plazemske koncentracije lipidov in lipoproteinov med raziskavami (Kedzierski in Bergero, 2006; Assenza in sod., 2012; Hasso in sod., 2012; Jović in sod., 2013; Le Moyec in sod., 2014).

Značilno povišano koncentracijo holesterola smo v naši raziskavi ugotovili po 14-dnevnem prejemanju antioksidativnega dodatka (pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti) v skupinah CoQ<sub>10</sub> in vit. E. Nasprotno Jagrič Munih (2012) ni ugotovila značilnega povišanja celokupnega holesterola pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejeli koencim Q<sub>10</sub>.

Po izbrani fizični aktivnosti in 24-urnem počitku v naši raziskavi pri nobeni skupini nismo ugotovili značilnih sprememb v koncentraciji holesterola, podobno kot so ugotovili pri športnih konjih (Özcan in sod., 2002; Viana in sod., 2007; Jagrič Munih, 2012; Carreón in sod., 2013; Jović in sod., 2013). V raziskavi pri športnih konjih Jagrič Munih (2012) ni ugotovila sprememb celokupnega holesterola po fizični aktivnosti, je pa ugotovila značilno znižano koncentracijo holesterola po 48-urnem počitku.

Značilno znižane koncentracije trigliceridov smo ugotovili pri preiskovanih konjih po prejemanju placeba v kontrolni skupini, neznatne spremembe pa pri ostalih skupinah, ki so prejemale antioksidativne dodatke.

Po izbrani fizični aktivnosti smo ugotovili značilno povišane koncentracije trigliceridov pri vseh skupinah, razen v skupini vit. E, kjer je bilo povišanje na meji značilnosti. Podobno so značilno povišanje ugotovili pri športnih konjih (Pösö in sod., 1989; Kedzierski in Bergero, 2006; Viana in sod., 2007; Piccione in sod., 2010<sup>a</sup>; Jagrič Munih in sod., 2012), kar lahko pripišemo povečanemu metabolizmu lipidov v jetrih kot odgovor na povečane potrebe po energiji pri fizični aktivnosti (Pösö in sod., 2004). Nasprotno nekateri raziskovalci niso ugotovili značilnih sprememb koncentracije trigliceridov po fizični aktivnosti (Özcan in sod., 2002; Kedzierski in sod., 2009; Carreón in sod., 2013; Jović in sod., 2013).

Po 24-urnem počitku so se v naši raziskavi pri vseh skupinah konj koncentracije trigliceridov značilno znižale na nivo pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti. Podobno so ugotovili pri športnih konjih Özcan in sod. (2002), medtem ko je Jagrič Munih (2012) ugotovila znižanje koncentracije tega parametra šele po 48-urah počitka, Kedzierski in sod. (2009) pa poročajo o znižanju koncentracije trigliceridov že 30 minut po končani fizični aktivnosti.

Značilno povišano koncentracijo lipoproteinov visoke gostote smo v naši raziskavi ugotovili po prejemanju antioksidativnega dodatka v skupinah CoQ<sub>10</sub> in vit. E, podobno kot pri holesterolu, ki se pri konju prenaša po krvi predvsem kot sestavni del lipoproteinov visoke gostote (Shepherd, 1991; Watson in sod., 1991). V nasprotju z ljudmi so pri konju lipoproteini visoke gostote glavna lipoproteinska frakcija, sledijo jim lipoproteini nizke gostote; najmanjši delež lipoproteinov pripada lipoproteinom zelo nizke gostote (Shepherd, 1991; Watson in sod., 1991). Rahlo, vendar neznačilno povišanje smo ugotovili tudi v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E.

Po izbrani fizični aktivnosti smo ugotovili značilno povišane koncentracije lipoproteinov visoke gostote le v kontrolni skupini, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji. Pri ostalih skupinah smo po fizični aktivnosti ugotovili neznačilne spremembe koncentracije tega lipoproteina. Značilno znižanje na nivo pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti smo ugotovili po 24-urnem počitku v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>, rahlo, neznačilno znižanje pri ostalih dveh skupinah. Nasprotno kot v naši raziskavi pri športnih konjih Jagrič Munih (2012) ni ugotovila značilnih razlik koncentracije tega lipoproteina med posameznimi odvzemi.

Pri vseh skupinah konj v naši raziskavi nismo ugotovili značilnih razlik v koncentracijah lipoproteinov nizke gostote med posameznimi odvzemi. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi pri športnih konjih (Jagrič Munih, 2012; Jović in sod., 2013) kljub temu, da metabolizem lipidov variira glede na intenzivnost in trajanje fizične aktivnosti, kot tudi glede na pasmo, spol in starost konj (Kedzierski in Bergero, 2006; Assenza in sod., 2012; Hasso in sod., 2012).

#### **5.6.7 Spremembe koncentracije elektrolitov: kalij, natrij in kloridi**

Med fizično aktivnostjo nastaja pri toplokrvnih živalih zaradi povečanega metabolizma v mišicah toplota, ki poviša telesno temperaturo. Za normalno delovanje organizma se toplota, ki nastaja ob aktivnosti mišic, s krvjo prenaša na površino telesa, od koder se oddaja v okolico. Eden najbolj učinkovitih načinov oddajanja toplote pri domačih živalih je izhlapevanje vode s površine telesa in sluznic dihal. Pri tem lahko pride do velikih izgub vode iz organizma, saj izhlapevanje poteka tudi, če živali izgubljene vode ne morejo nadomestiti. Zaradi izgubljanja vode iz organizma prihaja do prerazporeditve vode in elektrolitov med znotraj- in zunajceličnimi prostori. Med fizično aktivnostjo tako konj izgubi večje količine

izotoničnega do hipertoničnega znoja, kar predstavlja resen izziv za vzdrževanje količine in ustrezno elektrolitsko sestavo telesnih tekočin (Jose-Cunilleras in McKeever, 2004).

V naši raziskavi med kontrolno skupino in posameznimi skupinami, ki so prejemale antioksidativne dodatke, pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji kalija in natrija. V primeru koncentracije kloridov smo le v skupini CoQ<sub>10</sub> pri primerjavi s kontrolno skupino ugotovili značilno nižjo koncentracijo kloridov po 24-urnem počitku, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji. V obstoječi strokovni literaturi nismo našli podatkov o morebitnem mehanizmu vpliva koencima Q<sub>10</sub> na koncentracijo kloridov v serumu. Na osnovi teh rezultatov ugotavljamo, da dodatki k prehrani rekreativnih konj niso vplivali na koncentracijo elektrolitov. Podobno je ugotovila tudi Jagrič Munih (2012) pri športnih konjih, ki so 8 tednov pred izvedbo fizične aktivnosti prejemali koencim Q<sub>10</sub>.

Značilno povišane koncentracije kalija smo v naši raziskavi ugotovili takoj po končani izbrani fizični aktivnosti pri vseh skupinah konj, razen v skupini CoQ<sub>10</sub>, kjer je bila koncentracija rahlo, vendar neznačilno povišana. Glede na ugotavljanje sprememb koncentracije in vsebnosti kalija po izbrani fizični aktivnosti, bi povišane koncentracije kalija, enega najpomembnejših znotrajceličnih ionov, lahko pripisali tako izgubi vode kot tudi prehodu kalija iz znotraj- v zunajcelični prostor, ki je posledica krčenja mišičnih vlaken med fizično aktivnostjo (Snow in sod., 1982; Medbø in Sejersted, 1990; Warburton in sod., 2002; Art in Lekeux, 2005; Coenen, 2005; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014). Podobno so značilno povišanje ugotovili pri športnih konjih (Judson in sod., 1983; Medbø in Sejersted, 1990; Aguilera-Tejero in sod., 2000; Tofé in sod., 2013; Assenza in sod., 2014). Nasprotno so značilno nižjo koncentracijo kalija pri športnih konjih takoj in 30 minut po končani fizični aktivnosti ugotovili Rose in sod. (1980) ter 30 minut po končani fizični aktivnosti Snow in sod. (1982). Nasprotno Jagrič Munih (2012) in Snow (1990) nista ugotovila značilnih razlik v koncentraciji kalija pred fizično aktivnostjo in po njej. Razlike v rezultatih lahko med drugim (razlike v intenzivnosti fizične aktivnosti, individualne razlike med konji, ki so sodelovali v raziskavah) pripišemo tudi razlikam v času odvzema krvi za določanje koncentracije kalija, saj se koncentracija tega elektrolita po končani fizični aktivnosti zelo hitro zniža zaradi premika kalija iz zunaj- v znotrajcelični prostor. Koncentracije se lahko v zelo kratkem času po izvedbi fizične aktivnosti znižajo pod mejo referenčne vrednosti oz. pod vrednost,

izmerjeno pred izvedbo fizične aktivnosti (Snow in sod., 1982; Judson in sod., 1983; Medbø in Sejersted, 1990; Warburton in sod., 2002; Coenen, 2005; Jose-Cunilleras, 2014).

Po 24-urnem počitku smo v naši raziskavi ugotovili, da so se pri vseh skupinah konj koncentracije kalija značilno znižale in približale koncentracijam, izmerjenim pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti. Značilno znižanje koncentracije kalija je po 48-urnem počitku pri športnih konjih ugotovila Jagrič Munih (2012).

Pri vseh skupinah konj kljub manjšemu nihanju koncentracije natrija v naši raziskavi nismo ugotovili značilnih razlik med posameznimi odvzemi. Po izvedbi izbrane fizične aktivnosti se je koncentracija natrija pri vseh skupinah konj rahlo, neznailno znižala. Podobno so ugotovili pri športnih konjih (Judson in sod., 1983; Snow, 1990). Rahlo znižane koncentracije natrija bi lahko pripisali trenutnemu prehodu vode iz znotraj- v zunajcelični prostor (Warburton in sod., 2002; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014), deloma pa tudi manjšim izgubam natrija s potenjem. Znoj konj je v primerjavi s plazmo hipertoničen, kar pomeni, da je produkcija znoja pri fizični aktivnosti konj povezana z izgubo elektrolitov, tj. natrija, kalija, kalcija in še posebej kloridov (Rose in sod., 1980; Flaminio in Rush, 1998; McCutcheon in sod., 1998; Art in Lekeux, 2005; Jose-Cunilleras, 2014). Značilno nižjo koncentracijo natrija po fizični aktivnosti so ugotovili pri športnih konjih Rose in sod. (1980) ter Assenza in sod. (2014), kar so Rose in sod. (1980) pripisali predvsem izgubam s potenjem, Assenza in sod. (2014) pa premiku vode, ki izzove prehod natrija skozi membrano. Nasprotno so značilno povišanje koncentracije natrija po intenzivnejši fizični aktivnosti ugotovili v nekaterih drugih raziskavah pri športnih konjih, kar so pripisali dehidraciji (Snow in sod., 1982; Aguilera-Tejero in sod., 2000; Jagrič Munih, 2012; Tofé in sod., 2013).

Po izbrani fizični aktivnosti smo ugotovili značilno znižane koncentracije kloridov pri vseh skupinah preiskovanih konj, podobno, kot so ugotovili pri športnih konjih (Snow in sod., 1982; Snow, 1990; Aguilera-Tejero in sod., 2000; Jagrič Munih, 2012; Assenza in sod., 2014), kar bi lahko pripisali večji izgubi kloridov s potenjem (Art in Lekeux, 2005; Jose-Cunilleras, 2014; Jose-Cunilleras in McKeever, 2014). Slednje potrjuje izredno visoka hipertoničnost znoja, kar so ugotovili tudi pri športnih konjih (Rose in sod., 1980; Snow in sod., 1982; McCutcheon in sod., 1998; Art in Lekeux, 2005). Nasprotno so značilno povišane koncentracije po intenzivnejši fizični aktivnosti ugotovili pri športnih konjih Tofé in sod.

(2013), kar so pripisali dehidraciji, medtem ko Judson in sod. (1983) niso ugotovili značilnih sprememb tega elektrolita po fizični aktivnosti.

Po 24-urnem počitku se je pri konjih, vključenih v našo raziskavo, koncentracija kloridov v posameznih skupinah konj različno spremenila. Značilno se je povišala na nivo, izmerjen pred izbrano fizično aktivnostjo v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, v kontrolni skupini in skupini vit. E je bilo povišanje neznačilno. Nasprotno se je v skupini CoQ<sub>10</sub> koncentracija kloridov značilno znižala. V tej skupini in skupini vit. E je bila koncentracija kloridov po 24-urnem počitku celo značilno nižja kot pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti. Tako raznolike spremembe koncentracije tega elektrolita po 24-urnem počitku bi morda lahko bile posledica individualnih razlik med konji, ki so bili vključeni v te skupine. Po počitku so pri športnih konjih pri različnih fizičnih aktivnostih ugotovili povišane koncentracije kloridov Adamu in sod. (2013) ter Tofé in sod. (2013), znižane pa Jagrič Munih (2012) ter Assenza in sod. (2014).

Konji navadno nadomeščajo izgubljeno sol (NaCl) s prehrano in dodatki, kot je lizalni kamen (mora biti stalno na voljo), ki poleg drugih mineralov vsebuje tudi sol. Kljub nasprotujočim si rezultatom so različni proizvajalci hrane za konje in ljudi kot dodatke k prehrani že vključili elektrolite, predvsem za športne konje in ljudi športnike.

#### **5.6.8 Spremembe koncentracije kalcija, anorganskega fosfata in magnezija**

Poleg kalija, natrija in kloridov so za vzdrževanje osmotskega ravnotežja in krčenje mišic v organizmu odgovorni tudi kalcij, anorganski fosfati in magnezij (Jose-Cunnileras in McKeever, 2014). Raziskave pri konjih in ljudeh so pokazale značilen vpliv fizične aktivnosti na homeostazo kalcija in kalciotropne hormone (parathormon (PTH), kalcitonin, bioaktivni vitamin D) ter s tem tudi na koncentracijo anorganskih fosfatov v krvi (Handerson in sod., 1989; Aguilera-Tejero in sod., 2001; Vervuert in sod., 2002; Vervuert in sod., 2005; Maïmoun in Sultan, 2009).

V naši raziskavi med kontrolno skupino in skupino CoQ<sub>10</sub> ter skupino vit. E pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji kalcija. Pri primerjavi s kontrolno skupino smo ugotovili značilno nižjo koncentracijo kalcija v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E pred prejemanjem obeh dodatkov in po 24-urnem počitku, kar lahko pripišemo dejavnikom, ki jih nismo mogli opredeliti in individualnim razlikam med konji, ki so sodelovali v raziskavi.

Po prejemanju antioksidativnega dodatka smo ugotovili značilno povišanje koncentracije kalcija v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, v ostalih skupinah rahlo, vendar neznačilno povišanje, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji.

Po izbrani fizični aktivnosti smo pri vseh skupinah konj ugotovili značilno znižanje koncentracije kalcija, podobno, kot so ugotovili pri športnih konjih (Judson in sod., 1983; Inoue in sod., 2002; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012; Assenza in sod., 2014), kar najverjetneje kaže na izgubo kalcija s potenjem (Schryver in sod., 1978; Inoue in sod., 2002; Art in Lekeux, 2005; Jose-Cunilleras, 2014). Značilno znižanje koncentracije kalcija po fizični aktivnosti so pri športnih konjih Assenza in sod. (2014) pripisali povečanemu izločanju kalcija z urinom, večjemu izločanju s fecesom ter zmanjšani absorpciji v črevesju. Podobno kot v naši raziskavi so nekatere raziskave pri športnih konjih in ljudeh pokazale značilno znižano koncentracijo celokupnega serumskega kalcija in/ali ioniziranega kalcija v polni krvi ter sočasno značilno povišanje koncentracije parathormona (PTH) po končani fizični aktivnosti (Aguilera-Tejero in sod., 2000; Aguilera-Tejero in sod., 2001; Vervuert in sod., 2002; Vervuert in sod., 2005; Maïmoun in Sultan, 2009). V naši raziskavi nismo merili koncentracije ioniziranega, biološko aktivnega kalcija, katerega koncentracija je odvisna od pH krvi. Koncentracije ioniziranega kalcija v polni krvi, izmerjene v naši raziskavi, bi nam morda dale boljši vpogled v razumevanje sprememb tega pomembnega kationa med in po izbrani fizični aktivnosti.

