

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



Salivární kortizol a variabilita srdeční frekvence jako ukazatele zátěže psa při vyhledávání pohřešovaných osob v terénu

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Martina Novotná

Obor studia: Zájmové chovy zvířat

Vedoucí práce: Ing. Ivona Svobodová, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Salivární kortizol a variabilita srdeční frekvence jako ukazatele zátěže psa při vyhledávání pohřešovaných osob v terénu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12. 4. 2019

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Ivoně Svobodové, Ph.D. za odborné vedení, doc. Ing. Heleně Chaloupkové, Ph.D., doc. Ing. Evě Chmelíkové, Ph.D., Ing. Petře Bolechové, Ph.D. a Ing. Petře Eretové za pomoc a vstřícný přístup při vypracování mé diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a příteli za podporu a trpělivost.

Salivární kortizol a variabilita srdeční frekvence jako ukazatele zátěže psa při vyhledávání pohřešovaných osob v terénu

Souhrn

Pátrací psi jsou důležitou součástí integrovaného záchranného systému při pátrání po pohřešovaných osobách. Při pátracích pracích působí na tyto psi mnoho vnitřních i vnějších vlivů a není zcela jasné, do jaké míry ovlivňují jejich výkon. Proto je důležité najít spolehlivé ukazatele zátěže, která působí na psy při výkonu těchto prací. Kortizol je používán jako ukazatel změn fyziologického stavu, který silně koreluje se stresem, zatímco variabilita srdeční frekvence odráží schopnost srdce přizpůsobit se měnícím se okolnostem a rovnováhu autonomního nervového systému.

Cílem bylo zjistit, zda pátrací práce po pohřešovaných osobách v terénu ovlivní hladinu slinného kortizolu a variabilitu srdeční frekvence psa. Byla vyhodnocena data získána na simulovaných pátracích akcích v letech 2017 – 2018, v rámci projektu „Využití vyspělých technologií a čichových schopností psů pro zvýšení efektivity vyhledávání pohřešovaných osob v terénu“. Data pocházela od 21 psů, cvičených k plošnému vyhledávání osob. Během simulované pátrací akce se psi účastnili tří pátrání v terénu trvajících hodinu a půl až tři hodiny. Pátrání byla oddělena hodinovou přestávkou. Data byla měřena v šesti situacích, vždy před pátráním (p1, p2, p3) a po něm (z1, z2, z3). Hladina kortizolu byla stanovena ze slin psů metodou ELISA a variabilita srdeční frekvence vypočítána z intervalu beat-to-beat, snímaného monitorem srdeční frekvence Polar®.

Výsledky ukázaly, že pátrací práce mají vliv na hladinu kortizolu i variabilitu srdeční frekvence. Hladina kortizolu vzrostla po každém pátrání, zatímco po přestávce buď klesla, nebo zůstala nezměněná. Variabilita srdeční frekvence postupně vzrůstala až do měření před posledním pátráním, po tomto pátrání výrazně klesla. Nebyl nalezen žádný vztah, mezi těmito dvěma parametry. Jedná se o první výsledky tohoto projektu a výzkum problematiky nadále pokračuje. K získání přesnějších výsledků je třeba otestovat více jedinců a pro lepší zhodnocení zátěže zvířat při pátracích pracích přidat další fyziologická a behaviorální data.

Klíčová slova: pes, pátrací práce, kortizol, sliny, variabilita srdeční frekvence, zátěž

Salivary Cortisol and Heart Rate Variability as Indicators of Strain on Dogs During Searches for Missing People in the Field

Summary

Search dogs are an important part of the integrated rescue system during searches for missing persons. During these searches, dogs are affected by many inner and outer impacts, and it is not quite certain how much it affects their performance during the searches. This is the reason why it is necessary to find reliable strain indicators that affect dogs during these searches. Cortisol is used as an indicator of changes in the physiological condition that strongly correlates with stress, while the Heart Rate Variability reflects the heart's capability to adapt to changing conditions and the balance of the autonomic nervous system.

The aim of this thesis has been to discover whether searches for missing people in the field impact the level of salivary Cortisol and the Heart Rate Variability of dogs. Data collected during the simulations of searches in the years 2017-2018, were evaluated during the project "The use of developed technologies and the olfactory abilities of dogs for the increase of effectiveness in searches for missing people in the field." The data were collected from 21 dogs that were trained in searching for people. During the simulated search event the dogs were a part of three searches in the field that lasted within the range of hour and a half to three hours. The searches were divided by an hour lasting breaks. The data were collected in six situations, always before the search (p1, p2, p3) and after (z1, z2, z3). The level of Cortisol was determined from the dog saliva by the ELISA method and the Heart Rate Variability was calculated from the interval beat-to-beat recorded by the Polar® hear frequency monitor.

The results have shown the fact that searches have an impact on the level of Cortisol and the Heart Rate Variability. The level of Cortisol increased after each search, while decreasing or remaining the same after a break. The Heart Rate Variability had been gradually increasing until the final search when it significantly dropped. No relation between these two parameters was found. These are the first results of this project and the research of this specific issue still continues. To obtain more accurate data, it is necessary to test a larger number of dogs, and to better evaluate the strain of the animals during searches it is necessary to add more physiological and behavioral data.

Keywords: dog, searches, Cortisol, saliva, Heart Rate Variability, strain

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíle práce a hypotézy	2
2.1	Cíle práce	2
2.2	Vědecké hypotézy	2
3	Literární řešerše	3
3.1	Vyhledávání pohřešovaných osob pomocí čichových schopností psů	3
3.1.1	Kynologický pátrací tým	4
3.2	Zátěž během pátracích akcí	5
3.2.1	Faktory působící na psa	6
3.2.2	Fyziologie stresu	7
3.3	Fyziologické parametry zátěže	10
3.3.1	Kortizol	10
3.3.2	Srdeční frekvence	14
3.3.3	Variabilita srdeční frekvence	15
3.3.4	Tělesná teplota	18
4	Materiál a metody	21
4.1	Provedení experimentu	21
4.1.1	Průběh akcí	21
4.1.2	Sběr dat	23
4.2	Materiály	25
4.2.1	Testování psi	25
4.2.2	Technické zařízení ostatní materiál	25
4.3	Zpracování	26
4.3.1	ELISA	26
4.3.2	Statistická analýza	27
5	Výsledky	29
6	Diskuze	36
7	Závěr	39
8	Seznam literatury	40
9	Seznam použitých zkratk	46
10	Samostatné přílohy	47

1 Úvod

Při pátrání po pohřešovaných osobách v terénu jsou často využíváni speciálně vycvičení psi. Tito psi dokážou, díky svým olfaktorickým schopnostem, vyhledat osoby i ve značně ztížených podmínkách, jakými jsou nepřehledný terén, snížená viditelnost nebo nepříznivé klimatické podmínky. Přestože je pro nás využívání pátracích psů nepopíratelně výhodné, existuje v tomto směru několik nejasností. Jednou z nich je velká variabilita ve výkonech psů.

Práce v terénu může trvat i několik hodin a na zvíře působí mnoho vnitřních i vnějších faktorů, není zcela jasné, jak se celkový vjem projevuje na výkonu a welfare psů. V tomto směru je důležité zjistit, do jaké míry je pes při práci ovlivněn a nalézt vhodné a přesné způsoby monitoringu.

Existuje již několik výzkumů, které zjišťují dopad na psy při vyhledávání pohřešovaných osob nebo podobných pracích. Výsledky jsou však velmi rozdílné. Tato práce je zaměřena na změny hladiny slinného kortizolu a variability srdeční frekvence psů při vyhledávání pohřešovaných osob v terénu.

2 Cíle práce a hypotézy

2.1 Cíle práce

Cílem teoretické části práce je pomocí dostupné vědecké literatury popsat problematiku zatížení psů v průběhu pátracích akcí, zaměřit se na fyziologickou odezvu zátěže a popsat jednotlivé parametry, zvláště pak hladinu salivárního kortizolu a variabilitu srdeční frekvence.

Cílem praktické části je zjistit, zda zátěž spojená s vyhledáváním pohřešovaných osob ovlivňuje hladinu kortizolu a variabilitu srdeční frekvence.

2.2 Vědecké hypotézy

Hypotéza 1

Při výkonu pachových prací v terénu vzroste hladina slinného kortizolu a sníží se variabilita srdeční frekvence psa.

3 Literární rešerše

3.1 Vyhledávání pohřešovaných osob pomocí čichových schopností psů

Záchraní a pátrací psi představují neocenitelný zdroj při vyhledávání pohřešovaných osob nebo při lavinových neštěstích (Diverio et al. 2016).

V tomto ohledu jsou schopnosti lidí založeny zejména na vizuálních a někdy akustických podnětech. To nás však velmi omezuje například při práci v noci, v nepřehledném terénu nebo hustém porostu. Podobně je tomu i u vizuální detekce zvířat. Psi se však při práci spoléhají především na své olfaktorické schopnosti, které upřednostňují nejen tehdy, kdy je znemožněna vizuální detekce, ale i při plném světle, a proto mohou snáze nalézt cíle, které jsou vizuálně méně rozpoznatelné (Gazit & Terkel 2003). Další z výhod použití pátracích psů je jejich účinnost při pokrytí terénu a jejich schopnost detekovat cíl na velkou vzdálenost (Cablk et al. 2008). Greatbatch et al. (2015) ve své studii naměřili, že psi projdou při pátrací akci 2,4krát větší plochu než psovod a míru jejich úspěšnosti v 76,4 %.

Úkolem kynologického pátracího týmu (KPT) je systematicky a důsledně propátrat daný úsek a označit místa, na kterých se nachází hledaný subjekt. Označené místo musí být co nejbližší k hledanému subjektu. Psovod musí místo nálezů co nejvíce konkretizovat podle chování psa. Přesné označení místa nálezů je hlavním úkolem psovoda a zásadní skutečností, která při zásahu přímo ovlivňuje průběh následujících záchranných prací (Sbírka interních aktů řízení generálního ředitele HZS ČR a NMV – částka 47/2003). Všechny typy pátracích psů musí mít jasný způsob značení, tzn. chování, kterým sdělují psovodům, že našli cílový pach. U hledání osob se často používá značení formou vyštěkávání (Ben Alexander et al. 2011).

Vzhledem k tomu, že je stanovena metodika výcviku i sjednoceno přezkoušení KPT, není jasné, proč existují tak velké nesrovnalosti ve výkonech psů (Ben Alexander et al. 2011).

Olfaktorický výkon psa mohou ovlivnit vnější podmínky, jako je terén, počasí, pachové znečištění a v neposlední řadě také schopnosti psovoda. Například environmentální faktory mají velký dopad při detekci pachů. Je možné předpokládat, že směr a rychlost větru, vlhkost a teplota mají vliv na to, jak se pach pohybuje (Cablk et al. 2008). Vzhledem k povaze této práce musí být psi schopni zachytit a následovat pach i při různých atmosférických podmínkách. To potvrzuje studie Greatbatcha et al. (2015), ve které uvádějí, že faktory prostředí, jako je vlhkost, rychlost větru a teplota, nemají významný vliv na výkon psů. To naznačuje, že si psi čich dokáže

poradit i s těmito podmínkami a dokazuje, že vyhledávací psi jsou velmi cenným přínosem, ale nemělo by se očekávat, že budou po celou dobu vykonávat stoprocentní práci.