Po 24-urnem počitku smo pri vseh skupinah konj, razen v skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E, ugotovili rahlo, neznačilno povišanje, kar so ugotovili tudi pri športnih konjih Zobba in sod. (2011). Značilno nižje koncentracije kalcija po 24-urnem počitku, pri primerjavi s koncentracijami, izmerjenimi pred izbrano fizično aktivnostjo, smo v naši raziskavi ugotovili v skupinah CoQ<sub>10</sub>+vit. E in CoQ<sub>10</sub>, kar so ugotovili tudi pri športnih konjih (Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012; Assenza in sod., 2014). Pri športnih konjih se je v raziskavi (Jagrič Munih, 2012) koncentracija kalcija vrnila na bazalno vrednost šele po 48-urnem počitku.

Po prejemanju placeba in antioksidativnih dodatkov v naši raziskavi med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj, prav tako med posameznimi odvzemi, nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji anorganskega fosfata. Pri vseh skupinah konj je prišlo po izvedbi izbrane fizične aktivnosti le do rahlega, vendar neznačilnega povišanja koncentracije tega parametra. Podobno značilnih sprememb v koncentraciji tega biokemijskega parametra

takoj po fizični aktivnosti niso ugotovili pri športnih konjih (Snow, 1990; Aguilera-Tejero in sod., 2000; Inoue in sod., 2002). Inoue in sod. (2002), ki so spremljali koncentracijo anorganskega fosfata daljši čas (pred in med fizično aktivnostjo, takoj in 1, 2, 4 ter 8 ur po končani fizični aktivnosti (ohlajanju)), so poročali o značilnem povišanju koncentracije med fizično aktivnostjo ter značilnem znižanju koncentracije od ene ure vse tja do 8 ur (zadnja meritev) po končani fizični aktivnosti. Glede na manjše izgube fosfatov s potenjem pri konju (Schryver in sod., 1978) so značilno znižanje pripisali premiku anorganskega fosfata v mišice in/ali delovanju kalcitonina, katerega koncentracija se poviša, morda kot odgovor na značilno povišane koncentracije kalcija med fizično aktivnostjo (Grimston in sod., 1993; Inoue in sod., 2002). Kalcitonin poveča izločanje fosfatov z urinom in zavre resorpcijo v kosteh (Hiney in sod., 2000; Inoue in sod., 2002). Nasprotno so značilno povišane koncentracije anorganskega fosfata ugotovili po fizičnih aktivnostih pri športnih konjih (Judson in sod., 1983; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012; Assenza in sod., 2014) in še po 24-urnem počitku (Jagrič Munih, 2012; Assenza in sod., 2014).

Značilno višje koncentracije magnezija smo ugotovili v naši raziskavi v kontrolni skupini pri primerjavi s skupino vit. E pri vseh štirih odvzemih, pri primerjavi s skupino CoQ<sub>10</sub> pa pred prejetjem dodatka, po izvedbi izbrane fizični aktivnosti ter po 24-urnem počitku. Te rezultate bi lahko pripisali individualnim razlikam med konji.

Po prejemanju placeba smo v kontrolni skupini ugotovili značilno povišane koncentracije magnezija, kar lahko pripišemo dejavnikom, ki jih nismo mogli opredeliti.

Po izbrani fizični aktivnosti se je koncentracija magnezija v naši raziskavi rahlo, vendar neznačilno znižala pri vseh skupinah konj. Znižanje po fizični aktivnosti so ugotovili tudi pri športnih konjih (Snow in sod., 1983; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012; Assenza in sod., 2014), kar so pripisali predvsem potenju oz. premiku magnezija v znotrajcelični prostor saj ima ta ion pomembno vlogo pri delovanju mišic. Inoue in sod. (2002) so ugotovili značilno znižanje tega minerala takoj po fizični aktivnosti (pod vrednost izmerjeno pred fizično aktivnostjo), kar so pripisali morebitnemu delovanju povišane koncentracije kalcitonina, ki naj bi vplival na znižanje koncentracije magnezija pri ljudeh oz. premiku magnezija iz zunajceličnega prostora v mišice (Golf in sod., 1984). Že uro po končani fizični aktivnosti se je koncentracija magnezija vrnila na vrednost, izmerjeno pred fizično aktivnostjo (Inoue in sod., 2002). Pri zdravih ljudeh so Deuster in sod. (1987) poročali o vplivu fizične

aktivnosti (zelo intenzivna anaerobna fizična aktivnost) na homeostazo magnezija. Ugotovili so značilno znižanje koncentracije magnezija v plazmi, od tega so 85 % izgub pripisali premiku magnezija v eritrocite. Koncentracije magnezija v plazmi so se vrnile na nivo, izmerjen pred fizično aktivnostjo v dveh urah. Ugotovili so tudi značilno povečane izgube magnezija z urinom, ki so se »normalizirale« v štiriindvajsetih urah po fizični aktivnosti (Deuster in sod., 1987).

Po 24-urnem počitku smo v naši raziskavi pri vseh skupinah konj ugotovili še dodatno, vendar neznačilno znižanje koncentracije magnezija, ki je bila pri vseh skupinah, z izjemo skupine CoQ<sub>10</sub>, značilno nižja kot pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti. Pri ljudeh so zakasnitveni padec koncentracije magnezija po fizični aktivnosti (24 ur in več) pripisali s fizično aktivnostjo povezanim povečanim izločanjem antidiuretičnega hormona, aldosterona, kateholaminov, kortikosteroidov in TSH (tirotropin oz. ščitnica stimulirajoči hormon) (Dreosti, 1995). Pri športnih konjih so po 24-urnem počitku ugotovili značilno povišane koncentracije magnezija Jagrič Munih (2012) ter značilno znižane koncentracije že 30 minut po končani fizični aktivnosti Zobba in sod. (2011) ter Assenza in sod. (2014).

### 5.6.9 Spremembe koncentracije železa

Med kontrolno skupino in posameznimi skupinami konj, ki so prejemale antioksidativne dodatke, v naši raziskavi pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji železa, zato ugotavljamo, da dodatki k prehrani rekreativnih konj niso vplivali na koncentracijo tega biokemijskega parametra. Nasprotno je Jagrič Munih (2012) ugotovila pri športnih konjih, ki so 8 tednov prejemali koencim Q<sub>10</sub>. Pri primerjavi s kontrolno skupino je bila v skupini, ki je prejemale koencim Q<sub>10</sub>, po fizični aktivnosti koncentracija železa značilno višja (Jagrič Munih, 2012).

Po prejetju antioksidativnega dodatka smo v naši raziskavi ugotovili značilno povišane koncentracije železa le v skupini CoQ<sub>10</sub>, kar lahko pripišemo individualnim razlikam med konji.

Po izbrani fizični aktivnosti v naši raziskavi nismo ugotovili značilnih sprememb koncentracije železa pri nobeni skupini; koncentracija železa se je pri vseh skupinah konj le rahlo in neznačilno povišala. Podobno so ugotovili tudi pri športnih konjih (Mills in sod., 1996; Jagrič Munih, 2012). Značilno povišanje so ugotovili pri športnih konjih Inoue in sod. (2002) ter Assenza in sod. (2014). Pri fizični aktivnosti naj bi bilo značilno povišanje

koncentracije serumskega železa posledica povečanih potreb zaradi povečane sinteze hemoglobina in povečane aktivnosti encimov, ki v aktivnem centru vsebujejo železo. Povišana koncentracija železa odraža povečan transport železa iz retikuloendotelne sistema v kostni mozeg (Mills in sod., 1996). Nasprotno Inoue in sod. (2002) pripisujejo visoke koncentracije železa med fizično aktivnostjo in po njej deloma hemokoncentraciji in deloma hemolizi, do katere naj bi prišlo med fizično aktivnostjo.

Po 24-urnem počitku se je v naši raziskavi koncentracija železa značilno znižala v kontrolni skupini in skupini CoQ<sub>10</sub>, medtem ko je bilo pri ostalih dveh skupinah znižanje koncentracije železa neznačilno. Podobno znižanje so po 24-urnem počitku ugotovili tudi pri športnih konjih (Mills in sod., 1996; Jagrič Munih, 2012; Assenza in sod., 2014).

#### **5.6.10 Spremembe koncentracije glukoze in laktata**

Pri konjih, ki smo jih proučevali, med kontrolno skupino in skupinama CoQ<sub>10</sub> ter CoQ<sub>10</sub>+vit. E pri nobenem odvzemu nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji glukoze in laktata, kar pomeni, da antioksidativna dodatka koencim Q<sub>10</sub> in njegova kombinacija z vitaminom E nista vplivala na koncentracijo glukoze in laktata. Podobno kot v naši raziskavi tudi Jagrič Munih (2012) pri športnih konjih, ki so 8 tednov prejeli koencim Q<sub>10</sub>, ni ugotovila značilnega vpliva tega antioksidativnega dodatka na koncentracijo glukoze in laktata. Koncentraciji obeh parametrov sta bili značilno višji v kontrolni skupini pri primerjavi s skupino vit. E po izbrani fizični aktivnosti in glukoze še po 24-urnem počitku. Na osnovi rezultatov ugotavljamo, da je vitamin E značilno vplival na koncentracijo glukoze po izbrani fizični aktivnosti in 24-urnem počitku ter na znižanje koncentracije laktata po izbrani fizični aktivnosti. Nasprotno McMeniman in Hintz (1992) pri športnih konjih nista ugotovila vpliva vitamina E na koncentracijo laktata po fizični aktivnosti, saj nista ugotovila značilnih razlik v koncentraciji laktata po fizični aktivnosti med kontrolno skupino in skupino konj, ki je 8 tednov prejela vitamin E kot dodatek k prehrani.

Značilno znižane koncentracije glukoze smo v naši raziskavi ugotovili po 14-dnevem prejetju antioksidativnega dodatka (pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti) v skupinah vit. E in CoQ<sub>10</sub>+vit. E, kar lahko pripišemo dejavnikom, ki jih nismo mogli opredeliti glede na to, da v primerjavi s kontrolno skupino ni bilo značilnih razlik.

Po izbrani fizični aktivnosti kljub manjšemu nihanju koncentracije glukoze v naši raziskavi nismo ugotovili značilnih sprememb tega parametra pri nobeni skupini; ugotovili smo le rahlo povišane koncentracije glukoze v skupinah CoQ<sub>10</sub> in CoQ<sub>10</sub>+vit. E ter rahlo znižane v ostalih dveh skupinah konj. Podobno kot v naši raziskavi značilnih sprememb v koncentraciji glukoze po fizični aktivnosti niso ugotovili pri športnih konjih (Lekeux in sod., 1991; Kedzierski in sod., 2009; Jagrič Munih, 2012). Nasprotno je značilno povišano koncentracijo glukoze po fizični aktivnosti ugotovil v raziskavi pri športnih konjih Snow (1990), kar je pripisal povečani aktivnosti simpatičnega živčnega sistema, povezanega z visoko intenzivnostjo fizične aktivnosti, ki povzroči glikogenolizo v jetrih. Koncentracija glukoze se pod vplivom delovanja simpatičnega živčevja v plazmi poviša zaradi spodbuditve glikogenolize v jetrih kot posledica povečanega metabolizma in intenzivnosti ter trajanja fizične aktivnosti. Običajno se v plazmi pri dolgotrajnejši fizični aktivnosti glukoza porablja in koncentracija se zniža, medtem ko se pri kratkotrajnejši fizični aktivnosti koncentracija glukoze poviša (McGowan in Hodgson, 2014).

Po 24-urnem počitku v naši raziskavi nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji glukoze v nobeni skupini. Po 24-urnem počitku so ugotovili povišane koncentracije glukoze pri športnih konjih Jagrič Munih (2012), že po 30 minutah počitka pa Kedzierski in sod. (2009).

Laktat nastaja v skeletnih mišicah in se sprošča v kri pri intenzivnejših fizičnih aktivnostih kot posledica anaerobne poti pridobivanja energije in spodbuditve glikogenolize. Znižanje koncentracije laktata po fizični aktivnosti kaže na okrevanje in prevzem laktata v jetrih ter mišicah in na dobro pripravljenost na fizično aktivnost (Ricketts, 2004; McGowan in Hodgson, 2014). Spremljanje vrednosti laktata po fizični aktivnosti omogoča oceno pripravljenosti konj na izvedbo fizične obremenitve pri športnih konjih (Lindner, 2000; Piccione in sod., 2010<sup>b</sup>).

Po prejemanju placeba oz. antioksidativnega dodatka v nobeni skupini konj, vključeni v našo raziskavo, nismo ugotovili značilnih sprememb v koncentraciji laktata.

Po izbrani fizični aktivnosti smo pri preiskovanih konjih ugotovili značilno povišane koncentracije laktata v kontrolni skupini, skupini CoQ<sub>10</sub> in skupini CoQ<sub>10</sub>+vit. E. Konji, ki so dobro pripravljeni na fizično aktivnost, imajo majhno povišanje koncentracije laktata po fizični aktivnosti, kar pomeni, da so večji del fizične aktivnosti opravili v aerobnih pogojih (Piccione in sod., 2010<sup>b</sup>). Nasprotno se je v skupini vit. E koncentracija laktata rahlo, vendar

neznačilno, znižala, kar lahko pripišemo vplivu vitamina E, saj smo pri tem odvzemu ugotovili značilno nižjo koncentracijo laktata v primerjavi s kontrolno skupino. Glede na to, da poteka prenos laktata skozi biološke membrane (torej tudi iz miocitov v plazmo in iz plazme v eritrocite ter celice ostalih tkiv (jetra, srčna mišica, nekontraktilne mišice in ostala tkiva)) tudi preko monokarboksilatnih transporterjev (MCT1 IN MCT4), bi izostanek porasta laktata v plazmi hipotetično lahko pripisali vplivu antioksidativnih dodatkov na aktivnost (vsebnost) teh transporterjev oz. hitremu prehodu laktata v eritrocite (Pösö, 2002; Billat in sod., 2003; Thomas in sod., 2005; Votion, 2014). Mehanizma delovanja vitamina E na znižanje porasta koncentracije laktata v plazmi žal ne znamo pojasniti. Značilno povišanje koncentracije laktata v ostalih skupinah kaže na intenzivno izbrano fizično aktivnost, pri kateri je prišlo do anaerobne poti pridobivanja energije. Podobno so značilno povišanje koncentracije laktata ugotovili pri športnih konjih (Judson in sod., 1983; Snow, 1990; Lekeux in sod., 1991; Balogh in sod., 2001; Evans in sod., 2010; Mendes Soares in sod., 2011; Muñoz in sod., 2011; Zobba in sod., 2011; Jagrič Munih, 2012; Assenza in sod., 2014).

Glede na koncentracije laktata, ki so se po 24-urnem počitku v naši raziskavi vrnile na nivo vrednosti izmerjene pred izbrano fizično aktivnostjo, lahko zaključimo, da so bili rekreativni konji dobro pripravljeni na izbrano fizično obremenitev. Pri športnih konjih so ugotovili podobno znižane koncentracije laktata po 30-minutnem počitku Zoba in sod. (2011) in 24-urnem počitku (Mendes Soares in sod., 2011; Jagrič Munih 2012; Assenza in sod., 2014).

Rezultati naše raziskave sinergističnega delovanja vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> niso dokazali, vendar nakazujejo, da bi bilo k prehrani rekreativnih konj smiselno dodati antioksidativna dodatka (vitamin E oz. kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E).

Kljub pričakovanim ugodnejšim rezultatom smo prispevali k novim dognanjem na področjih oksidativnega stresa povzročenega z izbrano fizično aktivnostjo in uporabi antioksidativnih dodatkov (vitamin E, koencim Q<sub>10</sub> in njuna kombinacija) k prehrani rekreativnih konj. V prihodnje bi bilo potrebno narediti dodatne raziskave, s katerimi bi ugotovili potreben čas dajanja ter ustrezne odmerke vitamina E in koencima Q<sub>10</sub>, posamezno in skupaj, za dosežen biološki učinek pri konjih na splošno, še posebej pri rekreativnih konjih, ki so le občasno izpostavljeni stresom.

## 6 ZAKLJUČKI

Z raziskavo nismo uspeli potrditi vseh zastavljenih hipotez, vendar smo z rezultati naše raziskave prispevali k novim dognanjem na področjih oksidativnega stresa povzročenega z izbrano fizično aktivnostjo in uporabi antioksidativnih dodatkov (vitamin E, koencim Q<sub>10</sub> in njuna kombinacija) k prehrani rekreativnih konj.

1. Izbrana fizična aktivnost je v vseh skupinah rekreativnih konj privedla do značilnih sprememb fizioloških parametrov: frekvenca srčnega utripa, frekvenca dihanja in telesna temperatura so se povišale. Na osnovi tega **potrjujemo 1. hipotezo.**
2. Izbrana fizična aktivnost je v vseh skupinah rekreativnih konj privedla do značilnih sprememb nekaterih hematoloških parametrov: številčni koncentraciji eritrocitov in levkocitov sta se povišali, koncentracija hemoglobina se je povišala, delež hematokrita se je povišal, številčna koncentracija trombocitov je ostala nespremenjena in razmerje nevtrofilci/limfociti je ostalo nespremenjeno v vseh skupinah razen v skupini, ki je prejela kot dodatek k prehrani vitamin E, kjer se je razmerje znižalo. Na osnovi tega **delno potrjujemo 2. hipotezo.**
3. Izbrana fizična aktivnost je v vseh skupinah rekreativnih konj privedla do značilnih sprememb nekaterih biokemijskih parametrov: aktivnost mišičnega encima laktat-dehidrogenaze se je povišala v kontrolni skupini, v ostalih skupinah je ostala nespremenjena; koncentracija laktata se je v vseh skupinah povišala, le v skupini vit. E je ostala nespremenjena; koncentraciji albumina in celokupnih proteinov sta se povišali le v kontrolni skupini, v ostalih skupinah sta ostali nespremenjeni; koncentracija celokupnega bilirubina se je povišala v skupini CoQ<sub>10</sub>, v ostalih skupinah je ostala nespremenjena; koncentraciji kreatinina in sečne kisline sta se povišali v vseh skupinah; koncentracija trigliceridov se je povišala v vseh skupinah, razen v skupini vit. E, kjer je ostala nespremenjena; koncentracija lipoproteinov visoke gostote se je povišala le v kontrolni skupini, v ostalih skupinah je ostala nespremenjena; koncentracija kalija se je povišala v vseh skupinah, razen v skupini CoQ<sub>10</sub>, kjer je ostala nespremenjena; koncentracija klorida se je znižala v kontrolni skupini

in skupini vit. E, v ostalih skupinah je ostala nespremenjena in koncentracija kalcija se je znižala v vseh skupinah. Nespremenjene so ostale aktivnosti mišičnih encimov aspartat-aminotransferaze in kreatin-kinaze, aktivnosti alanin-aminotransferaze, alkalne fosfataze, gama-glutamilttransferaze, koncentracije glukoze, sečnine, holesterola, lipoproteinov nizke gostote, natrija, magnezija, železa in anorganskih fosfatov. Na osnovi tega **delno potrjujemo 3. hipotezo.**

4. Izbrana fizična aktivnost je privedla do značilnega povišanja koncentracije malondialdehida kot indikatorja oksidativnih poškodb ter stanja oksidativnega stresa, le v kontrolni skupini in skupini, ki je prejela kot dodatek k prehrani koencim Q<sub>10</sub>. Ni pa privedla do značilnih sprememb antioksidativnih parametrov (povišane aktivnosti antioksidativnih encimov glutation peroksidaze ter superoksid dismutaze in koncentracije celokupne antioksidativne kapacitete). Na osnovi tega **delno potrjujemo 4. hipotezo.**
5. Povišana koncentracija malondialdehida, pokazatelja oksidativnega stresa, pri izbrani fizični aktivnosti rekreativnih konj ni povezana s povečano sistemsko aktivnostjo mišičnih encimov. Na osnovi tega **ne potrjujemo 5. hipoteze.**
6. Vitamin E in koencim Q<sub>10</sub> ter njuna kombinacija, kot dodatki k prehrani rekreativnih konj, niso zmanjšali oksidativnega stresa. Na osnovi tega **ne potrjujemo 6. hipoteze.**
7. Sinergističnega delovanja vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> nismo dokazali. Izbrana fizična aktivnost ni povečala sistemske aktivnosti mišičnih encimov. Na osnovi tega **ne potrjujemo 7. hipoteze.**

## 7 POVZETEK

Fizična aktivnost lahko pri ljudeh in živalih izzove dodatno nastajanje reaktivnih spojin, predvsem reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS), kar vodi do oksidativnega stresa. Če se organizem s svojim antioksidativnim sistemom ni sposoben obraniti pred tovrstnimi reaktivnimi spojinami, lahko pride do lipidne peroksidacije. Posledice so spremembe in poškodbe membran mišičnih celic, sproščanje celičnih vsebin in porušenje celične funkcije. Z vnosom antioksidantov kot dodatkov k prehrani se lahko porabljene antioksidante v celoti nadomesti ali se omogoči regeneracijo oksidiranih oblik v reducirano obliko. Podobnih raziskav pri rekreativnih konjih še ni bilo izvedenih.

Namen naloge je bil določiti fiziološke, biokemijske, hematološke in antioksidativne parametre ter pokazatelja oksidativnega stresa (malondialdehid) pri zdravih rekreativnih konjih, ki smo jih obremenili z izbrano fizično aktivnostjo. Ugotoviti smo želeli, ali izbrana fizična aktivnost pri rekreativnih konjih privede do stanja oksidativnega stresa ter oksidativnih poškodb in/ali v kakšnem obsegu dajanje antioksidativnih dodatkov (vitamin E, koencim Q<sub>10</sub> in njuna kombinacija) k prehrani vplivajo na zmanjšanje oksidativnega stresa ter njuno morebitno sinergistično delovanje. Hkrati smo želeli ugotoviti, ali je oksidativni stres povezan s povečano sistemsko aktivnostjo mišičnih encimov.

Klinični pregled smo opravili pri 63 rekreativnih toplokrvnih konjih, od tega smo v raziskavo vključili 40 zdravih konj, starih od 3 do 18 let; izključili smo breje kobile in kobile z žrebeti. Hkrati smo jim odvzeli vzorce krvi za osnovne hematološke in biokemijske preiskave ter vzorce krvi za določitev koncentracije koencima Q<sub>10</sub> v plazmi (tega podatka za rekreativne konje še ni bilo). Izmerjena koncentracija koencima Q<sub>10</sub> je bila med 0,38 in 2,09 mg/L (povprečno  $1,03 \pm 0,36$  mg/L). Konjem smo izmerili tudi obseg prsi in dolžino trupa ter izračunali telesno maso.

V prvem sklopu raziskave smo 12 naključno izbranim rekreativnim konjem 28 dni zapored, 2-krat dnevno in kot dodatek k običajni prehrani dajali različne odmerke vodotopne oblike koencima Q<sub>10</sub> v obliki paste (400, 600 in 800 mg koencima Q<sub>10</sub>/dan), s čimer smo želeli določiti odmerek koencima Q<sub>10</sub> za drugi sklop raziskave. Vzorce krvi smo odvzeli pred prvim odmerkom (0) in nato 6, 12, 24 in 48 ur ter 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 in 56 dni po prvem odmerku. Na podlagi naših rezultatov in podatkov farmakokinetične študije ter rezultatov raziskave, ki sta bili izvedeni pri športnih konjih, smo izbrali naš najvišji odmerek 800

mg/dan, ki smo ga v drugem sklopu naše raziskave dajali konjem 14 dni zapored, 2-krat dnevno.

V drugem sklopu raziskave smo 40 konj naključno razdelili v 4 skupine po 10 konj. Štirinajst dni pred izvedbo izbrane fizične aktivnosti so prejeli parafinsko olje (placebo) ali enega izmed antioksidativnih dodatkov k prehrani (800 mg koencima Q<sub>10</sub>/dan, 1,8 IE/kg Tm vitamina E/dan ali kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E: 800 mg koencima Q<sub>10</sub>/dan + 1,8 IE/kg Tm vitamina E/dan). Po 14-dnevnem dajanju placeba oz. antioksidativnega dodatka smo izvedli izbrano fizično aktivnost (srednje težko aktivnost), ki je trajala 40 min. Sledilo je 15–20 min sprehajanja, kar je živali po opravljenem delu ohladilo.

Vsakemu izmed teh konj smo štirikrat odvzeli vzorce krvi iz jugularne vene (*V. jugularis*) v ustrezne epruvete: pred prvim dajanjem dodatka k prehrani (s katerim smo določili bazalne vrednosti), po 14 dneh dajanja dodatkov (tik pred izbrano fizično aktivnostjo), takoj po končanem galopu (40 min po začetku izbrane fizične aktivnosti) in 24 ur po izbrani fizični aktivnosti v domačem hlevu. Odvzete vzorce krvi smo uporabili za določitev izbranih hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov (tudi vitamin E in koencim Q<sub>10</sub>) ter označevalca lipidne peroksidacije.

Hematološke parametre smo izmerili na avtomatskem hematološkem analizatorju Advia 120, biokemijske parametre, z izjemo elektrolitov (natrija, kalija in kloridov), na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX-Daytona ter koncentracije elektrolitov z analizatorjem Ilyte. Antioksidativne parametre smo izmerili na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX Dayton, za določanje koncentracije malondialdehida smo uporabili metodi tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) in elektrorazprševalno ionizacijo (ESI) ter meritve izvedli z analizatorjem Agilent 6460 s trojnim kvadrupolnim MS/MS detektorjem. Koncentracije koencima Q<sub>10</sub> smo določili z metodo HPLC in ESI ter meritve izvedli z analizatorjem Xevo tq Waters s trojnim kvadrupolnim MS/MS detektorjem. Koncentracije vitamina E smo določili z metodo HPLC in meritve izvedli s fluorescenčnim detektorjem.

Pred dajanjem dodatkov k prehrani so bile bazalne vrednosti izmerjenih hematoloških, biokemijskih in antioksidativnih parametrov (vključno z vitaminom E) ter pokazatelja oksidativnega stresa (malondialdehid) v mejah referenčnih vrednosti oz. primerljive z rezultati drugih raziskovalcev. Med izbrano fizično aktivnostjo so fiziološki procesi značilno vplivali na spremembe nekaterih fizioloških in krvnih parametrov, saj so bile vrednosti večine merjenih parametrov takoj po končani izbrani fizični aktivnosti izven meja referenčnih

vrednosti. Značilno povišane so bile vrednosti frekvence srčnega utripa, frekvence dihanja, telesne temperature, številčna koncentracija eritrocitov, levkocitov in trombocitov, koncentracija hemoglobina, delež hematokrita, koncentracija kreatinina in sečne kisline v vseh skupinah. Aktivnost mišičnega encima laktat-dehidrogenaza ter koncentracija albumina, celokupnih proteinov in lipoproteinov visoke gostote so bili značilno povišani le v kontrolni skupini, koncentracija laktata in trigliceridov v vseh skupinah, razen v skupini vit. E, koncentracija celokupnega bilirubina le v skupini CoQ<sub>10</sub>, koncentracija kalija v vseh skupinah, razen v skupini CoQ<sub>10</sub>, koncentracija malondialdehida le v kontrolni skupini in skupini, ki je prejela kot dodatek k prehrani koencim Q<sub>10</sub>. Razmerje nevtrofilci/limfociti se je značilno znižalo v skupini, ki je prejela kot dodatek k prehrani vitamin E, koncentracija klorida v kontrolni skupini in skupini vit. E, koncentracija kalcija v vseh skupinah. Vrednosti vseh ostalih parametrov (aktivnost aspartat-aminotransferaze, kreatin-kinaze, glutation peroksidaze in superoksid dismutaze, koncentracija glukoze, sečnine, holesterola, lipoproteinov nizke gostote, natrija, magnezija, železa, anorganskih fosfatov, celokupne antioksidativne kapacitete, vitamina E in koencima Q<sub>10</sub>) se niso značilno spremenile. Štiriindvajset urni počitek po izvedbi izbrane fizične aktivnosti je zadostoval, da so se vrednosti večine merjenih parametrov vrnile na raven vrednosti, izmerjenih pred izvedbo fizične aktivnosti. Zdravju konj z izvedbo izbrane fizične aktivnosti nismo škodili.

Izbrana fizična aktivnost ni povečala sistemske aktivnosti mišičnih encimov. Rezultati raziskave sinergističnega delovanja niso dokazali, vendar nakazujejo, da je vitamin E kot dodatek k prehrani posamezno in v kombinaciji s koencimom Q<sub>10</sub>, obranil rekreativne konje pred oksidativnim stresom, ki ga je povzročila izbrana fizična aktivnost.

Nasprotujoči si rezultati med različnimi raziskavami pri športnih konjih in našo raziskavo so najverjetneje posledica individualnih razlik med konji, vključenih v te raziskave, različnih oblik fizične aktivnosti ter posledica uporabe različnih odmerkov in časov dajanja dodatkov k prehrani. S tem rezultati naše raziskave nakazujejo, da bi bilo smiselno dodati antioksidativna dodatka (vitamin E oz. kombinacijo koencima Q<sub>10</sub> in vitamina E) k prehrani rekreativnih konj. Kljub pričakovanim ugodnejšim rezultatom smo prispevali k novim dognanjem na področjih oksidativnega stresa povzročenega z izbrano fizično aktivnostjo in uporabi antioksidativnih dodatkov (vitamin E, koencim Q<sub>10</sub> in njuna kombinacija) k prehrani rekreativnih konj. Do danes še ni bila objavljena študija, ki bi proučevala vpliv antioksidativnih dodatkov k prehrani na oksidativni stres povzročen s fizično aktivnostjo pri rekreativnih konjih. V prihodnje bi

bilo potrebno narediti dodatne raziskave, s katerimi bi ugotovili potreben čas dajanja ter ustrezne odmerke vitamina E in koencima Q<sub>10</sub> posamezno in skupaj, za dosežen biološki učinek pri konjih na splošno, še posebej pri rekreativnih konjih, ki so le občasno izpostavljeni stresom.