3.1.1 Kynologický pátrací tým

KPT se skládá z psovoda a psa. Aby se tento tým mohl účastnit pátracích akcí jako součást Integrovaného záchranného systému (IZS), musí získat Atest Ministerstva vnitra, jehož podmínky jsou předem stanoveny a výkon KPT hodnotí speciálně určená zkušební komise. (Sbírka interních aktů řízení generálního ředitele HZS ČR a NMV – částka 47/2003). Kromě Atestů Ministerstva vnitra existují další zkoušky v oblasti záchranné kynologie, které může psovod se svým psem plnit a otestovat tak úroveň svých schopností. Úspěšně splněná zkouška je dokladem správného výcviku záchranného psa v daném směru a je základem pro další výcvik v organizacích k tomu určených. Jedná se buď o zkoušky podle mezinárodního, nebo národního zkušebního řádu (SZBK ČR 2016; FCI & IRO 2019).

Dle Sbírky interních aktů řízení generálního ředitele hasičského záchranného sboru České republiky a náměstka ministra vnitra (2003) jsou stanoveny Kvalifikační požadavky na KPT. V případě psovoda se jedná o a) minimální věkovou hranici osmnácti let, b) odbornou a fyzickou způsobilost, která se prokazuje absolvováním praktických a teoretických zkoušek, c) zdravotní způsobilost na základě zdravotní prohlídky u praktického lékaře.

Kvalifikační požadavky na psa zahrnují a) minimální věk dvanácti měsíců, b) vhodnou konstituci a správný typ vyšší nervové činnosti odpovídající požadavkům pro nasazení při zásahu, c) odbornou přípravu a požadovaný stupeň výcviku, d) fyzickou způsobilost s požadovanou vytrvalostí, e) veterinární požadavky, jako je tetované číslo nebo implantovaný čip, absolvované očkování proti vzteklině, psince, parvoviroze, hepatitidě, laryngitidě, leptospirózám, minimálně 3 týdny před atestační zkouškou a pravidelně každý rok zdravotní posudek veterinárního lékaře a odčervení.00000

Splnění základních kvalifikačních požadavků je posuzováno zkušební komisí.

Tento dokument dále udává dvě specializace, a těmi jsou specializace S (sutiny) a specializace P (plošné). Specializace S umožňuje držiteli kynologického atestu nasazení při sutinovém vyhledávání ve zřícených budovách a k provádění záchranných prací v rámci IZS. Specializace P umožňuje nasazení k plošnému vyhledávání při pátrání po pohřešovaných osobách v rámci IZS. Kromě těchto dvou odborností se psi využívají k dalším pátracím pracím. Mezinárodní a národní zkušební řády zahrnují také pachové/záchranné práce na stopě,

pachové/záchrané práce v lavině, pachové práce – mantrailing, vodní práce a záchrané práce na ledě. Mohou se prověřovat schopnosti psů pro hledání živých nebo mrtvých osob (SZBK ČR 2016; FCI & IRO 2019).

Obsah atestačních zkoušek se skládá ze tří dílčích disciplín, tj. ovladatelnost psa, speciální cviky a posuzování fyzické způsobilosti psovoda a psa.

Ovladatelnost psa je souhrn několika základních cviků, které musí pes zvládat u atestačních zkoušek: a) přivolání psa k psovodovi, b) ovladatelnost psa u nohy psovoda, c) odložení psa na místě, d) vysílání psa vpřed do určených směrů, e) překonávání překážek (skokem, šplhem, do výšky a do dálky, překonávání lávček, žebříků apod.)

Speciální cviky jsou zaměřeny na dva nejdůležitější úkoly při atestačních zkouškách: a) vyhledání a označení hledaného subjektu, b) prověření prostoru či terénu, zda se zde nenachází hledaný subjekt.

Posuzování fyzické způsobilosti psovoda a psa se provádí prověrkou v průběhu atestační zkoušky formou: a) přesunu na místo provádění speciálních cviků spojeného s překonáváním praktických překážek, b) prověření reakcí psa, kdy psovod se psem absoluuje vyhledání určeného subjektu mimo část posuzování speciálních cviků.

Chování a připravenost psa je posuzována po celou dobu konání atestačních zkoušek. Pokud pes projeví chování, které by mohlo nasvědčovat tomu, že se jedná o psa se špatným typem vyšší nervové činnosti, špatnou ovladatelností a připraveností, může být z atestační zkoušky vyloučen (Sbírka interních aktů řízení generálního ředitele HZS ČR a NMV – částka 47/2003).

3.2 Zátěž během pátracích akcí

Psi jsou často vystaveni nejrůznějším podnětům, inter- a intra-specifickým interakcím, environmentálním změnám a nárokům při vykonávání různých aktivit.

V těchto případech může pes zažít stres spojený s cvičením, společenskými interakcemi, faktory prostředí, hlasitými zvuky, vystavením novinkám nebo vysokým očekáváním psovoda (Colussi et al. 2018).

3.2.1 Faktory působící na psa

Výkon vycvičeného a atestovaného psa může být ovlivněn mnoha faktory. Může se jednat o věci zcela zřejmé, jako je zdravotní stav a tělesná kondice (Diverio et al. 2016), ale také o environmentální faktory (Greatbatch et al. 2015) nebo akutní stres (Diverio et al. 2016; Colussi et al. 2018).

Stresové reakce při pátracích akcích, mohou vzniknout například v důsledku přepravy (Diverio et al. 2016), fyzické i psychické zátěže (Colussi et al. 2018; Santos et al. 2018), spolupráce s psovodem a jeho aktuálního stavu (Cablík et al. 2008).

Fyzická aktivita vyvolává řadu fyziologických a laboratorních změn v závislosti na intenzitě a době prováděné aktivity a na fitness a kondici psa (Colussi et al. 2018; Rovira et al. 2008).

Diverio et al. (2016) ve své práci uvádí, že záchranná akce u lavinových psů významně zvyšuje rektální tělesnou teplotu, neesterifikované mastné kyseliny a kortizol ($P < 0,001$), kreatin kinázu a srdeční frekvenci ($P < 0,01$), aspartátaminotransferázy a laktátdehydrogenázy ($P < 0,05$). To naznačuje aktivaci reakce na stres, pravděpodobně vyvolaný faktory, jako je transport, příjezd na cílové místo, vyhledávání osob a námaha spojená s touto činností. Změny však byly střednědobé, časově omezené a jejich pokles odpovídal normálním fyziologickým reakcím s výjimkou sérového kortizolu, který vykazoval mírně pomalejší pokles. To znamená, že pátrací a záchranné práce vyvolaly pouze krátkodobou stresovou reakci. Což naznačuje dobrou fyzickou kondici a připravenost psů na tuto činnost.

Rovira et al. (2008) provedli výzkum s cílem odlišit normální fyziologické reakce organismu psa na vyhledávání a záchrannou činnost od vyčerpání nebo nemoci. Pátrací akce probíhala v otevřeném terénu po dobu dvaceti minut.

Bezprostředně po práci byla u psů zaznamenána zvýšená srdeční frekvence, dechová frekvence a rektální teplota. Z laboratorního vyšetření krve bylo patrné zvýšení počtu bílých krvinek, kreatin kinázy, laktátdehydrogenázy, laktátu a insulinu. Červené krvinky, koncentrace hemoglobinu, buněčný objem, celkový plazmatický protein, glukóza, aspartátaminotransferáza a draslík nebyly ovlivněny. Naopak došlo k poklesu sodíku a chloru v plazmě. Také koncentrace plazmatického kortizolu byla snížena, nejnižší hodnoty byly zaznamenány 10 minut po skončení aktivity. Modifikace dechové frekvence, rektální teploty, bílých krvinek, kreatininu a triacylglycerolů přetrvávala i po třiceti minutách od ukončení aktivity.

Tyto hodnoty nezasahovaly mimo referenční rozsah pro zdravé psy, nebyla zaznamenána ani dehydratace nebo vyčerpání.

Ve studii Schneidera et al. (2009) bylo sledováno dvacet pátracích psů po dobu třídního terénního cvičení. Každý pes prováděl čtyři vyhledávání za den, z nichž každé trvalo 20 minut, vždy s 60 minut dlouhou přestávkou.

Po každém vyhledávání byla zjištěna vyšší tělesná teplota a hladina kortizolu ve slinách psů, přičemž nejvyšších hodnot dosahoval kortizol druhý a třetí den po čtvrtém vyhledávání. Nejviditelnější změny v hematologických parametrech byly pozorovány v aktivitě kreatinkinázy a v množství monocytů. Aktivita kreatinkinázy se významně zvýšila ve všech třech dnech a monocyty vzrostly druhý den po vyhledávání až nad referenční rozsah, na této zvýšené úrovni zůstaly i třetí den. Rozdíly mezi dny byly pozorovány také v aktivitě psů a době, kterou potřebovali k nalezení figuranta. Nejvyšší aktivity a také nejlepších výkonů dosahovali psi druhý den, naopak nejhorší výsledky byli pozorovány v den třetí.

Během žádného dne nedošlo k fyzickému ani psychickému přetížení psů. Tyto výsledky poskytly důkazy o tom, že dobře vyškolení psi jsou vysoce účinní při pátracích pracích i během třídních terénních akcí.

Ahrens et al. (2005) hodnotili dopad aktivity na lavinové psi během čtyř typů tréninků, tj. běh v letním období, běh v zimním období, vyhledávání v letním období a vyhledávání v zimním období. Byla zjišťována hladinu plazmatického histaminu (jako odezvu na chlad) a kortizolu (jako odezvu na stres a cvičení). Cvičení trvala 2x 20 minut s 20 minut dlouhou přestávkou mezi úseky. I přes odlišné podmínky nebyly zjištěny významné rozdíly hladiny histaminu a kortizolu mezi čtyřmi typy tréninku. Hladina histaminu byla vyšší vždy před začátkem tréninku. Hladina kortizolu se pouze nepatrně zvýšila po zátěži v letním období. Zatímco došlo k výraznému snížení po tréninku v zimním období. Tento jev však mohl být způsoben vysokými hodnotami kortizolu před začátkem tréninku. Ty lze vysvětlit zimní výbavou a přepravou na lanovkách.

3.2.2 Fyziologie stresu

Stres je stav, kdy dochází k narušení homeostázy v důsledku vnějších nebo vnitřních nepříznivých sil – stresorů. V reakci na stresory mobilizuje organismus složité spektrum fyziologických a behaviorálních odpovědí, které mají za cíl tuto rovnováhu znovu obnovit (Reeder & Kramer 2005; Kyrou & Tsigos 2009). Příkladem stresorů vnitřních mohou být

anoxie a hypoglykemie, naopak stresory vnější se týkají teploty, cvičení nebo zranění. Dále mohou jedince ovlivňovat stresory psychické, ty zahrnují podněty, které ovlivňují emoce, vyvolávají strach, zlost, úzkost nebo frustraci. (Reeder & Kramer 2005).

Dvěma nejdůležitějšími fyziologickými reakcemi jsou osa hypotalamus-hypofýza-kůra nadledvin (HPA) a sympato-adrenální-medulární osa (SAM), díky kterým je organismus schopen adaptace (Kyou & Tsigos 2009).