## 8 SUMMARY

In humans and animals, physical activity can cause the additional production of reactive species, especially reactive oxygen species (ROS) which causes oxidative stress. If the antioxidative system is unable to defeat such reactive species, lipid peroxidation can take place. The consequences are changes and damages to the muscle cells membranes, the release of the cell contents, and the occurrence of cell dysfunctionality. The intake of antioxidants in the form of food supplements can fully replace used-up antioxidants or facilitate a regeneration of the oxidised forms into reduced forms. A similar research performed on leisure horses has not yet been performed.

The purpose of this thesis was to determine physiological, biochemical, haematological and antioxidative parameters, as well as an indicator of the oxidative stress (malondialdehyde) in healthy leisure horses performing selected physical activity. We wanted to determine whether or not the selected physical activity of leisure horses leads to the oxidative stress condition and oxidative damages and/or to what extent the intake of antioxidative supplements (vitamin E, coenzyme Q<sub>10</sub> and the combination of both) mixed with food influences the reduction of oxidative stress and their eventual synergistic performance. Furthermore, we wanted to find out whether or not the oxidative stress has any connection to the increased system activity of muscle enzymes.

The clinical check was performed on 63 warm-blooded leisure horses, of which 40 healthy horses from 3 to 18 years of age were selected to take part in the research; excluded were mares in foal and mares with foals. At the same time, blood samples were taken for both basic haematological and biochemical analyses as well as for determination of coenzyme Q<sub>10</sub> in plasma (this data did not exist for leisure horses yet). The measured coenzyme Q<sub>10</sub> concentration was between 0,38 and 2,09 mg/L (mean  $1,03 \pm 0,36$  mg/L). The bust circumferences and body lengths of the horses were also measured and their body mass was calculated.

During first part of the research, 12 randomly selected leisure horses were given varying doses of water-soluble form of coenzyme Q<sub>10</sub> in paste form (400, 600 and 800 mg of coenzyme Q<sub>10</sub>/daily) twice a day for 28 days in a row. The purpose of this was to determine the appropriate dosage of coenzyme Q<sub>10</sub> for the second part of the research. The blood samples were taken before the first intake of coenzyme Q<sub>10</sub> (0) and then 6, 12, 24 and 48 hours and 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 and 56 days after the first intake of coenzyme Q<sub>10</sub>. Based

on our findings and data of the pharmacokinetic study as well as research findings (both pharmacokinetic study and research were performed on sport horses, we set 800 mg as maximum daily dosage. This dosage was administered to horses for 14 days twice a day during the second part of our research.

During the second part of the research, 40 horses were separated randomly into four groups of 10 horses. Those horses were administered paraffin oil (placebo) or one of the antioxidative food supplements (800 mg of coenzyme Q<sub>10</sub>/daily, 1,8 IU of vitamin E/per kg of body mass daily or a combination of the coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E in ratio of 800 mg of the coenzyme Q<sub>10</sub>/daily + 1,8 IU of vitamin E per kg of body mass daily) for 14 days before the selected physical activity took place. After the administration of placebo or antioxidative food supplement for 14 days, the selected physical activity (of middle difficulty) was performed for 40 minutes. After that, a walk followed for 15 to 20 minutes for animals to cool down after the physical activity.

Four blood samples were taken from the jugular vein (*V. jugularis*) of each horse and then placed into appropriate test tubes: before the first administration of the food supplements (this administration was used to determine basal values), after the 14 days of administration of food supplements (immediately before the selected physical activity), immediately after the end of gallop (40 minutes after the start of the selected physical activity) and 24 hours after the selected physical activity in the home stables. The taken blood samples were used to determine haematological, biochemical and antioxidative parameters (including the vitamin E and the coenzyme Q<sub>10</sub>) and the indicator of the lipid peroxidation.

The haematological parameters were measured by means of an automatic haematological analyser Advia 120, the biochemical parameters (excluding electrolytes – sodium, potassium and chlorides) were measured by means of an RX-Daytona automatic biochemical analyser and the concentrations of electrolytes were measured by means of an Ilyte analyser. The antioxidative parameters were measured by means of RX Daytona automatic biochemical analyser. For determination of malondialdehyde concentration, the methods of high-performance liquid chromatography (HPLC) and electrospray ionisation (ESI) were used. The measurements were performed by means of an Agilent 6460 analyser with triple quadrupole MS/MS detector. The coenzyme Q<sub>10</sub> concentrations were determined using HPLC and ESI methods and the measurements were analysed using a Xevotq Waters analyser with triple

quadrupole MS/MS detector. The vitamin E concentrations were determined using the HPLC method and the measurements were analysed using the fluorescent detector.

Before the administration of food supplements, the basal values of the measured haematological, biochemical and antioxidative parameters (including vitamin E) and of the indicator of the oxidative stress (malondialdehyde) were within reference range and comparable to the results of other research. During the selected physical activity, physiological processes had a significant impact on changes of some of the physiological and blood parameters, as the values of most of the measured parameters immediately after the end of the selected physical activity exceeded the reference parameters. Heart rate, respiratory rate, body temperature, the numerical concentration of red blood cells, white blood cells and platelets, the hemoglobin concentration, hematocrit shares, concentration of creatinine and uric acid were significantly increased in all groups; the activity of a muscle enzyme lactate dehydrogenase, the concentration of albumin, total proteins and high density lipoproteins were increased only in the control group; the concentration of lactate and triglyceride were increased in all groups, except in the group vit. E.; the concentration of total bilirubin was increased only in the group CoQ<sub>10</sub>, the concentration of potassium was increased in all groups, except in the group CoQ<sub>10</sub>, and the concentration of malondialdehyde was increased only in the control group and in the group receiving as a food supplement coenzyme Q<sub>10</sub>. The ratio of neutrophils/lymphocytes was significantly decreased in the group that received as a food supplement vitamin E; the concentration of chloride was decreased in the control group and the group vit. E; the concentration of calcium was decreased in all groups. The values of all other parameters (the activity of aspartate aminotransferase, creatine kinase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase, the concentration of glucose, urea, cholesterol, low density lipoproteins, sodium, magnesium, iron, inorganic phosphate, total antioxidant capacity, vitamin E and coenzyme Q<sub>10</sub>) were not significantly changed. Twenty-four hours of rest after the end of selected physical activity were enough for the values of the most of the measured parameters to return to the level before the physical activity. The selected physical activity caused no damage to the health of the horses.

The selected physical activity did not increase the system activity of the muscle enzymes. The research results did not prove synergistic performance, although they indicate that the vitamin E as single food supplement or in combination with the coenzyme Q<sub>10</sub> was successful in protecting the leisure horses from oxidative stress caused by the selected physical activity.

The conflicting results between different research results regarding sport horses and our research are most probably the results of individual differences between the horses which took part in the previous research, the results of different forms of physical activity and the results of different dosages and administering times of food supplements. Thus said, the results of our research indicate the usefulness of administering the two antioxidative food supplements (vitamin E or a combination of the coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E) into the food of leisure horses.

Despite expected favourable outcomes, we contributed to new findings in the fields of oxidative stress induced by choosen selected physical activity and the use of food antioxidant supplements (vitamin E, coenzyme Q<sub>10</sub> and their combination) in leisure horses. Until now it has not been published study that examined the impact of antioxidant supplementation on oxidative stress induced by physical activity in leisure horses. In future, additional research seems to be necessary in order to determine the time needed for the administration of food supplements and appropriate dosages of the vitamin E and coenzyme Q<sub>10</sub>, separately and in combination, to achieve a biological effect in horses in general, and specifically in leisure horses, which are only exposed to forms of stress periodically.

## 9 ZAHVALE

Iskrena hvala mentorju, *doc. dr. Petru Kruljcu*, ki mi je omogočil pot v raziskovanje, me usmerjal, vodil in dajal koristne napotke pri organiziranju raziskave. Hvala za vso strokovno podporo, spodbude, skrb, zaupanje in vero vame. Upam, da sem izpolnila njegova pričakovanja.

Iskrena hvala somentorici, *izr. prof. dr. Alenki Nemec Svete*, za neprecenljivo pomoč pri delu z vzorci, hitro popraviljanje osnutkov disertacije, strokovno podporo, spodbude, skrb, koristne napotke, zaupanje in neizmerno vero vame ter ogromno količino časa, ki mi ga je posvetila. Tvoja pripravljenost, da pomagaš in tvoja ljubezen do dela sta občudovanja vredni.

Hvala predsednici komisije, *izr. prof. dr. Nini Čebulj-Kadunc*, za hitro popraviljanje osnutkov, za pripombe in nasvete, ki so pripomogli k izboljšavi disertacije.

Hvala članoma komisije, *prof. dr. Marjanu Koscu* in *prof. dr. Stanislavu Gobcu* (s Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani), za nasvete in tehten pregled disertacije.

Iskrena hvala *izr. prof. dr. Tomažu Vovku* (s Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani) za izvedbo, pomoč in strokovno podporo pri meritvah malondialdehida.

Hvala *izr. prof. dr. Kseniji Šinigoj Gačnik* pri postavitvi metode za določitev koencima Q<sub>10</sub>, *dr. Tomažu Pezdiru* za meritve in študentkam *Nini* ter obema *Nikama* za pomoč pri pripravi vzorcev.

Hvala za pomoč *viš. znan. sod. dr. Gabrijeli Tavčar Kalcher* pri postavitvi in meritvah metode za določitev vitamina E.

Hvala direktorju podjetja Valens Int. d. o. o. iz Šenčurja, *g. Juretu Pavliču*, ki je doniral Q<sub>10</sub> Vital pasto, za del raziskave.

Zahvaljujem se tudi *ga. Mateji Blas* za statistično obdelavo podatkov.

Hvala *mag. Giti Greces Smole* za pomoč pri pregledu literature.

Iskrena hvala *Mateju Lončarju* in *Emi Kocet*, ki sta mi brezpogojno pomagala pri praktičnem delu s konji.

Hvala *lekt. dr. Mateji Gaber* za strokovno in hitro lektoriranje disertacije in lektorju *g. Terryju Troyu Jacksonu* za lektoriranje angleškega besedila.

Iskrena hvala zelo dobri prijateljici *doc. dr. Tjaši Danevčič* za nasvete in pomoč pri oblikovanju disertacije ter skupnim zabavnim trenutkom v Ljubljani.

Hvala *sodelavkam* in *sodelavcem* v službi (Oddelek za laboratorijsko diagnostiko, SB Murska Sobota), ki so razumeli moje odsotnosti, ko sem nujno potrebovala proste dneve za disertacijo.

Hvala vsem *konjem* in *njihovim lastnikom*, ki so mi omogočili, da sem disertacijo sploh lahko izvedla.

Posebna hvala *mami*, ki me vse moje življenje vzpodbuja in usmerja na vse mogoče načine tako pri mojem izobraževanju kot tudi v življenju.

Iskrena hvala možu *Tomažu* za nesebično razumevanje, potrpežljivost, podporo in ljubezen.

Hvala za vse, brez vseh vas ne bi bila to, kar sem.

## 10 LITERATURA

1. Abeni F, Prà AD, Bertin G, Calamari L. Serum protein fraction in mature horses and relationship with metabolic and hematological parameters.  
J Equine Vet Sci 2013; 33: 905–11.
2. Adamu L, Noraniza MA, Rasedee A, Bashir A. Metabolic responses in endurance horses during racing in relation to uric acid profile, leucocytes, heart rate and plasma biochemical parameters. Vet Med 2012<sup>a</sup>; 57: 591–6.
3. Adamu L, Noraniza MA, Rasedee A, Bashir A. Effects of speed, heart rate, lactate and uric acid on the performance of Arabian horses during a 120-km endurance race.  
J Agr Vet Sci 2012<sup>b</sup>; 1: 1–4.
4. Adamu L, Noraniza MA, Rasedee A, Bashir A. Effect of age and performance on physical, hematological, and biochemical parameters in endurance horses.  
J Equine Vet Sci 2013; 33: 415–0.
5. Aejmelaeus RT, Holm P, Kaukinen U, et al. Age-related changes in the peroxyl radical scavenging capacity of human plasma.  
Free Radic Biol Med 1997; 23: 69–75.
6. Agencija Republike Slovenije za okolje. Meteo.si. Letni podatki povprečne temperature zraka prikazanih po mesecih za kraj: Kočevje, Ljubljana, Maribor, Murska Sobota. Ljubljana: ARSO, 2014. <http://www.meteo.si/met/sl/archive> (14.3.2015)
7. Aguilera-Tejero E, Estepa JC, López I, Bas S, Garfia B, Rodríguez M. Plasma ionized calcium and parathyroid hormone concentrations in horses after endurance rides.  
J Am Vet Med Assoc 2001; 219: 488–90.
8. Aguilera-Tejero E, Estepa JC, López I, Bas S, Mayer-Valor R, Rodríguez M. Quantitative analysis of acid-base balance in show jumpers before and after exercise.  
Res Vet Sci 2000; 68: 103–8.
9. Al-Qudah KM, Al-Majali AM. Status of biochemical and antioxidant variables in horses before and after long distance race. Rev Med Vet 2006; 157: 307–12.
10. Andriichuk A, Tkachenko H, Kurhaluk N. Gender differences of oxidative stress biomarkers and erythrocyte damage in well-trained horses during exercise.  
J Equine Vet Sci 2014; 34: 978–85.

11. Art T, Lekeux P. Exercise-induced physiological adjustment to stressful conditions in sport horses. *Livest Prod Sci* 2005; 92: 101–11.
12. Art T, Kirschvink N, Le Sueur C, Smith N, Lekeux P. Effect of hyonate administration on pulmonary function and indices of oxidative stress in COPD horses in clinical remission at rest and after exercise. *J Equine Vet Sci* 1999; 19: 646–51.
13. Askew EW. Work at high altitude and oxidative stress: antioxidant nutrients. *Toxicology* 2002; 180: 107–19.
14. Assenza A, Bergero D, Congiu F, Tosto F, Giannetto C, Piccione G. Evaluation of serum electrolytes and blood lactate concentration during repeated maximal exercise in horse. *J Equine Vet Sci* 2014; 34: 1175–80.
15. Assenza A, Tosto F, Piccione F, et al. Lipid utilization pathways induced by early training in standardbred trotters and thoroughbreds. *J Equine Vet Sci* 2012; 32: 704–10.
16. Avellini L, Chiardia E, Gaiti A. Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*). *Comp Biochem Physiol B* 1999; 123: 147–54.
17. Ayala I, Martos NM, Silvan G, Gutierrez-Pazino C, Clavel JG, Illera JC. Cortisol, adenocorticotrophic hormone, serotonin, adrenaline and noradrenaline serum concentrations in relation to disease and stress in the horse. *Res Vet Sci* 2012; 93: 103–7.
18. Azizbeigi K, Stannard SR, Atashak S, Mosalman Haghighi M. Antioxidant enzymes and oxidative stress adaptation to exercise training: comparison of endurance, resistance, and concurrent training in untrained males. *J Exerc Sci Fitness* 2014; 12: 1–6.
19. Balogh N, Gaal T, Ribiczeyne PP, Petri A. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. *Vet Clin Pathol* 2001; 30: 214–8.
20. Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem* 2003; 253: 307–12.
21. Barclay JK, Hansel M. Free radicals may contribute to oxidative skeletal muscle fatigue. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69: 279–84.