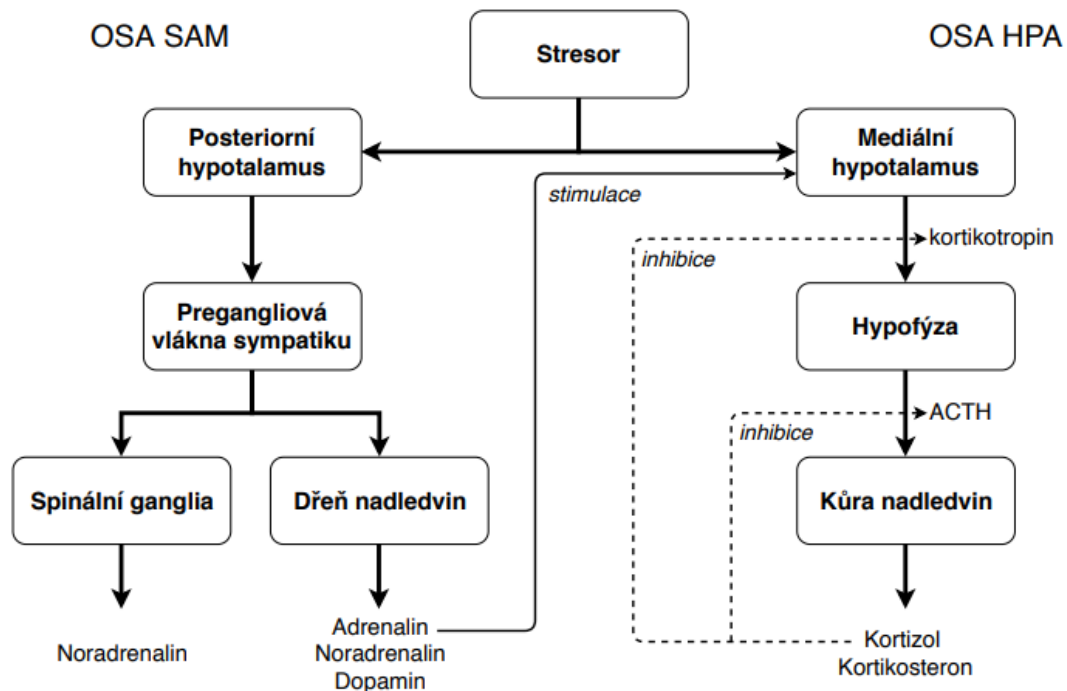
Odezva na stres je zahájena ve chvíli, kdy je stresový faktor vnímán jako takový mozem zvířete (Reeder & Kramer 2005). Obě hlavní osy vycházejí z hypotalamu a jsou modulovány limbickými vstupy.

Odpověď SAM na stresor je téměř okamžitá, pochází z posteriorního hypotalamu, kde je aktivován sympatický nervový systém, který následně působí na dřeň nadledvin. To vede k uvolňování noradrenalinu ze spinálních ganglií a katecholaminů (adrenalin, noradrenalin, dopamin) z dřene nadledvin (Reeder & Kramer 2005; Foley & Kirschbaum 2010). Vyplavení adrenalinu a noradrenalinu vede k zvýšení srdečního výdeje, krevního tlaku a srážlivosti krve. Dochází k vazodilataci v mozku a svalovině a vazokonstrikci v kůži, gastrointestinálním traktu, játrech, slezině a pankreatu. Stimulují glykogenolýzu v játrech a kosterních svalech a tím poskytují energii buňkám centrální nervové soustavy, svalů a srdce. Také zvyšují resorpci glukózy ve střevech, inhibují sekreci inzulínu a stimulují lipolýzu. Zvyšuje se bdělost a zlepšují kognitivní funkce. Všechny tyto změny připravují organismus na zátěžovou situaci a pomáhají tak překonat působení stresoru (Skarlandtová et al. 2010). Každý orgán, který je inervován sympatickým nervovým systémem, je inervován také parasympatickým nervovým systémem. Aktivace parasympatického nervového systému slouží k regulaci SAM (a naopak) a dosažení dynamické rovnováhy mezi těmito opozičními a doplňkovými systémy (Reeder & Kramer 2005).

Druhá stresová osa HPA má dva různé spouštěcí mechanismy. Buď může přímo navazovat na SAM osu, kdy na hypotalamus působí adrenalin nebo dostává hypotalamus signál z mozkové kůry, kam přichází informace vyvolávající stres přímo ze smyslových drah (Skarlandtová et al. 2010). Mediální hypotalamus poté vyplavuje peptidový hormon uvolňující kortikotropin, který stimuluje hypofýzu k uvolnění adrenokortikotropního hormonu (ACTH) do systémového oběhu. Kůra nadledvin reaguje na signál ACTH uvolněním glukokortikoidů (kortizol a kortikosteron) (Beerda et al. 1997; Foley & Kirschbaum 2010). Reakce HPA osy je pomalejší, glukokortikoidy jsou vyloučeny a vyplaveny do krve během několika minut. Jejich účinek na organismus spočívá ve zvyšování dostupnosti energie díky zvýšené glukoneogenezi,

snížené spotřebě glukózy, snížené citlivosti na inzulín a metabolismu bílkovin a tuků. Působení glukokortikoidů dále způsobuje retenci tekutin a zvýšení krevního tlaku, také mají protizánětlivý účinek. Tyto reakce vedou k obnovení homeostázy (Charmandari et al. 2005; Skarlandtová et al. 2010).

Odezva na stres je naprogramována tak, aby byla nejen dostatečná k obnovení homeostázy, ale aby měla i omezenou dobu trvání. Důležité je, že glukokortikoidy, které řídí bazální aktivitu osy HPA, jsou rozhodující pro správné ukončení každé zátěžové reakce tím, že poskytují negativní zpětnou vazbu na úrovni hypotalamu a hypofýzy stejně jako na vyšších střediscích mozku (Kyrou & Tsigos 2009). Optimální bazální aktivita a reakce stresového systému jsou zásadní pro welfare, úspěšné plnění úkolů a pozitivní sociální interakce (Charmandari et al. 2005).



Obr. č. 1 Odezva organismu na stres (Reeder & Kramer 2005; Kyrou & Tsigos 2009; Foley & Kirschbaum 2010; Skarlandtová et al. 2010)

Změny v aktivitě HPA psů jsou běžně zjištěny měřením kortizolu, zatímco kardiovaskulární výkon je nejčastěji zkoumán pro stanovení aktivity SAM (Beerda et al. 1997).

Dále je stres důležité rozdělit na akutní (krátkodobý) a chronický (přetrvávající).

Akutní stres je způsoben jednorázovými, krátce působícími stresory, organismus se připravuje na tzv. boj a útěk (fight and flight). Je posílena pozornost a mozkové funkce se

zaměřují především na vnímanou hrozbu. Metabolismus je zaměřen na mobilizaci energie, glukokortikoidy zvyšují hladinu glukagonu, čímž dojde ke zvýšení hladiny glukózy v krvi. Ta je hlavním zdrojem energie pro mozek a svaly. Současně se zvyšuje krevní tlak a tepová frekvence, tím selepší průtok krve v potřebných orgánech a energie je tak efektivněji dopravována k cílovým tkáním. Díky lepšímu průtoku krve mozkem se zlepšují kognitivní funkce. Tyto reakce jsou obvykle přechodné a mají za cíl maximalizovat šance jednotlivce na přežití (Kyrou & Tsigos 2009; Skarlandtová et al. 2010).

Při přetrvávání stresoru, kterému se organismus neumí přizpůsobit, je reakce pro jedince škodlivá. Nadměrně nebo chronicky ukládané stresory mohou narušit řadu základních fyziologických funkcí jako je metabolismus, kde dochází k zvýšení hladiny inzulínu, dále je ovlivněn růst, reprodukce a imunokompetence, stejně jako vývoj osobnosti a chování (Charmandari et al. 2005).

Zda je síla nebo událost stresor, je předmětem individuálních změn a může se v průběhu času u jednotlivců lišit. To, co iniciuje stresovou reakci u jednoho zvířete, ji nemusí vyvolat u jiného. Důležité mohou být faktory, jako fáze života, vývojová historie nebo reprodukční stav (Reeder & Kramer 2005). Schopnost reagovat na různé stresory je určena kombinací genetických, vývojových a environmentálních faktorů. Tyto faktory ovlivňují výsledek adaptivních reakcí, a tak diktují, alespoň do určité míry, náchylnost k chronickému stresu (Charmandari et al. 2005).

3.3 Fyziologické parametry zátěže

3.3.1 Kortizol

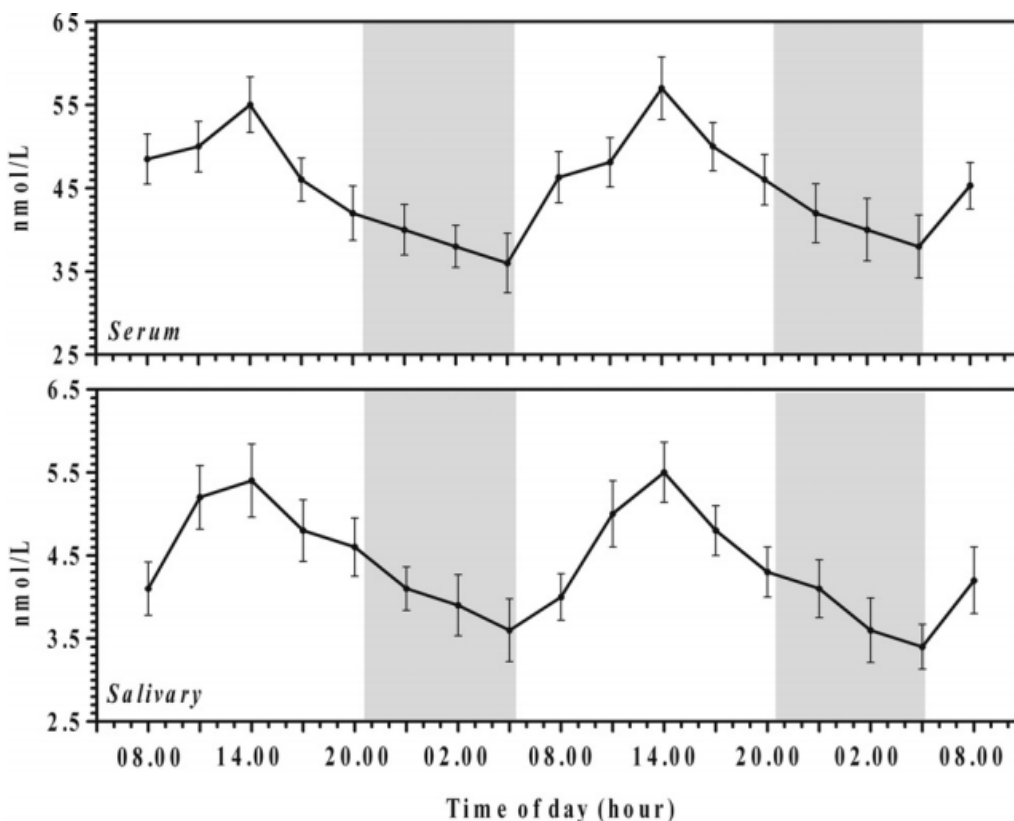
Kortizol je endogenní glukokortikoidní hormon, který se produkuje v kůře nadledvin a dodává chemický signál buňkám působením na glukokortikoidní receptory. (Mesarcova et al. 2017).

Hladina kortizolu je široce používána jako míra aktivity osy HPA a nachází se v plazmě, slinách, výkalech, moči a srsti mnoha druhů (Cobb et al. 2016). Byl indikován jako hlavní ukazatel změny fyziologického stavu, který silně koreluje se stresem (Diverio et al. 2016; Mesarcova et al. 2017). Také je ukazatelem životní pohody, včetně míry dobrých životních podmínek, generalizované stresové odezvy, reakce na akutní podněty a reakce na zásahy v různých zkušebních prostředích. Je používán jako indikátor stárnutí a onemocnění ve výzkumu různých druhů zvířat včetně psů (Cobb et al. 2016). Vysoké hladiny tohoto hormonu mohou

signalizovat značný stres během chladového nebo tepelného stresu po fyzickém výkonu nebo výkonu v soutěži (Diverio et al. 2016).

Kortizol podléhá diurnálním změnám, takže je rytmicky vylučován po celý den. Tento rytmus podléhá délce dne a je ovlivněn mnoha faktory (Castillo et al. 2009).

Giannetto et al. (2014) ve své práci vyhodnotili diurnální rytmy salivárního i plazmatického kortizolu psů. Výzkum ukázal, že hladina kortizolu začíná vzrůstat při východu slunce a dosahuje svého vrcholu uprostřed fotofáze. Oba parametry ukázaly vysokou tendenci k udržování rytmu. Mezi koncentrací slinných a sérových kortizolů byla pozorována pozitivní korelace. Akrofáze a rytmičnost nevykazovaly statisticky významný rozdíl mezi koncentracemi slinných a sérových kortizolů. Můžeme tvrdit, že slinný kortizol sleduje cirkadiánní rytmus sérového kortizolu. Tyto výsledky se ovšem neshodují s dalšími pracemi, například Koyama et al. (2003) pro slinný kortizol nezjistili žádný rytmus. Dále Castillo et al. (2009) uvádí, že kortizol sice vykazuje výrazné změny po celý den, ale tyto variace jsou individuální pro každé zvíře v reakci na specifické vnější stimuly. V této práci odpovídala zvýšená hladina kortizolu tělesné a psychické aktivitě.



Graf č. 1 Kolísání koncentrací sérových a salivárních kortizolů v průběhu 48 hodin, zaznamenaných u šesti zdravých psů (Giannetto et al. 2014).

Cobb et al. (2016) porovnali celkem 5153 vzorků slin pocházejících od 1205 psů, na základě kterých stanovili průměrnou hladinu salivárního kortizolu psa 0,45 µg/dL se standardní chybou 0,13. Rozpětí hladiny těchto vzorků bylo od 0 až do 33,79 µg/dL. To naznačuje, že koncentrace slinného kortizolu není spolehlivým indikátorem stresu psů, pokud se používá izolovaně.

Salivární kortizol, který je výsledkem pasivní difúze slinné žlázy, poskytuje informace o koncentraci volného kortizolu, která u psů činí přibližně 10% koncentrace sérového kortizolu (Giannetto et al. 2014).

Například u člověka a koně je dokázáno, že fyzická námaha aktivuje osu HPA, což vede ke zvýšení koncentrace plazmatického a slinného kortizolu, které souvisí s výkony (Colussi et al. 2018). Bylo prokázáno významné zvýšení hladiny plasmatického kortizolu například u saňových psů, účastnících se vytrvalostních závodů na dlouhé tratě (Fergestad et al. 2016). Cobb et al. (2016) ovšem uvádějí, že psi, kteří se zúčastnili fyzické aktivity hodinu před odběrem vzorků, nevykazovali žádný rozdíl v koncentraci slinného kortizolu oproti psům, kteří se před odběrem neúčastnili fyzické aktivity. Diverio et al. (2016) měřili hladinu kortizolu u lavinových psů, při pátracích a záchranných pracích. Výsledky ukázaly, že během této činnosti vzrostla hladina kortizolu a po ukončení práce začala opět klesat, ovšem ani po dvou hodinách po ukončení práce se hladina kortizolu nepřiblížila výchozím hodnotám.

Colussi et al. (2018) hodnotili, jak fyzická aktivita, jako je lovecký výcvik, nebo trénink agility, ovlivní hladinu slinného kortizolu. Byla zjištěna reakce kortizolu na cvičení u psů, kteří absolvovali krátkodobý výcvik agility s vysokou intenzitou zátěže nebo dlouhotrvající vytrvalostní lovecké cvičení. Výsledky této studie ukázaly, že koncentrace kortizolu u psů se liší v závislosti na typu aktivity. Kolísání kortizolu závisí na rozsahu cvičení a na úrovni ostražitosti požadované pro výkon. Reakce kortizolu naznačuje, že rozsah aktivace osy HPA se mění mezi krátkými aktivitami s vysokou intenzitou a vytrvalostními cviky.

Protože se jedná o komplexní stresový hormon, jako takový ho není snadné interpretovat. Existuje velké množství intraindividuální a interindividuální variability a také vnější proměnné mohou ovlivnit koncentraci kortizolu. Významný vliv ($P < 0.05$) byl zjištěn pro rozdílná pohlaví, věk, domácí prostředí, čas testování, testovací prostředí, přítomnost majitele při testování a sběrná média. Významný vliv nebyl zjištěn pro rozdílná plemena, konkrétně pro německé ovčáky, labradorské retrievery, zlaté retrievery, křížence německých ovčáků, křížence pitbulů a ostatní křížence, kteří byli měřeni. Nebyly zjištěny ani žádné

významné korelace u tělesné hmotnosti, typu využití psa (jako je společník, detekční nebo služební pes, asistenční nebo terapeutický, sportovní či lovecký a další), barvy srsti a metody stanovení (RIA nebo ELISA) (Cobb et al. 2016).

Sběr vzorků pro stanovení kortizolu lze provádět několika způsoby: odběrem krve pro stanovení plazmatického kortizolu (Diverio et al. 2016), odběrem slin (Kobelt et al. 2003; Dreschel & Granger 2009; Cobb et al. 2016), odběrem moči (Beerda et al. 1999) nebo ze srsti a drápů zvířat (Roth et al. 2016; Mack & Fokidis 2017). Poslední uvedený způsob je vhodný zejména pro stanovení chronického/dlouhodobého kortizolu, který není závislý na aktuálním stavu psa. Oproti tomu kortizol v séru, slinách nebo moči nám udává krátkodobou sekreci a ukazuje na aktuální stav zvířete.

Stanovení salivárního kortizolu

Jelikož je v této práci posuzován aktuální kortizol ve slinách psů, zaměří se následující text na tuto problematiku.

Odběr slin má pro práci se zvířaty několik výhod. Mezi hlavní lze zařadit neinvazivní a poměrně snadné získávání vzorků (Kobelt et al. 2003). Přestože se vyžaduje manipulace se zvířaty, sběr slin je dobře tolerován většinou psů a není technicky náročný, což umožňuje lidem snadný zácvik ve sběru vzorků (Dreschel & Granger, 2009). Naopak výhodou plazmatického kortizolu je jeho rychlý nástup, a to už ve 3 minutách od zahájení manipulace (Kobelt et al. 2003). Hladiny v krvi i slinách se postupně zvyšují a dosahují vrcholových koncentrací 10-30 min po ukončení zátěže (Foley & Kirschbaum 2010).

Pro správný odběr slin je klíčové zvolit vhodný materiál a metodu. Je například možné používat slinné stimulanty nebo umožnit zvířeti přičichnout k potravě před odběrem slin, aby došlo k uvolnění většího množství tekutiny (Cobb et al. 2016). Cobb et al. (2016) dále uvádějí, že použití slinných stimulantů, včetně kyseliny citrónové, aromatizace a načichání potravy v době odběru vzorků nemá vliv na hladinu kortizolu. Dreschel a Granger (2009) upřesňuje, že v případě kyseliny citrónové je nutné dodržet nízkou koncentraci a to 0,001 g/ml. Dále, že není vhodné používat bavlněný materiál s hovězí příchutí (ačkoli je psy dobře přijímán), jelikož dochází k vysoké variabilitě hladiny kortizolu. Naopak hydrocelulóza, nebo nearomatizované bavlněné vlákno se ukázaly jako spolehlivé materiály k odběru vzorků slin.

Načichání potravy je také výhodný postup pro okamžité zvýšení množství slin. Je prokázáno, že vzorky mohou být odebrány až 4 minuty po začátku manipulace bez toho, aby se odrazila v koncentracích kortizolu (Kobelt et al. 2003).

V dalším kroku je nutné sliny extrahovat z absorpčního materiálu, poté je možné zmrazení vzorků na přechodné období než se otestují na koncentraci kortizolu za použití validovaných, radioaktivních nebo enzymových imunoanalýz (Cobb et al. 2016).

Radioimunoanalýza (RIA) byla vyvinuta jako technika pro detekci a měření biologických molekul přítomných ve velmi malých množstvích. Ovšem kvůli obavám z radioaktivity a o celkovou bezpečnost, byly testy RIA modifikovány nahrazením radioizotopu enzymem, čímž byly vytvořeny moderní enzymové imunoanalýzy EIA (enzyme immunoassay) a ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Dnes jsou tyto metody široce používány.

EIA a ELISA mají podobné základní principy, používají základní imunologický koncept vazby antigenu na jeho specifickou protilátku. Tento koncept umožňuje detekci velmi malých množství antigenů, jako jsou proteiny, peptidy, hormony nebo protilátky ve vzorku tekutiny. Využívají enzymem značené antigeny a protilátky k detekci biologických molekul. Antigen v tekuté fázi je imobilizován v jamkách na mikrotitrační destičce. Nechá se navázat na specifickou protilátku, která je následně detekována sekundární protilátkou spojenou s enzymem. Chromogenní substrát pro enzym poskytuje viditelnou změnu barvy nebo fluorescenci, což indikuje přítomnost antigenu. Kvantitativní nebo kvalitativní měření lze vyhodnotit na základě kolorimetrického měření. Fluorogenní substráty mají vyšší citlivost a mohou přesně měřit hladiny koncentrací antigenu ve vzorku (Gan & Patel 2013).

3.3.2 Srdeční frekvence

Srdeční frekvence (HR) odráží kombinaci sympatické a parasympatické stimulace. Stimulace sympatickými nervy zvyšuje HR tím, že zvyšuje míru dráždění v předšínovém uzlu srdce. Zatímco stimulace parasympatických nervů obecně snižuje míru dráždění předšínového uzlu, díky čemuž dochází k snížení HR (Acharya et al. 2006; Lensen et al. 2017).

Změny v srdeční činnosti jsou silně ovlivněny chováním, zejména tím, které souvisí s fyzickou aktivitou. Pokud je organismus v klidu, dominuje parasympatická regulace, zatímco zvyšující se fyzická aktivita je často charakterizována snižujícími se parasympatickými a rostoucími sympatickými vlivy (von Borell et al. 2007).