22. Belardinelli R, Mucaj A, Lacalaprice F, et al. Coenzyme Q<sub>10</sub> improves contractility of dysfunctional myocardium in chronic heart failure. *Biofactors* 2005; 25: 137–45.
23. Belhaj N, Dupuis F, Arab-Tehrany E, et al. Formulation, characterization and pharmacokinetic studies of coenzyme Q<sub>10</sub> PUFA's nanoemulsions. *Eur J Pharm Sci* 2012; 47: 305–12.
24. Bentinger M, Brismar K, Dallner G. The antioxidant role of coenzyme Q. *Mitochondrion* 2007; 7:41–50.
25. Benzie IFF. Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol A* 2003; 136: 113–26.
26. Bergero D, Assenza A, Caola G. Contribution to our knowledge of the physiology and metabolism of endurance horses. *Livest Prod Sci* 2005; 92: 167–76.
27. Berlin D, Aroch I. Concentrations of ionized and total magnesium and calcium in healthy horses: effects of age, pregnancy, lactation, pH and sample type. *Vet J* 2009; 181: 305–11.
28. Bhagavan HM, Chopra RK. Coenzyme Q<sub>10</sub>: absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radic Res* 2006; 40: 445–53.
29. Bhagavan HM, Chopra RK. Plasma coenzyme Q<sub>10</sub> response to oral ingestion of coenzyme Q<sub>10</sub> formulation. *Mitochondrion* 2007; 7: 78–88.
30. Billat VL, Sirvent P, Py G, Koralsztejn JP, Mercier J. The concept of maximal lactate steady state. A bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sport Med* 2003; 33: 407–26.
31. Blatt DH, Leonard SW, Traber MG. Vitamin E kinetics and the function of tocopherol regulatory proteins. *Nutrition* 2001; 17: 799–805.
32. Bloomer RJ, Canale RE, McCarthy VG, Farney TM. Impact of oral ubiquinol on blood oxidative stress and exercise performance. *Oxid Med Cell Longev* 2012; 2012: e465020 (10 str.)  
<http://www.dx.doi.org/10.1155/2012/465020> (14.3.2015)
33. Blum J, Fridovich I. Inactivation of glutathion peroxidase by superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 1985; 240: 500–8.
34. Bogdanis GC, Stavrinou P, Fatouros IG, et al. Short-term high-intensity exercise training attenuates oxidative stress response and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol* 2013; 61: 171–7.

35. Bohar Topolovec M, Kruljc P, Prošek M, et al. Endogenous plasma coenzyme Q<sub>10</sub> concentration does not correlate with plasma total antioxidant capacity in healthy horses. *Res Vet Sci* 2013; 95: 675–7.
36. Bonetto A, Penna F, Muscaritoli M, et al. Are antioxidants useful for skeletal muscle atrophy? *Free Radic Biol Med* 2009; 47: 906–16.
37. Borstel UUK, Duncan IJH, Cleasson Lundin M, Keeling LJ. Fear reactions in trained and untrained horses from dressage and show-jumping breeding lines. *Appl Anim Behav Sci* 2010; 125: 124–31.
38. Braun B, Clarkson PM, Freedson PS, Kohl RL. Effects of coenzyme Q<sub>10</sub> supplementation on exercise performance, VO<sub>2</sub>max, and lipid peroxidation in trained cyclists. *Int J Sport Nutr* 1991; 1(4): 353–65.
39. Brown H, Prescott R. *Applied mixed models in medicine, statistics in practice*. 2nd ed. Edinburgh, UK: John Wiley&Sons, 2006: 478 str.
40. Bryan NS. Nitrite in nitric oxide biology: cause or consequence? *Free Radic Biol Med* 2006; 41: 691–701.
41. Buchholz-Bryant MA, Baker LA, Pipkin JL, Mansell BJ, Haliburton JC, Bachman RC. The effect of calcium and phosphorus supplementation, inactivity, and subsequent aerobic training on the mineral balance in young, mature, and aged horses. *Equine Nutr Physiol Soc* 2001, 21: 71–7.
42. Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:1081–7.
43. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem* 1998; 44: 1309–15.
44. Carreón VG, Macedo RJ, De la Peña C. Effect of physical activity and other factors on serum levels of total cholesterol and triglycerides in horses in Colima, Mexico. *J Vet Adv* 2013; 3: 215–9: e215–9  
<http://www.scopemed.org/fulltextpdf.php?mno=39099> (15.3.2015)
45. Carroll CL, Huntington PJ. Body condition scoring and weight estimation. *Equine Vet J* 1988; 20: 41–5.

46. Castejón F, Trigo P, Muñoz A, Riber C. Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. *Equine Vet J* 2006; 38 (Suppl. 36): 70–3.
47. Castrogiovanni P, Imbesi R. Oxidative stress and skeletal muscle in exercise. *Ital J Anat Embryol* 2012; 117: 107–16.
48. Cejas P, Casado E, Belda-Iniesta C, et al. Implication of oxidative stress and cell membrane lipid peroxidation in human cancer. *Cancer Causes Control* 2004; 15: 707–19.
49. Ceylan E, Dede S, Degar Y, Yörük I. Investigation of the effects of carrying heavy load on prooxidation/antioxidant status and vitamin D<sub>3</sub> in healthy horses. *Asian J Anim Vet Adv* 2009, 4: 41–6.
50. Chen H, Tappel AL. Protection of vitamine E, selenium, trolox C, ascorbic acid palmitate, acetylcysteine, coenzyme Q<sub>9</sub>, coenzyme Q<sub>10</sub>, beta-carotene, canthaxanthin, and (+)-catechin against oxidative damage to rat blood and tissue in vivo. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 949–53.
51. Cheng TY, Zhu Z, Masuda S, Morcos NC. Effects of multivitamin supplementation on antioxidant defence system in healthy human beings. *J Nutr Biochem* 2001; 12: 388–95.
52. Chiaradia E, Avellini L, Rueca F, Spaterna A, Porciello F. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. *Comp Biochem Physiol* 1998; 119: 833–6.
53. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 637–46.
54. Coenen M. Exercise in stress: impact on adaptive processes involving water and electrolytes. *Livest Prod Sci* 2005; 92: 131–45.
55. Cooke M, Iosia M, Buford T, et al. Effect of acute and 14-day coenzyme Q<sub>10</sub> supplementation on exercise performance in both trained and untrained individuals. *J Int Sports Nutr* 2008; 5: 1–14.
56. Crane FL, Navas P. The diversity of coenzyme Q function. *Mol Aspects Med* 1997; 18: 1–6.
57. Crane FL. Discovery of ubiquinone (Coenzyme Q) and an overview of function. *Mitochondrion* 2007; 7: 2–7.

58. Czauderna M, Kowalczyk J, Marounek M. The simple and sensitive measurement of malondialdehyde in selected specimens of biological origin and some feed by reversed phase high performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 2011; 879: 2251–8.
59. Čebulj-Kadunc N, Cestnik V. Vpliv fizioloških dejavnikov na hematološke vrednosti konja. *Vet Nov* 2002; 28: 461–5.
60. Deaton CM, Marlin DJ. Exercise-associated oxidative stress. *Clin Techn Equine Pract* 2003; 2: 278–91.
61. Deaton CM, Marlin DJ, Smith NC, et al. Antioxidant supplementation in horses affected by recurrent airway obstruction. *J Nutr* 2004; 134: 2065–7.
62. Dedon PC, Tannenbaum SR. Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation. *Arch Biochem Biophys* 2004; 423: 12–22.
63. De la Rua-Domenech R, Mohammed HO, Cummings JF, et al. Association between plasma vitamin E concentration and the risk of equine motor neuron disease. *Vet J* 1997; 154: 203–13.
64. De Moffarts B, Kirschvink N, Art T, Pincemail J, Lekeux P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in thoroughbred horses. *Vet J* 2005; 169: 65–74.
65. De Moffarts B, Kirschvink N, Art T, Pincemail J, Lekeux P. Effect of exercise on blood oxidant/antioxidant markers in standardbred horses: comparison between treadmill and race track tests. *Equine Exerc Physiol* 2006; 36: 254–7.
66. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15: 316–28.
67. Deuster PA, Dolev E, Kyle SB, Anderson RA, Schoomaker EB. Magnesium homeostasis during high-intensity anaerobic exercise in men. *J Appl Physiol* 1987; 62: 545–50.
68. Díaz-Castro J, Guisado R, Kajarabille N, et al. Coenzyme Q<sub>10</sub> supplementation ameliorates inflammatory signaling and oxidative stress associated with strenuous exercise. *Eur J Nutr* 2012; 51: 791–9.
69. Dreosti IE. Magnesium status and health. *Nutr Rev* 1995; 53: 23–7.
70. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47–95.

71. Duthie GG. Determination of activity of antioxidants in human subjects.  
Proc Nutr Soc 1999; 58: 1015–24.
72. El-Bahr SM. Biochemistry of free radicals and oxidative stress.  
Sci Int 2013; 5: 111–7.
73. Escribano BM, Molina A, Valera M, et al. Genetic analysis of haematological and plasma biochemical parameters in the Spanish purebred horse exercised on a treadmill. *Animal* 2013; 7: 1414–22.
74. Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Striegl G, Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low-density lipoprotein.  
*Am J Clin Nutr* 1991<sup>a</sup>; 53: 314–21.
75. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes.  
*Free Radic Biol Med* 1991<sup>b</sup>; 11: 81–128.
76. Erber R, Wulf M, Aurich J, et al. Stress response of three-year-old horse mares to changes in husbandry system during initial equestrian training.  
*J Equine Vet Sci* 2013; 33: 1088–94.
77. Ernster L, Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspect of ubiquinone function. *Biochem Biophys Acta* 1995; 1271: 195–204.
78. Evans WJ. Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 647–52.
79. Evans DL, Rainger JE, Hodgson DR, Eaton MD, Rose RJ. The effects of intensity and duration of training on blood lactate concentrations during and after exercise.  
*Equine Vet J* 2010; 27: 422–5.
80. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress. Relationship with exercise and training.  
*Sports Med* 2006; 36: 327–58.
81. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med* 2009; 8: 21 (25 str.) <http://www.dynamic-med.com/content/8/1/1>  
(15.3.2015)
82. Flaminio MJ, Rush BR. Fluid and electrolyte balance in endurance horses.  
*Vet Clin North Am Equine Pract* 1998; 14: 147–58.
83. Frankiewicz-Józko A, Szarska E. Anti-oxidant level to exercise in the blood of endurance horses. *Biol Sport* 2000; 17: 217–27.

84. Gaeini AA, Rahnama N, Hamedinia MR. Effects of vitamin E supplementation on oxidative stress at rest and after exercise to exhaustion in athletic students. *J Sports Med Phys Fitness* 2006; 46: 458–61.
85. Gago-Dominguez M, Jiang X, Castelao JE. Lipid peroxidation and the protective effect of physical exercise on breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007; 9(1): 1138–43.
86. Gehrke EK, Baldwin A, Schiltz PM. Heart rate variability in horses engaged in equine-assisted activities. *J Vet Sci* 2011; 31: 78–84.
87. Gerard MP, Hodgson DR. Metabolic energetics of locomotion. In: Back W, Clayton HM, eds. *Equine locomotion*. London: Saunders, 2001: 327–49.
88. Ghiselli A, Sarafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 1106–14.
89. Gille L, Rosenau T, Kozlov AV, Gregor W. Ubiquinone and tocopherol: dissimilar siblings. *Biochem Pharmacol* 2008; 76: 289–302.
90. Golf SW, Happel O, Graef V, Seim KE. Plasma aldosterone, cortisol and electrolyte concentrations in physical exercise after magnesium supplementation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22(11): 717–21.
91. Górecka R, Sitarska E, Klucinski W, Kleczkowski M. Antioxidant status in horses. *Pol J Vet Sci* 1999; 2: 133–6.
92. Górecka R, Sitarska E, Klucinski W. Antioxidant parameters of horses according to age, sex, breed and environment. *Pol J Vet Sci* 2002; 5: 209–16.
93. Green AR, Gates RS, Lawrence LM. Measurement of horse core body temperature. *J Therm Biol* 2005; 30: 370–7.
94. Grimston SK, Tanguay KE, Gundberg CM, Hanley DA. The calciotropic hormone response to changes in serum calcium during exercise in female long distance runners. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76(4): 867–72.
95. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem* 1991; 37: 1932–7.
96. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact* 1994; 91: 133–40.

97. Gül I, Gökbel H, Belvirandli M, Okudan N, Büyükbaz S, Basarali K. Oxidative stress and antioxidant defense in plasma after repeated bouts of supramaximal exercise: the effect of coenzyme Q<sub>10</sub>. *J Sports Med Phys Fitness* 2011; 51: 305–12.
98. Halliwell B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol* 1995; 49: 1341–8.
99. Halliwell B. The wanderings of a free radical. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 531–42.
100. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: quo vadis? *Trends Pharmacol Sci* 2011; 32: 125–30.
101. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 715–25.
102. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 4th ed. Oxford: University Press, 2007: 851 str.
103. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004; 142: 231–55.
104. Harewood EJ, McGowan CM. Behavioral and physiological response to stabling in naive horses. *J Equine Vet Sci* 2005; 25: 164–70.
105. Hargreaves BJ. Vitamin E status of thoroughbred horses and antioxidant status of endurance horses. Blacksburg: Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, 2002. Doktorska disertacija.
106. Hargreaves BJ, Kronfeld DS, Waldron JN, et al. Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise. *Equine Vet J* 2002; 34: 116–21.
107. Hargreaves IP. Coenzyme Q<sub>10</sub> as a therapy for mitochondrial disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2014; 49: 105–11.
108. Harris PA, Coenen M, Frape D, Jeffcott LB, Meyer H. Equine nutrition and metabolic diseases. In: Higgins AJ, Snyder JR, eds: *The equine manual*. 2nd ed. London: Elsevier Saunders; 2006: 151–222.
109. Harris RC, Marlin DJ, Snow DH, Harkness RA. Muscle ATP loss and lactate accumulation at different work intensities in the exercising Thoroughbred horse. *Eur J Appl Physiol* 1991; 62: 235–44.

- 110.Hasso SA, Al-Hadithy AH, Hameed RM. Serum glucose concentration and lipid profile in racing horse. *Iraqi J Vet Sci* 2012; 26: 1–3.
- 111.Helgheim I, Hetland O, Nilsson S, Ingjer F, Strømme SB. The effects of vitamin E on serum enzyme levels following heavy exercise.  
*Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1979; 40: 283–9.
- 112.Hellsten Y, Ahlborg G, Jensen-Urstad M, Sjödin B. Indication of in vivo xanthine oxidase activity in human skeletal muscle during exercise.  
*Acta Physiol Scand* 1988; 134: 159–60.
- 113.Hiney KM, Potter GD, Gibbs PG, Bloomfield SM. Response of serum biochemical markers of bone metabolism tottraining in the juvenile racehorse.  
*J Equine Vet Sci* 2000; 20: 851–7.
- 114.Horonov DW, Sinatra ST, Chopra RJ, et al. The effect of exercise and nutritional supplementation on proinflammatory cytokine expression in young racehorses during training. *J Equine Vet Sci* 2012; 32: 805–15.
- 115.Hosoe K, Kitano M, Kishida H, Kubo H, Fujii K, Kitahara M. Study on safety and bioavailability of ubiquinol (Kaneka QH TM) after single and 4-week multiple oral administration to healthy volunteers. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007; 47: 19–28.
- 116.Hyyppä S. Endocrinal responses in exercising horses.  
*Livest Prod Sci* 2005; 92: 113–21.
- 117.Ibrahim WE, Bhagavan HN, Chopra RJ, et al. Dietary coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E alter the status of these coumpounds in rat tissues and mitochondria.  
*J Nutr* 2000; 130: 2343–8.
- 118.Inoue Y, Osawa T, Matsui A, et al. Changes of serum mineral concentrations in horses during exercise. *Asian Australas J Anim Sci* 2002; 15: e531–6  
<http://www.ajas.info/upload/pdf/15-82.pdf> (15.3.2015)
- 119.Jackson MJ, Pye D, Palomero J. The production of reactive oxygen and nitrogen species by skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2007; 102(4): 1664–70.
- 120.Jagrič Munih S. Farmakokinetika koencima Q<sub>10</sub> pri športnih konjih kasačih in njegov pomen pri preprečevanju oksidativnega stresa pri vadbi. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, 2012. Doktorska disertacija.