Vliv má také poloha těla psa. Maros et al. (2008) zaznamenali rozdílnou HR, pokud psi leželi, seděli, stáli nebo chodili. Nejnižší hodnota byla naměřena u ležících psů (46 – 105

tepů/minutu) a nejvyšší, když psi chodili (103 -170 tepů/minutu). Mezi sezením a stáním nebyly zaznamenány výrazné rozdíly.

HR je také používána k hodnocení emočních reakcí psů (Diverio et al. 2016). Lensen et al. (2017) zaznamenali zvýšení HR v reakci na pozitivní i negativní emocionální podněty, což souvisí se vzrušivostí psů nebo také pozorností. Maros et al. (2008) uvádí, že Orientace na nové, ale ne ohrožující podněty snižuje HR na rozdíl od intenzivní hroživé stimulace, která je doprovázena akcelerací HR.

Při výzkumu dopadu práce na lavinové psy, vykazovali někteří jedinci vrchol HR krátce po výstupu z vrtulníku, který je dopravoval na místo. To naznačuje rychlou aktivaci osy SAM jako složky stresové odezvy (Diverio et al., 2016).

HR byla také měřena u psů vykonávající záchranné a pátrací práce. Hodnota byla snímána před zahájením činnosti, po ukončení dvaceti minutového tréninku a pět minut po ukončení tréninku. Zvýšení průměrné HR po ukončení tréninku nebylo nijak výrazné, při dalším měření již byly hodnoty srovnatelná s výchozí hodnotou. To naznačuje dobrou fyzickou kondici psů (Santos et al. 2018). Obecně však platí velká individuální variace (Maros et al. 2008).

3.3.3 Variabilita srdeční frekvence

Variabilita srdeční frekvence (HRV) je variace mezi po sobě jdoucími srdečními údery v průběhu daného období. Předpokládá se, že HRV odráží schopnost srdce přizpůsobit se měnícím se okolnostem tím, že detekuje a rychle reaguje na nepředvídatelné podněty. Poskytuje prostředek k pozorování rovnováhy mezi sympatickým a parasympatickým nervovým systémem (Acharya et al. 2006; Kazmi et al. 2016; Lensen et al. 2017).

Bylo prokázáno, že HRV je velmi užitečný parametr u lidí jak pro výzkum, tak pro klinické studie týkající se kardiovaskulárních onemocnění, diabetické autonomní dysfunkce, hypertenze a psychiatrických a psychologických poruch. HRV však stále častěji využívá ve výzkumu u zvířat k analýze změn souvisejícími s nemocemi, psychickými a environmentálními stresory nebo individuálními charakteristikami, jako je temperament a strategie zvládnání stresu. Má potenciál přispět k porozumění a hodnocení základních neurofyziologických procesů, stresových reakcí a různých sociálních stavů u zvířat (von Borell et al. 2007).

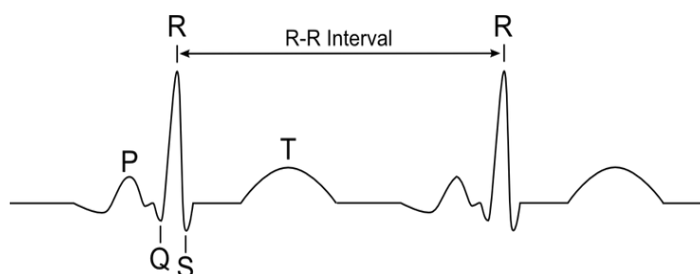
HRV je primárně závislá na vnější regulaci HR. Větší HRV koreluje s nižší HR a naopak. Taková korelace byla pozorována u lidí i zvířat. (Kazmi et al. 2016). Sympatická aktivita je tedy spojena s nízkým frekvenčním rozsahem (0,04-0,15 Hz), zatímco parasympatická aktivita s vyšším frekvenčním rozsahem (0,15 - 0,4 Hz). Tento rozdíl frekvenčních rozsahů umožňuje HRV analýze oddělit sympatické a parasympatické působení (Acharya et al. 2006).

Obecně platí, že nízká HRV naznačuje, že tělo je ve stresu z cvičení, psychických událostí nebo jiných vnitřních nebo vnějších stresorů. Vyšší HRV obvykle znamená, že tělo má silnou schopnost tolerovat stres nebo se silně zotavuje z předchozího akumulovaného stresu (Moore 2016).

Nebyly však zjištěny žádné změny HRV, pokud byla snímána u psů v různých polohách těla (v leže, v sedě, ve stoje) a za chůze. Naopak zvýšená HRV byla zaznamenána, pokud psi leželi, ale soustředili se na pozitivní podmět (oblíbenou hračku) (Maros et al. 2008). Nebyly nalezeny rozdíly mezi pohlavími psů, lze tedy použít stejné referenční hodnoty HRV bez ohledu na pohlaví psa. Dále se nenalezly statisticky významné rozdíly hodnot zjištěných u mladých psů do 2 let, psů ve věku od 2 do 6 let a starších 6 let, i když byla pozorována tendence ke zvýšení některých parametrů HRV s rostoucím věkem (Bogucki & Noszczyk-Nowak 2015).

Stanovení variability srdeční frekvence

Jedná se o neinvazivní techniku užitečnou pro zkoumání autonomní funkce u lidí i zvířat (Norman et al. 2005). U zvířat ji lze zjistit pomocí elektrokardiografie (EKG) nebo monitorů srdeční frekvence (Jonckheer-Sheehy et al. 2012). Doba mezi údery se měří obvykle v milisekundách a nazývá se RR interval nebo beat to beat (BTB) (Moore 2016). RR interval lze získat ze záznamu EKG, zatímco některé monitory srdeční frekvence poskytují BTB (Norman et al. 2005).

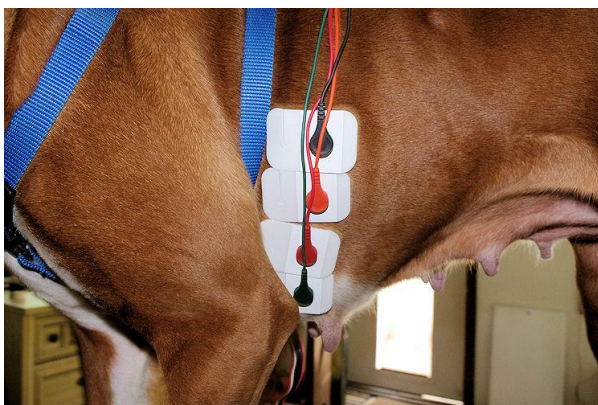


Obr. č. 2 Zobrazení RR intervalu na záznamu EKG (www.hackster.io)

Přenosné přístroje, které jsou v současné době k dispozici pro shromažďování a ukládání dat EKG nebo BTB, obecně spadají do jedné ze dvou skupin; buď drahé, vysoce přesné,

dlouhodobé rekordéry (jako jsou Holter systémy), nebo cenově dostupnější, ale méně přesné monitory srdeční frekvence, určené pro lidské (nebo koňské) sportovní použití.

Monitory Holter mohou ukládat a přesně reprodukovat více než 24 hodin EKG dat. Jak hardware, tak software je však drahý a používá pro analýzu HRV lidská frekvenční pásma, která nejsou vždy vhodná pro jiné druhy. Některé monitory srdeční frekvence mohou ukládat data BTB, ale neukládají data EKG, a proto omezují jakoukoli následnou opravu získaných dat BTB. Tyto systémy jsou však mnohem dostupnější (Norman et al. 2005).



Obr. č. 3 Měření Holterovým EKG (<http://boxers101.blogspot.com>)

Jonckheer-Sheehy et al. (2012) zjišťovali rozdíly při použití EKG a monitoru srdeční frekvence Polar® RS800CX k měření HR a HRV u psů. Výsledky ukázaly, že údaje z Polar® se významně nelišily od dat EKG. Průměrná HR z monitoru srdeční frekvence Polar® byla 123,98 tepů za minutu (rozmezí 101,57 až 138,35 tepů za minutu), a průměrná HR zjištěná z EKG byla 123,33 tepů za minutu (rozmezí 101,57 až 135,08 BPM). Údaje byly získány u psů v klidu ve stacionárních podmínkách.

Autoři dále uvádí, že systém Polar® je vhodnější než EKG, protože je šetrnější ke zvířeti (není třeba vystříhávat srst, kvůli přilepení elektrod), dobře přenosný, a podstatně úspornější.

HRV analýza může být provedena mnoha způsoby. Obecně je lze rozdělit na časové metody, frekvenční metody a nelineární metody (Acharya et al. 2006).

Seznamy časových řad BTB lze analyzovat pomocí různých statistických technik, které kvantifikují celkovou variabilitu v časové oblasti (Norman et al. 2005). V analýze časových metod se rozlišují dva typy indexů HRV: ty které představují rychlé změny v HR (STV) a indexy které znamenají pomalejší výkyvy (méně než 6 min^{-1}) (LTV). Oba typy indexů se počítají z intervalů, které se vyskytují ve zvoleném časovém úseku, obvykle mezi 0,5 a 5

minutami. Pomocí této metody ovšem není možné rozeznat vliv působení sympatiku a parasympatiku na HR (Acharya et al. 2006).

Alternativně lze data analyzovat ve frekvenční oblasti, což je metoda, která je schopna identifikovat fluktuace v sérii na základě jejich frekvence a tak je schopna rozeznat sympatické a parasympatické vlivy. Sympatický a parasympatický nervový systém má tendenci fungovat na různých frekvencích vzhledem k vlastnostem jejich příslušných neurotransmiterů, takže fluktuace v řadě BTB v důsledku těchto dvou systémů se objevují v různých oblastech spektra (Norman et al. 2005).

Nelineární metody jsou schopny účinně popsat procesy vytvořené biologickými systémy. Tato technika byla rozšířena na studium různých srdečních arytmií. Do nelineárních metod patří například rekurentní analýza, přibližná entropie nebo vzorová entropie (Acharya et al. 2006).

3.3.4 Tělesná teplota

V humánní i ve veterinární medicíně zůstává měření tělesné teploty důležitým ukazatelem stavu jedince. Abnormální tělesná teplota může znamenat řadu kritických problémů (Hall & Carter 2017). Zvýšená tělesná teplota, která není spojena se stavem nemoci, může u zvířat odrážet míru emoční reakce na stres (Diverio et al. 2016) nebo může být spojena s fyzickou aktivitou (Carter & Hall 2018).

Hypertermie byla prokázána u psů, v odezvě na cvičení, a je důležitým fyziologickým měřítkem termoregulace, rizika tepelného stresu a faktorem omezujícím výkon při fyzické aktivitě (Zanghi 2016). Při fyzické aktivitě je riziko přehřátí u psů obvykle spojováno s rektální teplotou vyšší než 41 °C. Je důležité brát v potaz, že při zvyšování teploty prostředí je ztráta tepla v důsledku prodění a vyzařování omezena. Vzhledem k tomu, že teplota, vlhkost a rychlost větru ovlivňují teplotu tělesnou, je důležité zvážit tepelný dopad kombinovaného účinku všech tří látek při zkoumání vlivu prostředí na tělesnou teplotu (Carter & Hall 2018).

Ve veterinární oblasti se standartně měří teplota pomocí rektálních teploměrů, které jsou považovány za méně invazivní. Teplotu je také možné měřit v plicní tepně, jícnu nebo v močovém měchýři, tyto metody jsou značně invazivní, ale lze jimi zjistit skutečnou teplotu středu těla. Za méně invazivní metodu měření tělesné teploty je také považováno měření pomocí ušních teploměrů. Ukázalo se, že je tento způsob lépe tolerován u psů ve veterinárním prostředí ve srovnání s rektálními teploměry (Hall & Carter 2017). Ovšem Konietschke et al.

(2014) uvádějí, že teplota ušního bubínku je nepřesná a variabilní v porovnání s rektální teplotou o více jak 0,3 °C, což je klinicky nepřijatelný rozdíl. Hall & Carter (2017) zjistili rozdíl v teplotě ušního bubínku přibližně o 0,4 °C nižší, než je rektální teplota a stanovili referenční interval teploty ušního bubínku na 36,6 - 38,8 °C. Běžná rektální teplota se přitom pohybuje od 37,2 do 39,2 °C (Konietschke et al. 2014).

Také je možné použít naprosto neinvazivní způsob měření teploty a tím je snímání teploty povrchu těla, pomocí termovizních kamer. Termokamery měří povrchovou teplotu těla tak, že detekují infračervené záření vyzařované subjektem a poskytují zobrazení v podobě termovizních snímků (Travain et al. 2015). Například při cvičení je důležité sledovat tělesnou teplotu, jelikož se jedná o způsob, jak posoudit riziko tepelného stresu a intoleranci cvičení. Aby bylo možné změřit rektální teplotu, nebo teplotu ucha, musí být cvičení přerušeno a může být také odmítno zvířetem. Termokamery snímající alternativní místa těla by mohly řešit tyto problémy (Zanghi 2016). Pro snímání teploty psů tímto způsobem se používá především teplota oka (Travain et al. 2015; Travain et al. 2016; Zanghi 2016).

Tento způsob byl rovněž porovnán s měřením pomocí rektálního teploměru a také s použitím ušního teploměru u psů. Vysokou korelaci teploty oka a rektální teploty uvádějí Travain et al. (2015). Zanghi (2016) zjistil, že měření teploty očí je velmi citlivá a přesná metoda, ale také uvádí, že měření teploty ucha je ještě přesnější.

Termokamera byla použita k hodnocení stresové reakce psů. U sledovaných zvířat se zvýšila teplota oka v souvislosti s nepříjemným stimulem (veterinární vyšetření). Tato metoda se ukázala být vhodným nástrojem pro detekci teplotních změn v důsledku psychického stresu u psů (Travain et al. 2015). Teplota očí ale vzrostla také během pozitivní stimulace (podání potravy). Tento způsob tedy může být užitečným nástrojem při hodnocení emocionálních stavů psů, ale nedokáže rozlišit emocionální valenci. Z tohoto důvodu není možné použít teplotu očí jako samostatný ukazatel, ale je nutné zařadit například behaviorální projevy (Travain et al. 2016).

Diverio et al. (2016) se zabývali změnami tělesné teploty při tréninku lavinových psů. Výsledky ukázaly, že došlo k zvýšení teploty během převozu na místo a během pátrací a záchranné práce. Průměrná teplota před odjezdem do terénu byla 38,51 °C ± 0,09, po příjezdu na místo 39,13 °C ± 0,12 a po dokončení pátrací a záchranné práce 39,17 °C ± 0,15. Po dokončení činnosti teplota začala opět klesat až na 38,59 °C ± 0,15 po dvou hodinách. Teplota u žádného psa nebyla vyšší, než je hranice u zdravého jedince.

Podle výsledků Carter a Hall (2018), kteří zjišťovali změny v tělesné teplotě psů při závodech v caniscrossu, se neliší tělesná teplota před výkonem u psů různého pohlaví, barvy srsti a délky srsti. Naopak po ukončení fyzické aktivity byl zjištěn větší nárůst teploty u psů než u fen. Také byla naměřena vyšší teplota u psů s tmavou a světlou barvou srsti než u psů se středně tmavou srstí. Délka srsti neměla vliv na tělesnou teplotu po ukončení aktivity.

Průměrná rychlost psa při závodě také ovlivnila tělesnou teplotu; rychlost pohybu je spojena se zvyšující se teplotou.

4 Materiál a metody

4.1 Provedení experimentu

Data k této práci byla nasbírána v rámci projektu „Využití vyspělých technologií a čichových schopností psů pro zvýšení efektivity vyhledávání pohřešovaných osob v terénu“ během simulovaných pátracích akcí (terénních cvičení). Projekt je financován grantem Ministerstva vnitra ČR pod číslem VI2017202008 (interní číslo: 21370/1493/4909). Terénní cvičení probíhají ve spolupráci s Policií ČR, Horskou službou ČR a kynologickými záchrannými brigádami. Projekt byl zahájen v roce 2017 a bude nadále probíhat do roku 2020. Vedoucím týmu řešitelů je doc. Ing. Helena Chaloupková, Ph.D.

V rámci projektu byla získána následující data:

- Videozáznam spolupráce psa s psovodem během hry.
- Videozáznam z vyhledání a značení nalezených figurantů.
- Snímání pohybové aktivity psa pomocí GPS.
- Snímání srdeční frekvence psa i psovoda.
- Měření rektální teploty psa.
- Snímání obličeje psů termovizní kamerou.
- Hladina salivárního kortizolu psa.

K této práci byla použita data:

- Snímání srdeční frekvence psa.
- Hladina salivárního kortizolu psa.

4.1.1 Průběh akcí

Data pro tuto práci byla získána na čtyřech terénních cvičeních, probíhajících v letech 2017 – 2018.

Každého terénního cvičení se účastnili kynologické pátrací týmy (KPT) z řad policie ČR, vojenských útvarů, Horské služby ČR a kynologických záchranných brigád. Jejich cílem bylo pátrat po pohřešovaných osobách (figurantech) ve vymezeném území. Oblast terénních cvičení byla rozdělena pomocí souřadnic GPS do menších úseků. V každém úseku byli umístěni 0–3 figuranti. KPT byly náhodně přidělené úseky. Psovodi nebyli informováni o počtu

figurantů v daném úseku. Pátrání v jednom úseku trvalo 1,5 – 3 hodiny a bylo ukončeno psovodem, pokud byl přesvědčen o dostatečném prohledání celého úseku.

Prohledávané úseky byly velice variabilní, skládaly se z různě hustého lesa, mýtin, cest, skalisek, rovného i velice kopcovitého terénu. Průměrná velikost úseku byla 20 – 30 ha.

Každý den, kdy probíhaly pátrací práce, byl rozdělen do 3 etap, každá etapa zahrnuje sběr dat, pátrání v terénu a odpočinek. Většina dat byla získávána před odchodem do terénu a po návratu. V případě příliš náročného terénu absolvovali KPT pouze 2 etapy.

1. ETAPA

Sběr dat: 1) měření rektální teploty psa, 2) snímání obličeje psů termovizní kamerou, 3) snímání srdeční frekvence psa i psovoda, 4) odběr slin (stanovení hladiny kortizolu) 5) zkouška značení a pořízení videozáznamu, pro pozdější porovnání se záznamy z terénu), 6) videozáznam spolupráce psa s psovodem během hry, 7) nasazení GPS psovi.

Pátrání v terénu: 1) videozáznam z vyhledání a značení nalezených figurantů, 2) dotazník o provedení vyhledání (vyplněno figurantem).

Sběr dat: 1) Odevzdání GPS, 2) videozáznam spolupráce psa s psovodem během hry, 3) měření rektální teploty psa, 4) snímání obličeje psů termovizní kamerou, 5) snímání srdeční frekvence psa i psovoda, 6) odběr slin (stanovení hladiny kortizolu).

Odpočinek: v délce 1 hodiny.

Sběr dat: 1) měření rektální teploty psa, 2) snímání obličeje psů termovizní kamerou, 3) snímání srdeční frekvence psa i psovoda, 4) odběr slin (stanovení hladiny kortizolu), 5) videozáznam spolupráce psa s psovodem během hry, 6) nasazení GPS psovi.

2. ETAPA

Pátrání v terénu: 1) videozáznam z vyhledání a značení nalezených figurantů, 2) dotazník o provedení vyhledání (vyplněno figurantem).

Sběr dat: 1) Odevzdání GPS, 2) videozáznam spolupráce psa s psovodem během hry, 3) měření rektální teploty psa, 4) snímání obličeje psů termovizní kamerou, 5) snímání srdeční frekvence psa i psovoda, 6) odběr slin (stanovení hladiny kortizolu).

Odpočinek: v délce 1 hodiny.

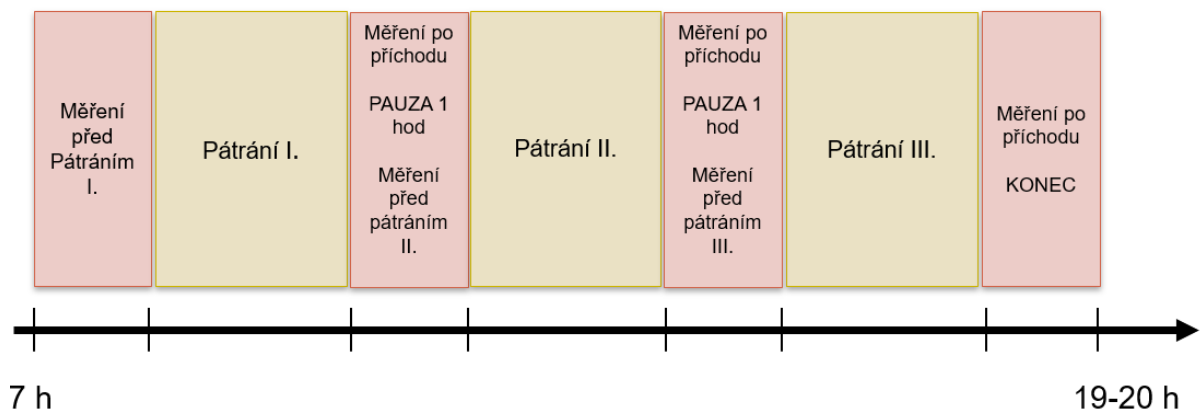
Sběr dat: 1) měření rektální teploty psa, 2) snímání obličeje psů termovizní kamerou, 3) snímání srdeční frekvence psa i psovoda, 4) odběr slin (stanovení hladiny

kortizolu), 5) videozáznam spolupráce psa s psovodem během hry, 6) nasazení GPS psovi

3. ETAPA

Pátrání v terénu: 1) videozáznam z vyhledání a značení nalezených figurantů
2) dotazník o provedení vyhledání (vyplněno figurantem).

Sběr dat: 1) Odevzdání GPS, 2) videozáznam spolupráce psa s psovodem během hry, 3) měření rektální teploty psa, 4) snímání obličeje psů termovizní kamerou, 5) snímání srdeční frekvence psa i psovoda, 6) odběr slin (stanovení hladiny kortizolu).