- 121.Jagrič Munih S, Nemec Svete A, Zrimšek P, et al. Plasma malondialdehyde, biochemical and haematological parameters in standardbred horses during a selected field exercise test. *Acta Vet Blog* 2012; 62: 53–65.
- 122.Janicki B, Kochowicz A, Buzala M, Krumrych W. Variability of selected biochemical parameters in young stallions during the 100-day performance test. *J Equine Vet Sci* 2013; 33: 1136–41.
- 123.Jeanes YM, Hall WL, Ellard S, Lee E, Lodge JK. The absorption of vitamin E is influenced by the amount of fat in a meal and the food matrix. *Br J Nutr* 2004; 92: 575–9.
- 124.Ji LL. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 1079–86.
- 125.Ji LL, Leichtweis S. Exercise and oxidative stress: sources of free radicals and their impact on antioxidant system. *Age* 1997; 20: 91–106.
- 126.Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defence by exercise: role of redox signaling. *Free Rad Biol Med* 2008; 44: 142–52.
- 127.Jose-Cunilleras E. Abnormalities of body fluids and electrolytes in athletic horses. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, eds. *Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete*. Edinburg: Elsevier Saunders, 2014: 881–900.
- 128.Jose-Cunilleras E, McKeever KH. Body fluids and electrolytes: responses to exercise and training. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, eds. *Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete*. Edinburg: Elsevier Saunders, 2014: 837–54.
- 129.Jović S, Stevanović J, Borožan S, Dimitrijević B, Popović T, Blagojević M. Lipid status in racehorses following physical activity of various intensity and duration. *Acta Veterinaria* 2013; 63: 211–26.
- 130.Jozanov-Stankov O, Đurić J, Dobutović B, Isenovič ER. Determination of total antioxidant status (TAS) as a biochemical parameter in control of workers health. *Arch Biol Sci* 2009; 61: 375–82.

131. Judson GJ, Frauenfelder HC, Mooney GJ. Biochemical changes in Thoroughbred racehorses following submaximal and maximal exercise. In: Snow DH, Persson S, Rose RJ, eds. *Equine Exercise Physiology, Proceedings of the first International Conference Equine Exercise Physiology*, Granta Editions 1983; 408–15.
132. Jurkovič Jože. Konjereja. Ljubljana: ČZP Kmečki glas, 1983: 140.
133. Kaikkonen J, Kosonen L, Nyysönen K, et al. Effect of combined coenzyme Q<sub>10</sub> and d- $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation on exercise-induced lipid peroxidation and muscular damage: a placebo-controlled double-blind study in marathon runners. *Free Radic Res* 1998; 29: 85–92.
134. Kazmalov S, Sohal RS. Effect of age and caloric restriction on coenzyme Q and  $\alpha$ -tocopherol levels in the rat. *Exp Gerontol* 2004; 39: 1199–205.
135. Kazmalov S, Sumien N, Forster MJ, Sohal RS. Coenzyme Q intake elevates the mitochondrial and tissue levels of coenzyme Q and  $\alpha$ -tocopherol in young mice. *J Nutr* 2003; 133: 3175–80.
136. Kedzierski W, Bergero D. Comparison of plasma biochemical parameters in Thoroughbred and Purebred Arabian horses during the same-intensity exercise. *Pol J Vet Sci* 2006; 9(4): 233–8.
137. Kedzierski W, Bergero D, Assenza A. Trends of hematological and biochemical values in the blood of young race horses during standardized field exercise tests. *Acta Vet Beograd* 2009; 59: 457–66.
138. Kienzle E, Freismuth A, Reusch A. Double-blind placebo-controlled vitamin E or selenium supplementation of sport horses with unspecified muscle problems. An example of the potential of placebos. *J Nutr* 2006; 136: 2045–7.
139. Kingston JK. Hematologic and serum biochemical response to exercise and training. In: Hinchliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, eds. *Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete*. Edinburgh: Saunders, 2004: 939–66.
140. Kinnunen S, Atalay M, Hyypä S, Lehmuskero A, Hänninen O, Oksala N. Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse. *J Sports Sci Med* 2005<sup>a</sup>; 4: 415–21.
141. Kinnunen S, Hyypä S, Lehmuskero A, et al. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and exercise-induced oxidative stress in trotters. *Eur J Appl Physiol* 2005<sup>b</sup>; 95: 550–6.

142. Kirschvink N, Moffarts B, Lekeux P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *Vet J* 2008; 177: 178–91.
143. Kruljc P, Nemec Svete A. Changes in whole blood antioxidant and serum muscle enzyme activities in police horses on physically demanding duty. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49 (Spec. Supp.): S848.
144. Krumrych W. Blood antioxidant defence in horses during physical exercise. *Bull Vet Inst Pulawy* 2010; 54: 617–24.
145. Kumar A, Harharpreet K, Devi P, Mohan V. Role of coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) in cardiac disease, hypertension and Meniere-like syndrome. *Pharmacol Ther* 2009; 124: 259–68.
146. Laaksonen R, Fogelholm M, Himberg JJ, Laakso J, Salorinne Y. Ubiquinone supplementation and exercise capacity in trained young and older men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995; 72: 95–100.
147. Lafortuna CL, Saibene F. Mechanics of breathing in horses at rest and during exercise. *J Exp Biol* 1991; 155: 245–59.
148. Lass A, Sohal RS. Effect of coenzyme Q<sub>10</sub> and  $\alpha$ -tocoferol content of mitochondria on the production of superoxide anion radicals. *FASEB J* 2000; 14: 87–94.
149. Lawrence LM. Updates to the nutrient requirements of the horse: NRC 2007 guidelines. In: Robinson NE, Sprayberry KA, eds. *Current therapy in equine medicine*. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2009: 66–72.
150. Lee BJ, Huang YC, Chen SJ et al. Coenzyme Q<sub>10</sub> supplementation reduces oxidative stress and increases antioxidant enzyme activity in patients with coronary artery disease. *Nutrition* 2012; 28: 250–5.
151. Lekeux P, Art T, Linden A, Desmecht D, Amory H. Heart rate, hematological and serum biochemical responses to show jumping. *Equine Exercise Physiol* 1991; 3: 385–90.
152. Lewinski M, Biau S, Erber R, et al. Cortisol release, heart rate and heart rate variability in the horse and its rider: different responses to training and performance. *Vet J* 2013; 197: 229–32.

153. Le Moyec L, Robert C, Triba MN et al. Protein catabolism and high lipid metabolism associated with long-distance exercise are revealed by plasma NMR metabolomics in endurance horses. *PLoS One* 2014; 21; 9: e90730  
<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0090730> (15.3.2015)
154. Lindner A. Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sport horses in practice. *Rev Méd Vét* 2000; 151: 611–8.
155. Linnane AW, Eastwood H. Cellular redox poise modulation; the role of coenzyme Q<sub>10</sub>, gene and metabolic regulation. *Mitochondrion* 2004; 4: 779–89.
156. Linnane AW, Kios M, Vitetta L. Coenzyme Q<sub>10</sub>-Its role as a prooxidant in the formation of superoxide anion/hydrogen peroxide and the regulation of the metabolome. *Mitochondrion* 2007; 7: 51–61.
157. Linnane AW, Kopsidas G, Zhang C, et al. Cellular redox activity of coenzyme Q<sub>10</sub>: effect of CoQ<sub>10</sub> supplementation on human skeletal muscle. *Free Radic Res* 2002; 36(4): 445–53.
158. Littarru GP, Tiano L. Clinical aspect of coenzyme Q<sub>10</sub>: an update. *Nutrition* 2010; 26: 250–4.
159. Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. *Vet J* 2007; 173: 502–11.
160. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FABES J* 1987; 1: 441–5.
161. Maïmoun L, Sultan C. Effect of physical activity on calcium homeostasis and calciotropic hormones: a review. *Calcif Tissue Int* 2009; 85: 277–86.
162. Malm C, Svensson M, Ekblom B, Sjödin B. Effects of ubiquinone-10 supplementation and high intensity training on physical performance in humans. *Acta Physiol Scand* 1997; 161: 379–84.
163. Manček B, Pečar S. Radikali in zaščita pred poškodbami z radikali v bioloških sistemih. *Farm Vestn* 2001; 52: 133–44.
164. Marciniak A, Brzeszczyńska J, Gwoździński K, Jegier A. Antioxidant capacity and physical exercise. *Biol Sport* 2009; 26: 197–213.
165. Marlin DJ, Fenn K, Smith N, et al. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. *J Nutr* 2002; 132: 1622–7.

166. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde.  
Mutat Res 1999; 424: 83–95.
167. Martinez-Cayuela M. Oxygen free radicals and human disease.  
Biochemie 1995; 77: 147–61.
168. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem 1999; 32: 595–603.
169. Matsuki N, Tamura S, Ono K, et al. Exercise-induced phospholipid degradation in the equine skeletal muscle and erythrocyte. J Vet Med Sci 1991; 53:1001–7.
170. McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC et al. Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. J Nutri Biochem 2005; 16: 530–7.
171. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase.  
J Biol Chem 1969; 244: 6049–55.
172. McCutcheon LJ, Geor RJ. Sweating. Fluid and ion losses and replacement.  
Vet Clin North Am Equine Pract 1998; 14: 75–95.
173. McDonald SR, Sohal RS, Forster MJ. Concurrent administration of coenzyme Q<sub>10</sub> and  $\alpha$ -tocopherol improves learning in aged mice.  
Free Radic Biol Med 2005; 38: 729–36.
174. McGowan CM, Hodgson DR. Hematology and biochemistry. In: Hodgson DR, McGowan CM, McKeever KH, eds. The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine. 2nd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2014: 56–68.
175. McGreevey PD, McLean AN. Punishment in horse-training and the concept of ethical equitation. J Vet Behav 2009; 4: 193–7.
176. McKenzie EC. Biochemical abnormalities of athletic horses. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, eds. Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete. Edinburgh: Elsevier Saunders, 2014: 931–8.
177. McMeniman NP, Hintz HF. Effect of vitamin E status on lipid peroxidation in exercised horses. Equine Vet J 1992; 24 (6): 482–4.
178. Medbø JJ, Sejersted OM. Plasma potassium changes with high intensity exercise.  
J Physiol 1990; 421: 105–22.

- 179.Mendes Soares JC, Zanella R, Bondan C et al. Biochemical and antioxidant changes in plasma, serum, and erythrocytes of horses before and after a jumping competition. *J Equine Vet Sci* 2011; 31: 357–60.
- 180.Meydani M. Vitamin E. *Lancet* 1995; 21: 170–5.
- 181.Miles MV, Horn PS, Tang PH, et al. Bioequivalence of coenzyme Q<sub>10</sub> from over the counter supplements. *Nutr Res* 2002; 22: 919–29.
- 182.Miles MV, Horn PS, Tang PH et al. Age-related changes in plasma coenzyme Q<sub>10</sub> concentration and redox state in apparently healthy children and adults. *Clin Chem Acta* 2004; 347: 139–44.
- 183.Miller NJ, Rice-Evans C, Davie MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993; 84: 407–12.
- 184.Mills PC, Smith NC, Casas I, Harris P, Harris RC, Marlin DJ. Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *Eur J Appl Physiol* 1996; 74: 60–6.
- 185.Morgan K. Thermal insulance of pheripheral tissue and coat in sport horses. *J Therm Biol* 1997<sup>a</sup>; 22: 169–75.
- 186.Morgan K. Effects of short-term changes in ambient air temperature or altered insulation in horses. *J Therm Biol* 1997<sup>b</sup>; 22: 187–94.
- 187.Morgan K, Ehrlemark A, Sällvik K. Dissipation of heat from standing horses exposed to ambient temperatures between -3 °C and 37 °C. *J Therm Biol* 1997; 22: 177–86.
- 188.Morgan K. Thermoneutral zone and critical temperatures of horses. *J Therm Biol* 1998; 23: 59–61.
- 189.Muir W. Recognizing and treating pain in horses. In: Reed SM, Bayly WM, Sellon DC, eds. *Equine internal medicine*. 2nd ed. St Louis: Saunders, 2004: 1530–41.
- 190.Muñoz A, Castejón F, Rubio MD, Tovar P, Santisteban R. Electrocardiographic alterations in Andalusian horses associated with training. *J Vet Equine Sci* 1995; 15: 72–9.
- 191.Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón FM, Lucas RL, Palacio J. The effect of hypertonic dehydration changes on renal function and arginine vasopressin in the horse during pulling exercises. *Vet J* 2011; 189: 83–8.

192. Muñoz-Escassi B, Maranon G, Manley W, et al. Exercise-induced changes on lipid peroxides and antioxidant enzymes levels changes in plasma of show jumping and dressage horses. *Int J Appl Res Vet Med* 2006; 4: 274–81.
193. Navarro J, Obrador E, Pellicer JA, et al. Blood glutathione as an index of radiation-induced oxidative stress in mice and humans. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 1203–9.
194. Nemec Svete A, Čebulj-Kadunc N, Frangež R, Kruljc P. Serum cortisol and haematological, biochemical and antioxidant enzyme variables in horse blood sampled in a slaughterhouse lairage, immediately before stunning and during exsanguination. *Animal* 2012; 6: 1300-6.
195. Nemec Svete A, Frangež R. Klinična biokemija v veterinarski medicini: učbenik za študente veterinarske medicine. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, 2013: 186 str.
196. Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzen X. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem* 2003; 278: 31426–33.
197. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry* 1997; 43(7): 1209–14.
198. Niki E. Mechanisms and dynamics of antioxidant action of ubiquinol. *Mol Aspects Med* 1997; 18: 63–70.
199. Nikolaidis MG, Jamurtas AZ, Paschalis V, Fatouros IG, Koutedakis Y, Kouretas D. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports Med* 2008; 38: 579–606.
200. Ognjatović BI, Marković SD, Pavlović SZ, et al. Combined effects of coenzyme Q<sub>10</sub> and Vitamine E in cadmium induced alterations of antioxidant defense system in the rat heart. *Environ Toxicol Pharmacol* 2006; 22: 219–24.
201. Ono K, Inui K, Hasegawa T, et al. The changes of antioxidative enzyme activities in equine erythrocytes following exercise. *Jpn J Vet Sci* 1990; 52(4): 759–65.
202. Osredkar J. Oksidativni stres. *Zdrav Vestn* 2012; 81:393–406.
203. Otrocka-Domagala I, Rotkiewicz T, Karpinska J, et al. The effect of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E on the regeneration of skeletal muscle in pigs. *Pol J Vet Sci* 2004; 7: 295–303.