Obr. č. 4 Časová osa sběru dat

4.1.2 Sběr dat

V této práci je zpracována hladina slinného kortizolu a variabilita srdeční frekvence.

Kortizol

Hladina kortizolu byla zjišťována ze slin psů. Sliny byly odebrány v šesti situacích dle časové osy na obrázku č. 5.

Situace:

- p1 – na začátku první etapy, před odchodem na první pátrání
- z1 – po návratu z prvního pátrání
- p2 – po hodinové přestávce, před odchodem na druhé pátrání
- z2 – po návratu z druhého pátrání
- p3 – po hodinové přestávce, před odchodem na třetí pátrání
- z3 – po návratu z třetího pátrání

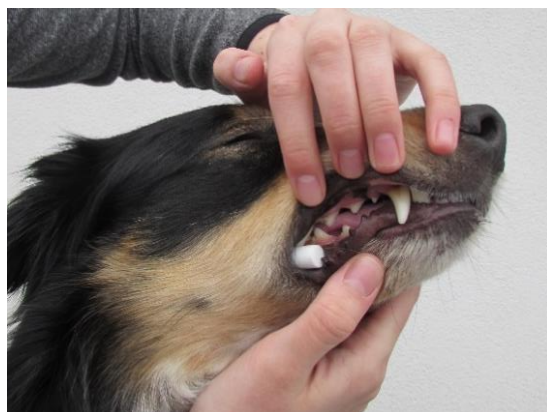
Při hodinové přestávce mezi pátráními byli psi ponecháni v klidu s přístupem k vodě.

Odběr slin proběhl pouze u vybraných jedinců. Vyřazeni byli psi trpící paradontózou, nebo jinými obtížemi způsobující nadměrnou krvácivost dásní (znehodnocení vzorku) a psi, u nichž hrozilo napadení osoby, která prováděla odběr.

Psům byla těsně před odběrem dána načichat potrava, pro vyprovokování slinění. Poté byl odebrán vzorek slin, pomocí speciální odběrové zkumavky Sarstedt Salivette® Cortisol, která obsahuje tampón v další vnitřní zkumavce. Odběrový tampón byl psům vložen do obou lícních vaků, po dobu nezbytně nutnou k nasátí slin. Vzorek byl ihned označen a zamražen na -17 °C.



Obr. č. 5 Odběrová zkumavka Sarstedt Salivette® Cortisol (www.sarstedt.com)



Obr. č. 6 Odběr slin pomocí odběrového tamponu

Variabilita srdeční frekvence

HRV byla zjišťována monitorem srdeční frekvence Polar® a měřena při stejných situacích jako byl prováděn odběr slin (p1, z1, p2, z2, p3, z3).

Vysílač tepové frekvence byl upevněn pomocí hrudního popruhu na ventrální část žeberní oblasti psů, asi 10 cm za hrudní končetinu. Toto místo bylo nejprve natřeno sonografickým gelem pro lepší snímání HR. Snímání probíhalo 15 min a pes byl po tuto dobu klidu.



Obr. č. 7 Snímač srdeční frekvence Polar® RS800CX (<https://www.polar-eshop.cz/>)



Obr. č. 8 Měření monitorem srdeční frekvence Polar®

4.2 Materiály

4.2.1 Testování psi

Hodnoty salivárního kortizolu a HRV byly získány od psů cvičených k plošnému vyhledávání pohřešovaných osob. Bylo vybráno 21 jedinců (16 psů a 5 fen), ve věku 3–10 let. Jedná se o zástupce plemen: německý ovčák (11), belgický ovčák – malinois (2), gordonsetr, chesapeake bay retrívr, hovawart, border kolie, australský ovčák, labradorský retriever, kříženec labradorského retrievera a kříženec louisianského leopardího psa. Dva psi se opakovaně zúčastnili terénních cvičení v jiném termínu (celkem 23 vzorků).

4.2.2 Technické zařízení ostatní materiál

Sliny byly odebírány do speciálních odběrových zkumavek Sarstedt Salivette® Cortisol. Hladina slinného kortizolu byla zjištěna pomocí kitu Salivary Cortisol ELISA SLV-2930 od firmy DRG Instrumentals GmbH a následně stanovena čtečkou mikrotitračních destiček (Absorbance Reader) BioTek™ ELx800™.

K měření HRV byly použity monitory srdeční frekvence Polar® RS800CX a pro zajištění lepšího snímání vysílače Sonogel.

4.3 Zpracování

4.3.1 ELISA

Hladina kortizolu byla stanovena pomocí metody ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), jedná se o biochemický test, který používá protilátky a změnu barvy zprostředkovanou enzymem pro detekci přítomnosti antigenu, v našem případě kortizolu.

Antigen v tekuté fázi (vzorku slin) se přidá do jamek, kde ulpívá na stěnách. Primární protilátka se specificky váže na antigen. Přidá se sekundární protilátka spojená s enzymem, která reaguje s dosavadní směsí, což vede ke změně barvy, která kvantitativně nebo kvalitativně detekuje antigen (Gan & Patel 2013).

Pro tuto práci byla použita ELISA souprava pro kvantitativní diagnostické měření aktivního volného kortizolu ve slinách. Bylo postupováno dle návodu přiloženému k balení:

Postup enzymo - imunologické analýzy

Každé opakování musí obsahovat standardní křivku.

1. Do připravené mikrotitrační destičky (je součástí balení) bylo napipetováno 100 μL od každého vzorku a reaktantu typu Standard a Control tak, aby byl každý vzorek a reaktant napipetován do samostatné jamky. Pro každý vzorek a reaktant byla použita nová jednorázová špička.
2. Poté bylo přidáno 200 μL enzymového konjugátu do každé jamky.
3. Následovala inkubace po dobu 60 minut při pokojové teplotě. Inkubuje se v třepačce při 300 otáčkách za minutu.
4. Po ukončení inkubace byla ihned důkladně vymyta mikrotitrační destička opakovaným mytím pomocí naředěného roztoku Wash Solution (400 μL na každou jamku). Dále se mikrotitrační destička důkladně vyklepala na absorpční papír pro úplné odstranění zbytkových kapek.
Citlivost a důkladnost této analýzy je značně ovlivněna právě správným postupem při čisticí fázi.
5. Následně bylo přidáno 200 μL Substrate Solution do každé jamky.
6. Inkubace proběhla po dobu 30 minut při pokojové teplotě.
7. Zastavení enzymatické reakce bylo provedeno pomocí přidání 100 μL Stop Solution do každé jamky.

8. Ihned po zastavení reakce bylo provedeno měření absorbance každé jamky s přesností 450 ± 10 nm za použití mikrotitrační čtečky (reader).

Doporučuje se, aby jamky byly přečtené během deseti minut po přidání Stop Solution.

4.3.2 Statistická analýza

Pro popisnou statistiku měřených proměnných byl použit průměr, směrodatná odchylka, medián, minimální a maximální hodnoty (viz. tabulka č. 1 a 2).

HRV byla prezentována několika parametry vypočítanými z hodnot BTB, a to: standartní odchylkou RR intervalů (SDNN), druhou odmocninou průměrných čtvercových rozdílů po sobě následujících intervalů RR (RMSSD) a počtem po sobě jdoucích intervalů lišících se alespoň o 50 ms (NN50). Byly analyzovány krátké úseky HRV v délce 1-2 min.

$$SDNN = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{j=1}^N (RR_j - \overline{RR})^2}$$

$$RMSSD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^{N-1} (RR_{i+1} - RR_i)^2}$$

$$NN50 = \sum_{i=1}^N \{|RR_{i+1} - RR_i| > 50 \text{ ms}\}$$

NN50 bylo vypočteno relativně, tedy v %. Základ je počet dvojic intervalů (21).

$$pNN50 = \frac{NN50}{N-1} \times 100$$

Statistická analýza dat byla provedena v programu SAS, verze 9.4. V prvním kroku korelační analýzou bylo zjištěno, jak mezi sebou jednotlivé parametry charakterizující srdeční aktivitu korelují, jednak měřených po zátěži, tak i před zátěží (viz tab. č. 3 a 4). Jelikož bylo zjištěno, že korelační koeficient u parametrů charakterizující srdeční variabilitu je v rozmezí $r=0,83-0,94$ ($P < .0001$), tedy jsou silně prokorelované, tak jako zástupce pro závislou proměnnou charakterizující srdeční variabilitu byl vybrán parametr RMSSD.

V dalším kroku byl stanoven vliv situace na hladinu kortizolu a na RMSSD pomocí smíšeného lineárního modelu (GLMM) procedurou Proc Mixed. Dále se analyzovalo, zdali existuje souvislost mezi hladinou kortizolu a srdeční aktivitou charakterizovanou proměnnými RMDDS a Beat per Minute (BPM). Do analýzy byly použity další fixní efekty: pohlaví psa, plemeno, jako kategoriální proměnná a věk psa jako spojitá proměnná. Rozdíly v rámci signifikantního vlivu kategoriálních fixních faktorů byly stanoveny metodou nejmenších čtverců (LS means). Identifikace místa měření byla v modelu použita jako náhodný faktor.

Stanovení hladiny kortizolu metodou ELISA, bylo provedeno s pomocí Ing. Petry Bolechové, Ph.D. a doc. Ing. Evy Chmelíkové, Ph.D. Statistická analýza byla vypracována s pomocí doc. Ing. Heleny Chaloupkové, Ph.D. Výpočet parametrů HRV z intervalů „beat to beat“ provedl Mgr. Václav Bittner.

5 Výsledky

Ze sebraných dat byly zjištěny parametry SDNN, RMSSD, pNN50, BPM a hladina kortizolu. V následujících dvou tabulkách jsou uvedeny základní statistické údaje pro tyto parametry, pro parametry SDNN a RMSSD v ms, pro pNN50 v %, BPM jako počet tepů za minutu a pro hladinu kortizolu vždy v ng/ml.

	N	Průměr	Směr. odchylka	Medián	Minimum	Maximum
SDNN	69	90,1448	120,211	59,2374	0,58387	971,312
RMSSD	69	98,6472	123,413	70,7787	0,7868	880,939
pNN50	69	32,9855	26,6825	33,3	0	90,5
BPM	69	118,628	24,2877	114,923	60,2575	189,356
kortizol	42	0,71517	0,65355	0,63	0,02	3,291

Tab. č. 1 Základní statistické údaje pro SDNN, RMSSD, pNN50, BPM a hladinu kortizolu před zátěží (p1, p2, p3).

	N	Průměr	Směr. odchylka	Medián	Minimum	Maximum
SDNN	61	76,0684	58,813	69,6398	10,5765	394,428
RMSSD	61	92,8266	92,0206	65,3314	8,21439	548,338
pNN50	61	28,8885	25,334	23,8	0	90,5
BPM	61	116,954	20,5665	114,187	77,844	156,677
kortizol	57	1,11314	1,41021	0,62	0,03	8,2

Tab. č. 2 Základní statistické údaje pro SDNN, RMSSD, pNN50, BPM a hladinu kortizolu po zátěži (z1, z2, z3).

Tabulka 3 a 4 uvádí korelační koeficienty parametrů HRV (SDNN; RMSSD; pNN50) a BPM z dat získaných po zátěži a před zátěží.