- 204.Ott EA. Influence of temperature stress on the energy and protein metabolism and requirements of the working horse. *Livest Prod Sci* 2005; 92: 123–30.
- 205.Östman B, Sjödin A, Michaëlsson K, et al. Coenzyme Q<sub>10</sub> supplementation and exercise-induced oxidative stress in humans. *Nutrition* 2012; 28: 403–17.
- 206.Özcan M, Arslan M, Cötelioğlu Ü, Bakirel U. The effect of physical exercise on plasma lipid and protein profile in race horses.  
*J Fac Vet Med Istanbul Univ* 2002; 28: 85–90.
- 207.Packer L. Protective role of vitamin E in biological systems.  
*Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1050–5.
- 208.Padalino B, Rubino G, Lacinio DBio R, Petazzi F. Observation on the hematology of standardbred horses in training and racing in Southern Italy.  
*J Equine Vet Sci* 2014; 34: 398–402.
- 209.Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158–69.
- 210.Pala FS, Gürkan H. The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases.  
*Adv Mol Biol* 2008; 1: 1–9.
- 211.Patwell DM, McArdle A, Morgan JE, et al. Release of reactive oxygen and nitrogen species from contracting skeletal muscle cells.  
*Free Radic Biol Med* 2004; 37: 1064–72.
- 212.Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Updat* 2004; 7: 97–110.
- 213.Perdih A, Pečar S. Katalitični antioksidanti kot nove zdravilne učinkovine.  
*Farm Vestn* 2006; 57: 24–9.
- 214.Pepe H, Serdal Balci, Reven S, Peker Akalin, Kurtoglu F. Comparison of oxidative stress and antioxidant capacity before and after running exercises in both sexes.  
*Gen Med* 2009; 6: 587–95.
- 215.Piccione G, Casella S, Giannetto C, Messina V, et al. Haematological and haematochemical responses to training and competition in standardbred horses.  
*Comp Clin Pathol* 2010<sup>a</sup>; 19(1): 95–101.
- 216.Piccione G, Fazio F, Giannetto C, Assenza A, Caola G. Oxidative stress in thoroughbreds during official 1800-metre races. *Vet Arh* 2007; 77: 219–27.

217. Piccione G, Giannetto C, Fazio F, Casella S, Caola G. A comparison of daily rhythm of creatinine and creatine kinase in the sedentary and athlete horse.  
*J Equine Vet Sci* 2009; 29: 575–80.
218. Piccione G, Giannetto C, Marafioti S, Casella S, Assenza A, Fazio F. Comparison of daily rhythm of rectal and auricular temperatures in horses kept under a natural photoperiod and constant darkness. *J Therm Biol* 2011<sup>a</sup>; 36: 245–9.
219. Piccione G, Giannetto C, Marafioti S, Casella S, Fazio F, Caola G. Daily rhythms of rectal temperature and total locomotor activity in trained and untrained horses.  
*J Vet Behav Clin Appl Res* 2011<sup>b</sup>; 6: 115–20.
220. Piccione G, Grasso F, Fazio F, Giudice E. The effect of physical exercise on the daily rhythm of platelet aggregation and body temperature in horses.  
*Vet J* 2008; 176: 216–20.
221. Piccione G, Messina V, Bazzano M, Giannetto C, Fazio F. Heart rate, net cost of transport, and metabolic power in horse subjected to different physical exercise.  
*J Equine Vet Sci* 2013; 33: 586–9.
222. Piccione G, Messina V, Casella S, Giannetto C, Caola G. Blood lactate levels during exercise in athletic horses. *Comp Clin Pathol* 2010<sup>b</sup>; 19: 535–9.
223. Pinheiro JC, Bates DM. Mixed-effects models in S and S-PLUS. New York: Springer, 2000: 530 str.
224. Pipkin JL, Baker LA, Buchholz-Bryant MA, et al. The effect of aerobic exercise after a period on inactivity on bone remodeling and calcium and phosphorus balance in mature horses. *Equine Nutr Physiol Soc* 2001; 21: 491–7.
225. Plevnik Kapun A, Salobir J, Levart A, Tavčar Kalcher G, Nemec Svete A, Kotnik T. Vitamin E supplementation in canine atopic dermatitis: improvement of clinical signs and effects on oxidative stress markers. *Vet Record* 2014; 175: 560.
226. Porter DA, Costill DL, Zachwieja JJ, et al. The effect of oral coenzyme Q<sub>10</sub> on the exercise tolerance of middle-aged, untrained men.  
*Int J Sports Med* 1995; 16: 421–7.
227. Powers SK, Bradley NW, Hudson MB. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 942–50.
228. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 1025–33.

- 229.Powers SK, Jackson MJ. Exercise induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 2008; 88: 1243–76.
- 230.Pösö AR. Monocarboxylate transporters in lactate metabolism in equine athletes: a review. *Acta Vet Scand* 2002; 43: 63–74.
- 231.Pösö AR, Hyypä S, Geor RJ. Metabolic responses to exercise and training. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, eds. *Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete*. Edinburgh: Saunders, 2004: 771–92.
- 232.Pösö AR, Viljanen-Tarifa E, Soveri T, Oksanen HE. Exercise-induced transient hyperlipidemia in the racehorse. *Zentralbl Veterinarmed A* 1989; 36: 603–11.
- 233.Psotová J, Zahálková J, Hrbáč J, Simánek V, Bartek J. Determination of total antioxidant capacity in plasma by cyclic voltammetry: two case reports. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2001; 145: 81–3.
- 234.Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 1173–81.
- 235.Prošek M, Šmidovnik A, Fir Milivojevič M, et al. Vodotopna oblika koencima Q<sub>10</sub> v obliki inkluzijskega kompleksa z beta-ciklodekstrinom, postopek njegove priprave in njegova uporaba. Slovenski patent št. 21783, objavljen 31.12.2005. Ljubljana: Urad RS za intelektualno lastnino, 2005: 18 str.
- 236.Prošek M, Butinar J, Lukanc B, et al. Bioavailability of water-soluble CoQ<sub>10</sub> in beagle dogs. *J Pharm Biomed Anal* 2008; 47: 918–22.
- 237.Rahman I, Biswas SK, Kode A. Oxidant and antioxidant balance in the airway and airway disease. *Eur J Pharmacol* 2006; 533: 222–39.
- 238.Rainger JE, Evans DL, Hodgson DR, Rose RJ. Distribution of lactate in plasma and erythrocytes during and after exercise in horses. *Br Vet J* 1995; 151: 299–310.
- 239.Rao PS, Kalva S, Yerramilli A, Mamidi S. Free radicals and tissue damage: role of antioxidants. *Free Radic Antioxid* 2011; 1: 2–7.
- 240.Ramey D, Bachmann K, Lee ML. A comparative study of non-contrast infrared and digital rectal thermometer measurements of body temperature in the horse. *J Equine Vet Sci* 2011; 31: 191–3.

241. Rammerstorfer C, Potter GD, Brumbaugh GW, Gibbs PG, Varner DD, Rammerstorfer EH. Physiologic responses of acclimatized or non-acclimatized mature reining horses to heat stress: I. heart rate, respiration rate, lactate, rectal temperature, cortisol and packed cell volume. *Equine Nutr Physiol Soc* 2001; 21: 431–8.
242. Rathgeber-Lawrence RA, Ratzlaff MH, Grant BD, Grimes KL. The effects of coenzyme Q<sub>10</sub> as a nutritional supplement on cardiovascular and musculoskeletal fitness in the exercising horse. In: *Proceedings of 10<sup>th</sup> Annual Meeting of Association of Equine Sports Medicine*. Reno, 1991: 30–4.
243. Räsänen LA. Exercise induced purine nucleotide degradation and changes in myocellular protein release. *Equine Vet J* 1995; 18: 235–8.
244. Räsänen LA, Myllymäki T, Hyyppä S, Maisi P, Pösö AR. Accumulation of allantoin and uric acid in plasma of exercising trotters. *Am J Vet Res* 1993; 54(11): 1923–8.
245. Räsänen LA, Wiitanen PAS, Lilus EM, Hyyppä S, Pösö AR. Accumulation of uric acid in plasma after repeated bouts of exercise in the horse. *Comp Biochem Physiol* 1996; 114: 139–44.
246. Ricketts SW. Hematologic and biochemical abnormalities in athletic horses. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, eds. *Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete*. Edinburgh: Elsevier Saunders, 2004: 949–66.
247. Rietmann TR, Stuart AEA, Bernasconi P, Stauffacher M, Auer JA, Weishaupt MA. Assessment of mental stress in warmblood horses: heart rate variability in comparison to heart rate and selected behavioural parameters. *Appl Anim Behav Sci* 2004; 88: 121–36.
248. Robinson NE, Sprayberry KA, eds. *Current therapy in equine medicine*. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2009: 956 str.
249. Rokitzki L, Logemann E, Huber G, Keck E, Keul J.  $\alpha$ -tocopherol supplementation in racing cyclists during extreme endurance training. *Int J Sport Nutr* 1994; 4: 253–64.
250. Rose RJ, Arnold KS, Church S, Paris R. Plasma and sweat electrolyte concentrations in the horse during long distance exercise. *Equine Vet J* 1980; 12(1): 19–22.
251. Rosenfeldt F, Hilton D, Pepe S, Krum H. Systemic review of effects of coenzyme Q<sub>10</sub> in physical exercise, hypertension and heart failure. *Biofactors* 2003; 18: 91–100.

252. Ruiz-Jiménez J, Priego-Capote F, Mata-Granados JM, Quesada JM, Lique de Castro MD. Determination of the ubiquinol-10 and ubiquinone-10 (coenzyme Q<sub>10</sub>) in human serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry to evaluate the oxidative stress. *J Chromatogr* 2007; 1175: 242–8.
253. Sachdev S, Davies KJA. Production, detection, and adaptive responses of free radicals in exercise. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 215–23.
254. Satchek JM, Blumberg J. Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition* 2001; 17: 809–14.
255. Satchek JM, Milbury PE, Cannon JG, Roubenoff R, Blumberg JB. Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 1575–88.
256. Santhosh Kumar B, Priyadarsini KI. Selenium nutrition: how important is it? *Biomed Prev Nutr* 2014; 4: 333–41.
257. Sautin YY, Johnson RJ. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2008; 27(6): 608–19.
258. Schmidt A, Biau S, Möstl E, et al. Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. *Domest Anim Endocrinol* 2010; 38: 179–89.
259. Schryver HF, Hintz HF, Lowe JE. Calcium metabolism, body composition, and sweat losses of exercised horses. *Am J Vet Res* 1978; 39: 245–8.
260. Schuback K, Essén-Gustavsson B. Muscle anaerobic response to a maximal treadmill exercise test in Standardbred trotters. *Equine Vet J* 1998; 30: 504–10.
261. Scoppetta F, Tartaglia M, Renzone G, et al. Plasma protein changes in horse after prolonged physical exercise: a proteomic study. *J Proteomics* 2012; 75: 4494–504.
262. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Rep* 2004; 9: 145–51.
263. Sewell DA, Harris RC. Adenine nucleotide degradation in the thoroughbred horse with increasing exercise duration. *Eur J Appl Physiol* 1992; 65: 271–7.
264. Shepherd J. Equine plasma lipoproteins: comparative lessons. *Equine Vet J* 1991; 23(5): 329–30.

265. Shimomura Y, Suzuki M, Sugiyama S, Hanaki Y, Ozawa T. Protective effect of coenzyme Q<sub>10</sub> on exercise-induced muscular injury. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 176: 349–55.
266. Siciliano PD, Lawrence LM, Danielsen K, Powell DM, Thompson KN. Effect of conditioning and exercise type on serum creatine kinase and aspartate aminotransferase activity. *Equine Vet J* 1995; 18: 243–7.
267. Siciliano PD, Parker AL, Lawrence LM. Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. *J Anim Sci* 1997; 75: 1553–60.
268. Silverthorn DU. Human physiology an integrated approach: blood. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2007: 453–73.
269. Silvertsen T, Øvernes G, Østerås O, Nymoen U, Lunder T. Plasma vitamin E and blood selenium concentration in Norwegian dairy cows: regional differences and relations to feeding and health. *Acta Vet Scand* 2005; 46: 177–91.
270. Sinatra ST, Chopra RK, Jankowitz S, Horohov DW, Bhagavan HN. Coenzyme Q<sub>10</sub> in equine serum: response to supplementation. *J Equine Vet Sci* 2013; 33: 71–3.
271. Sinatra ST, Jankowitz S, Chopra RK, et al. Plasma coenzyme Q<sub>10</sub> and tocopherols in thoroughbred race horses: effect of coenzyme Q<sub>10</sub> supplementation and exercise. *J Equine Vet Sci* 2014; 34: 265–9.
272. Siqueira RF, Weigel RA, Nunes GR, Mori CS, Fernandes WR. Oxidative profiles of endurance horses racing different distances. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2014; 66: 455–61.
273. Sjaastad ØV, Sand O, Hove K. Physiology of domestic animals. 2nd ed. Oslo: Scandinavian Veterinary Press, 2010: 804 str.
274. Skušek F. Osnove klinične diagnostike za veterinarje. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 1995: 24.
275. Snow DH. Haematological, biochemical and physiological changes in horses and ponies during the cross country stage of driving trial competitions. *Vet Rec* 1990; 126: 233–9.
276. Snow DH, Kerr MG, Nimmo MA, Abbott EM. Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse. *Vet Rec* 1982; 110: 377–84.

277. Soffler C. Oxidative stress. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2007; 23: 135–57.
278. Sohal RS, Forster MJ. Coenzyme Q, oxidative stress and aging. *Mitochondrion* 2007; 7: 103–11.
279. Southwood LL. Normal ranges for hematology and plasma chemistry and conversion table for units: appendix C. In: Southwood LL, eds. *Practical guide to equine colic*. Oxford: Wiley-Blackwell, 2013: 339–43.
280. Stewart M, Foster TM, Waas JR. The effects of air transport on the behaviour and heart rate of horses. *Appl Anim Behav Sci* 2003; 80: 143–60.
281. Štraus B. *Medicinska biokemija*. 2 izd. Zagreb: Medicinska naklada, 1992: 1206 str.
282. Sumida S, Tanaka K, Kitao H, Nakadomo F. Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *Int J Biochem* 1989; 21: 835–8.
283. Tateo A, Padalino B, Boccaccio M, Maggiolino A, Centoducati P. Transport stress in horses: effects of two different distances. *J Vet Behav* 2012; 7: 33–42.
284. Taylor FGR, Hillyer MH. *Diagnostic techniques in equine medicine: a textbook for students and practitioners describing diagnostic techniques applicable to the adult horse*. London: WB Saunders Company, 1997: 160–7.
285. Teixeira-Neto AR, Ferraz GC, Moscardini ARC, Balsamão GM, Souza JCF, Queiroz-Neto A. Alterations in muscular enzymes of horses competing long-distance endurance rides under tropical climate. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2008; 60: 543–9.
286. Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *J Appl Physiol* 2005; 98: 804–9.
287. Tofé E, Munoz A, Castejón F, et al. Behavior of renin angiotensin aldosterone axis during pulling exercises in euhydrated and dehydrated horses. *Res Vet Sci* 2013; 95: 616–22.
288. Tomsič K, Prošek M, Lukanc B, et al. 24-hour follow-up study of plasma coenzyme Q<sub>10</sub>, total antioxidant capacity and selected blood parameters after a single oral dose of water-soluble coenzyme Q<sub>10</sub> in healthy beagle dogs. *Slov Vet Res* 2009; 46: 93–103.
289. Turunen M, Olsson J, Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochem Biophys Acta* 2004; 1660: 171–99.

290. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *J Toxicol* 2003; 189: 41–54.
291. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1–40.
292. Valko M, Leibfritz D, Mancol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Mol Biol* 2007; 39: 44–84.
293. Vasankari TJ, Kujala UM, Vasankari TM, Vuorimaa T, Ahotupa M. Increased serum and low-density-lipoprotein antioxidant potential after antioxidant supplementation in endurance athletes. *Am J Clin Nutr* 1997; 65(4): 1052–6.
294. Vervuert I, Coenen M, Zamhöfer J. Effects of draught load exercise and training on calcium homeostasis in horses. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2005; 89: 134–9.
295. Vervuert I, Coenen M, Wedemeyer U, Chrobok C, Harmeyer J, Sporleder HP. Calcium homeostasis and intact plasma parathyroid hormone during exercise and training in young Standardbred horses. *Equine Vet J* 2002; 34: 713–8.
296. Viana PCR, Caldas-Bussiere MC, Marins RSQS, Menna-Barreto LS, Cury LJ. Effect of exercise on occurrence of diurnal rhythms of plasma ions and metabolites in Thoroughbred racehorses. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2007; 59: 857–61.
297. Viitala PE, Newhouse IJ, LaVoie N, Gottardo C. The effects of antioxidant vitamin supplementation on resistance exercise induce lipid peroxidation in trained and untrained participants. *Lipids Health Dis* 2004; 3: e14 (6 str.)  
<http://www.lipidworld.com/content/3/1/14> (15.3.2015)
298. Viña J, Gomez-Cabrere MC, Lloret A, et al. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUMBM Life* 2000; 50: 271–7.
299. Volvaard NB, Shearman JP, Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med* 2005; 35: 1045–62.
300. Votion E. Metabolic responses to exercise and training. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, eds. *Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete*. Edinburgh: Elsevier Saunders, 2014: 747–67.
301. Wagner EL, Tyler PJ. A comparison of weight estimation methods in adult horses. *J Equine Vet Sci* 2011; 31: 706–10.

302. Warburton DER, Welsh RC, Haykowsky MJ, Taylor DA, Humen DP. Biochemical changes as a result of prolonged strenuous exercise. *Br J Sports Med* 2002; 36: 301–3.
303. Watson TDG, Burns L, Love S, Packard CJ, Shepherd J. The isolation, characterisation and quantification of the equine plasma lipoproteins. *Equine Vet J* 1991; 23: 353–9.
304. Weber C, Bysted A, Holmer G. Intestinal absorption of coenzyme Q<sub>10</sub> administered in a meal or as capsules to healthy subjects. *Nutr Res* 1997; 17: 941–45.
305. Werhahn H, Hesel EF, Van den Wenghe HFA. Competition horses housed in single stalls (II): effects of free exercise on the behavior in the stable, the behavior during training, and the degree of stress. *J Equine Vet Sci* 2012; 32: 22–31.
306. Williams CA, Burk AO. Nutrient intake during an elite level three-day event competition is correlated to inflammatory markers and antioxidant status. *Equine Vet J* 2010; 42 (Suppl. 38): 116–22.
307. Williams CA, Carlucci SA. Oral vitamin E supplementation on oxidative stress, vitamin and antioxidant status in intensely exercised horses. *Equine Vet J* 2006; 36: 617–21.
308. Williams CA, Kronfeld DS, Hess TM et al. Oxidative stress in horses in three 80-km races. *Equine Nutr Physiol Soc Proc* 2003; 18: 47–52.
309. Williams CA, Kronfeld DS, Hess TM, et al. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. *J Anim Sci* 2004; 82: 588–94.
310. Williams CA, Kronfeld DS, Hess TM, Saker KE, Waldron JE, Harris PA. Vitamin E intake and systemic antioxidant status in competitive endurance horses. *Equine Comp Exerc Physiol* 2005; 2: 149–52.
311. Williams RJ, Marlin DJ, Smith N, Harris RC, Haresing W, Davies Morel MC. Effect of cool and hot humid environmental conditions on neuroendocrine responses of horses to treadmill exercise. *Vet J* 2002; 164: 54–63.
312. Young NS, Gerson SL, High KA. *Clinical hematology: basic science of hematology*. Philadelphia: Elsevier, 2006: 1–96.
313. Zakon o zaščiti živali. *Ur List RS* 2007; 17(43): 5943.

314. Zhao B, Tham SY, Lu J, Hoon Ali M, Lee LKH, Moomchala SM. Simultaneous determination of vitamins C, E and  $\beta$ -carotene in human plasma by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2004; 7: 200–4.
315. Zhao J, Lorenzo S, An N, Feng W, Lai L, Cui S. Effects of heat and different humidity levels on aerobic and anaerobic exercise performance in athletes. *J Exerc Sci Fit* 2013; 11: 35–41.
316. Zhou S, Zhang Y, Davie A, et al. Muscle and plasma coenzyme Q<sub>10</sub> concentration, aerobic power and exercise economy of healthy men in response to four weeks of supplementation. *J Sports Med Phys Fitness* 2005; 45: 337–46.
317. Zobba R, Ardu M, Niccolini S, et al. Physical, hematological, and biochemical responses to acute intense exercise in polo horses. *J Equine Vet Sci* 2011; 31: 542–8.
318. Žmitek J, Žmitek K. Koencim Q<sub>10</sub> kot prehransko dopolnilo in zdravilo. *Farm Vestn* 2009; 60: 150–7.

## 11 PRILOGE

### 11.1 Priloga 1: ORIENTACIJSKE REFERENČNE IN PRIPOROČLJIVE VREDNOSTI ZA ODRASLEGA KONJA

Tabela 47: Orientacijske referenčne vrednosti fizioloških parametrov za odraslega konja (povzeto po Skušek, 1995) in priporočljive vrednosti zunanjih parametrov (povzeto po <sup>b</sup>Morgan, 1998; <sup>c</sup>Jurkovič, 1983)

Table 47: Approximate reference values physiological parameters for an adult horse (adapted from Skušek, 1995) and recommended values of external parameters (adapted from <sup>b</sup>Morgan, 1998; <sup>c</sup>Jurkovič, 1983)

| Parameter (kratica) | Vrednost                                                                          | enota           |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| TT                  | konji do 5 let: 37,5–38,5 <sup>a</sup><br>konji nad 5 let: 37,5–38,0 <sup>a</sup> | °C              |
| FS                  | 20–40 <sup>a</sup>                                                                | št. utripov/min |
| FD                  | 10–14 <sup>a</sup>                                                                | št. vdihov/min  |
| TZ                  | 5–25 <sup>b</sup>                                                                 | °C              |
| RV                  | 60–80 <sup>c</sup>                                                                | %               |

Legenda: TT – telesna temperatura; FS – frekvenca srčnega utripa; FD – frekvenca dihanja; TZ – temperatura zraka; RV – relativna vlažnost; <sup>a,b,c</sup> – vrednosti različnih avtorjev

Legend: TT – fever; FS – heart rate; FD – respiratory rate; TZ – air temperature; RH – relative humidity; <sup>a,b,c</sup> – the values of the various authors

Tabela 48: Orientacijske referenčne vrednosti antioksidantnih parametrov in lipidnega označevalca za odraslega konja (povzeto po <sup>a</sup>Bohar Topolovec in sod., 2013; <sup>b</sup>De Moffarts in sod., 2005; <sup>c</sup>Górecka in sod., 1999; <sup>d</sup>Górecka in sod., 2002; <sup>e</sup>Ceylan in sod., 2009; <sup>f</sup>Robinson in Sprayberry, 2009; <sup>g</sup>Sinatra in sod., 2013; <sup>h</sup>Jagrič Munih, 2012)

Table 48: Approximate reference values antioxidant parameters and lipid marker for an adult horse (adapted from <sup>a</sup>Bohar Topolovec et al., 2013; <sup>b</sup>De Moffarts et al., 2005; <sup>c</sup>Górecka et al., 1999; <sup>d</sup>Górecka et al., 2002; <sup>e</sup>Ceylan et al., 2009; <sup>f</sup>Robinson in Sprayberry, 2009; <sup>g</sup>Sinatra et al., 2013; <sup>h</sup>Jagrič Munih, 2012)

| Parameter (kratica) | Vrednost                                                                             | Enota   |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| TAC                 | 1,02–1,31 <sup>a</sup><br>1,18–1,46 <sup>d</sup>                                     | mmol/L  |
| GSH-Px              | 30,88–107,66 <sup>d</sup>                                                            | IE/g Hb |
| SOD                 | 1203–1365 <sup>b</sup><br>1164,7–1658,5 <sup>c</sup><br>1028,83–1624,33 <sup>d</sup> | IE/g Hb |
| MDA                 | 1,81–1,90 <sup>c</sup><br>0,66–0,90 <sup>e</sup><br>cca. 4,00 <sup>h</sup>           | μmol/L  |
| CoQ <sub>10</sub>   | 0,38–2,09 <sup>a</sup><br>0,138–0,273 <sup>g</sup><br>0,44–0,98 <sup>h</sup>         | mg/L    |
| Vit. E              | 4,49–5,15 <sup>e</sup><br>3–20 <sup>f</sup>                                          | μmol/L  |

Legenda: TAC – celokupna antioksidativna kapaciteta; GSH-Px – glutation peroksidaza; SOD – superoksid dismutaza; MDA – malondialdehid; CoQ<sub>10</sub> – koencim Q<sub>10</sub>; Vit. E – vitamin E; <sup>a,b,c,d,e,f,g,h</sup> – vrednosti različnih avtorjev.

Legend: TAC – Total antioxidant capacity; GSH-Px – glutathione peroxidase; SOD – superoxide dismutase; MDA – malondialdehyde; CoQ<sub>10</sub> – Coenzyme Q<sub>10</sub>; Vit. E – Vitamin E; <sup>a,b,c,d,e,f,g,h</sup> – the values of the various authors.

Tabela 49: Orientacijske referenčne vrednosti hematoloških in biokemijskih parametrov za odraslega konja (povzeto po <sup>a</sup>Taylor in sod., 2010; <sup>b</sup>Kaneko in sod., 2008; <sup>c</sup>Advia 120 (Siemens, Nemčija); <sup>d</sup>Southwood, 2013; <sup>e</sup>Górecka in sod., 2002; <sup>f</sup>Robinson in Sprayberry, 2009; <sup>g</sup>Hasso in sod., 2012; <sup>h</sup>Eades in Bounous, 1997)

Table 49: Approximate reference values haematological and biochemical parameters for adult horses (adapted from <sup>a</sup>Taylor et al., 2010; <sup>b</sup>Kaneko et al., 2008; <sup>c</sup>Advia 120 (Siemens, Germany); <sup>d</sup>Southwood, 2013; <sup>e</sup>Górecka in sod., 2002; <sup>f</sup>Robinson in Sprayberry, 2009; <sup>g</sup>Hasso et al., 2012; <sup>h</sup>Eades and Bounous, 1997)

| Parameter (kratica) | vrednost                                                                   | enota                 |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Erci                | 7,2–12,0 <sup>c</sup>                                                      | x 10 <sup>12</sup> /L |
| Lkci                | 4,3–14,8 <sup>c</sup>                                                      | x 10 <sup>9</sup> /L  |
| Trci                | 69,9–250,8 <sup>c</sup>                                                    | x 10 <sup>9</sup> /L  |
| Hb                  | 116–189 <sup>c</sup>                                                       | g/L                   |
| Ht                  | 0,31–0,51 <sup>c</sup>                                                     | L/L                   |
| Nevtr/Limf          | 1,29–1,39 <sup>c</sup>                                                     | /                     |
| ALB                 | 29–41 <sup>a</sup>                                                         | g/L                   |
| ALT                 | 0,05–0,38 <sup>b</sup>                                                     | μkat/L                |
| AST                 | 1,70–5,83 <sup>a</sup><br>3,77–6,10 <sup>b</sup><br>2,67–6,87 <sup>h</sup> | μkat/L                |
| ALKP                | 2,45–4,35 <sup>a</sup><br>2,38–6,50 <sup>b</sup>                           | μkat/L                |
| Ca                  | 2,9–3,3 <sup>a</sup><br>2,55–3,35 <sup>h</sup>                             | mmol/L                |
| CHOL                | 1,94–3,89 <sup>b</sup><br>1,3–2,8 <sup>d</sup><br>2,07–4,22 <sup>g</sup>   | mmol/L<br>mmol/L      |
| Cl                  | 95–103 <sup>a</sup>                                                        | mmol/L                |
| CK                  | 1,83–4,17 <sup>a</sup><br>1,00–5,50 <sup>h</sup>                           | μkat/L                |
| CREA                | 85–165 <sup>a</sup>                                                        | μmol/L                |
| Fe                  | 13,1–25,1 <sup>a</sup>                                                     | μmol/L                |
| GLU                 | 4,3–5,5 <sup>a</sup><br>3,44–7,44 <sup>h</sup>                             | mmol/L                |
| GGT                 | 0,07–0,22 <sup>b</sup><br>0,02–0,67 <sup>a</sup>                           | μkat/L                |
| HDL                 | 0–3,63 <sup>f</sup><br>0,93–2,25 <sup>g</sup>                              | mmol/L                |
| K                   | 3,0–5,0 <sup>a</sup>                                                       | mmol/L                |
| LAC                 | <1,0 <sup>d</sup>                                                          | mmol/L                |
| LDH                 | 3,75–11,67 <sup>a</sup>                                                    | μkat/L                |
| LDL                 | 0,10–2,12 <sup>g</sup>                                                     | mmol/L                |
| Na                  | 134–142 <sup>a</sup>                                                       | mmol/L                |
| Mg                  | 0,6–1,0 <sup>a</sup>                                                       | mmol/L                |
| P                   | 0,9–1,9 <sup>a</sup><br>0,53–1,66 <sup>h</sup>                             | mmol/L                |
| T-Bil               | 13–34 <sup>a</sup>                                                         | μmol/L                |
| TP                  | 53–73 <sup>a</sup>                                                         | g/L                   |
| TRIG                | 0,2–1,2 <sup>a</sup><br>0,60–1,47 <sup>g</sup>                             | mmol/L                |
| UA                  | 33,35–63,65 <sup>e</sup><br>10,70–57,10 <sup>i</sup>                       | μmol/l                |
| UREA                | 2,5–10,0 <sup>a</sup>                                                      | mmol/L                |

Legenda: Erci – eritrociti; Lkci – levkociti; Trci – trombociti; Hb – hemoglobin; Ht – hematokrit; Nevtr/Limf – razmerje nevtrofilci/limfociti; ALB – albumin; ALT – alanin-aminotransferaza; AST – aspartat-aminotransferaza; ALKP – alkalna fosfataza; Ca – kalcij; CHOL – celokupni holesterol; Cl – kloridi; CK – kreatin-kinaza; CREA – kreatinin; Fe – železo; GLU – glukoza; GGT – gama-glutamilttransferaza; HDL – lipoproteini visoke gostote; K – kalij; LAC – laktat; LDL – lipoproteini nizke gostote; Na – natrij; Mg – magnezij; P – anorganski

fosfati; T-Bil – celokupni bilirubin; TP – celokupni proteini; Trig – trigliceridi; UA – sečna kislina; UREA – sečnina; <sup>a,b,c,d,e,f,g</sup> – vrednosti različnih avtorjev.

*Legend: ERCI – erythrocytes; Lkci – leukocytes; Trci – platelets; Hb – hemoglobin; Ht – hematocrit; Neut/Lymph – the ratio of neutrophils/lymphocytes; ALB – albumin; ALT – alanine-aminotransferase; AST – aspartate-aminotransferase; ALKP – alkaline phosphatase; Ca – calcium; CHOL – total cholesterol; Cl – chlorides; CK – creatine-kinase; CREA – creatinine; Fe – iron; GLU – glucose; GGT – gamma-glutamyltransferase; HDL – high density lipoproteins; K – potassium; LAC – lactate; LDL – low density lipoproteins; Na – sodium; Mg – magnesium; P – inorganic phosphates; T-Bil – total bilirubin; TP – total proteins; Trig – triglycerides; UA – uric acid; UREA – urea; <sup>a, b, c, d, e, f, g</sup> – the values of the various authors.*