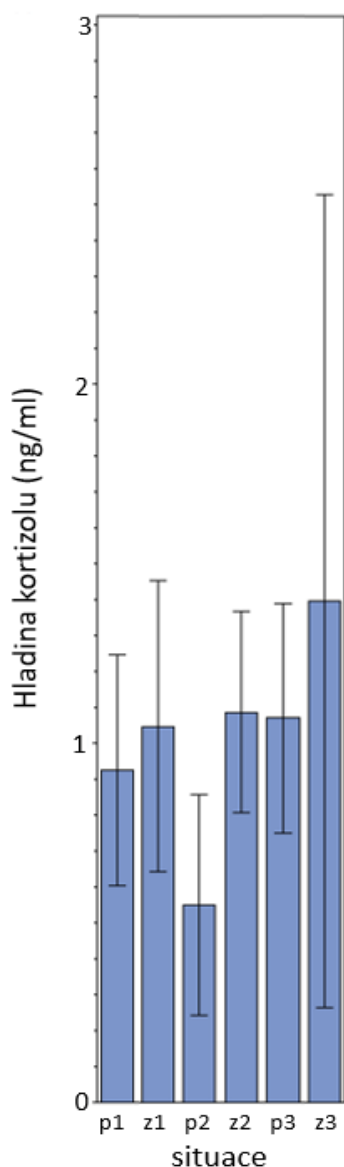
	SDNN	RMSSD	PNN50	BPM	kortizol
SDNN	1	0,94476 <.0001	0,82746 <.0001	-0,30303 0,0114	-0,02805 0,86
RMSSD		1	0,88449 <.0001	-0,292 0,0149	-0,03032 0,8488
PNN50			1	-0,35838 0,0025	-0,06843 0,6668
BPM				1	0,00632 0,9683
kortizol					1

Tab. č. 3 Korelační tabulka hodnot SDNN, RMSSD, pNN50, BPM a hladinu kortizolu před zátěží (p1, p2, p3).

	SDNN	RMSSD	PNN50	BPM	kortizol
SDNN	1	0,94476 <.0001	0,82746 <.0001	-0,30303 0,0114	-0,02805 0,86
RMSSD		1	0,88449 <.0001	-0,292 0,0149	-0,03032 0,8488
PNN50			1	-0,35838 0,0025	-0,06843 0,6668
BPM				1	0,00632 0,9683
kortizol					1

Tab. č. 4 Korelační tabulka hodnot SDNN, RMSSD, pNN50, BPM a hladinu kortizolu po zátěži (z1, z2, z3).

Byl nalezen signifikantní efekt situace na hladinu kortizolu ($F_{5,107} = 3,79$; $P = 0,0033$), viz graf 2. Na hladinu kortizolu v různých situacích má vliv také plemeno psa ($F_{42,88,3} = 4,17$; $P = <.0001$). HRV ani BPM nemá signifikantní souvislost s hladinou kortizolu.



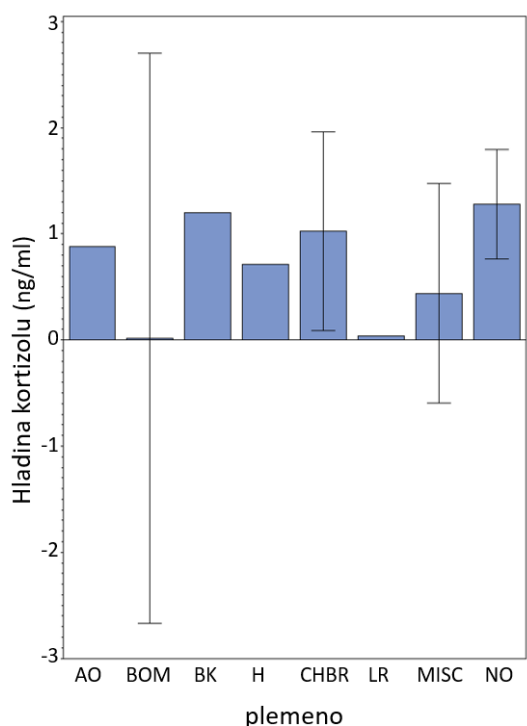
Graf č. 2 Zobrazení hladiny kortizolu v závislosti k situaci.

Graf zobrazuje množství kortizolu v průběhu celého dne, kdy probíhaly pátrací práce. První sloupec (p1) značí hladinu kortizolu před začátkem prvního pátrání, druhý (z1) pak po jeho zakončení. Sloupec p2 ukazuje stav kortizolu hodinu po z1 a před odchodem na druhé pátrání. Z2 je množství kortizolu po návratu z druhého pátrání, další sloupec (p3) opět zobrazuje stav hodinu poté a z3 po posledním pátrání. Zajímavé je, že v situaci z3 tedy po třetím pátrání, bylo zaznamenáno nejen největší množství kortizolu, ale také největší variabilita mezi získanými vzorky (162,33 %).

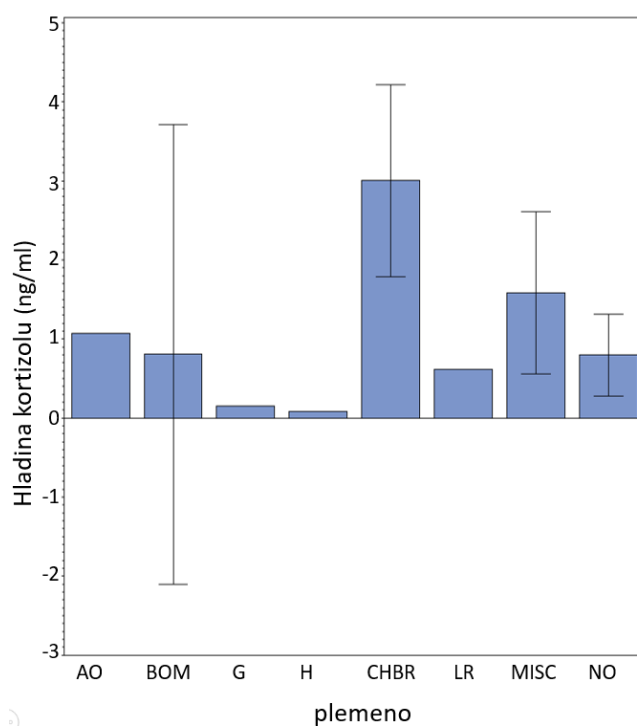
	p1	z1	p2	z2	p3	z3
Průměr	1,01	1,05	0,55	1,01	0,90	1,35
Sm. odchylka	1,17	1,18	0,48	0,63	0,77	2,19
Var. koeficient (%)	115,80	112,68	87,76	62,40	85,80	162,33

Tab. č. 5 Množství kortizolu v závislosti k situaci

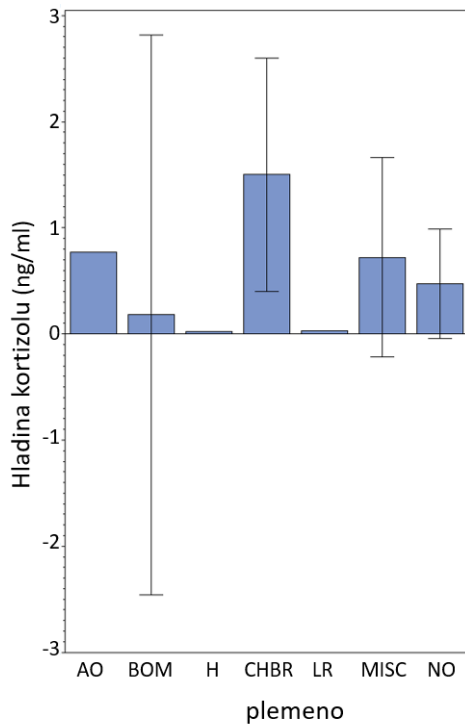
Následující grafy zobrazují vliv plemene na hladinu kortizolu v rozdílných situacích. Sloupce prezentují následující plemena: australský ovčák (AO), belgický ovčák malinois (BO), border kolie (BK), gordonsetr (G), hovawart (H), chesapeake bay retrívr (CHBR), labradorský retriever (LR), křížemci plemen (MISC) a německý ovčák (NO).



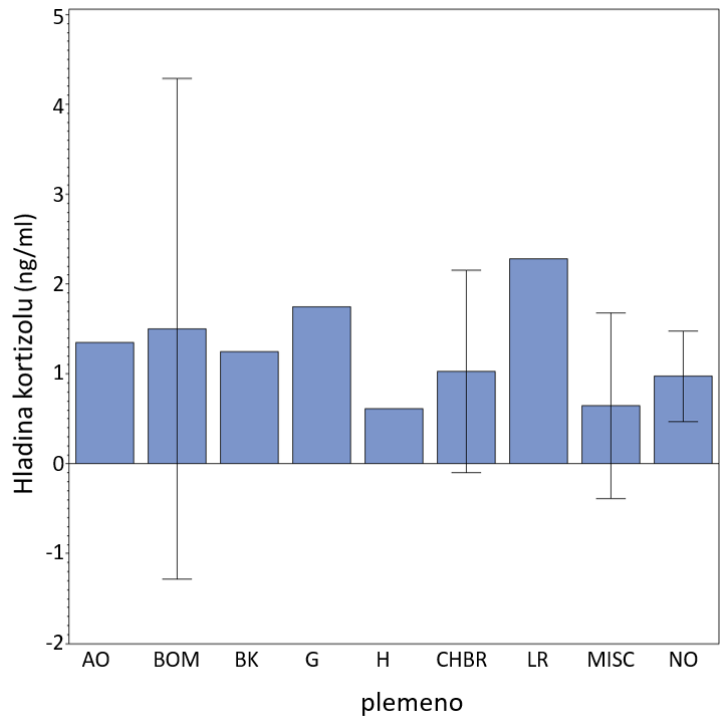
Graf č. 3 Vliv plemene na hladinu kortizolu v situaci p1.



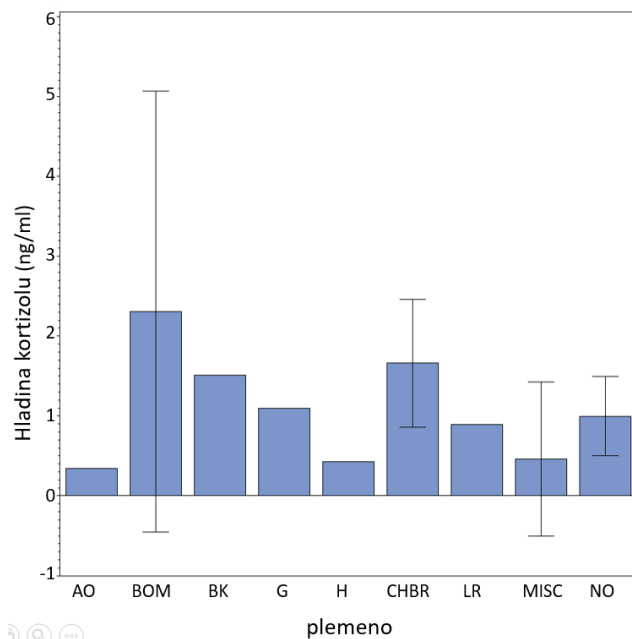
Graf č. 4 Vliv plemene na hladinu kortizolu v situaci z1.



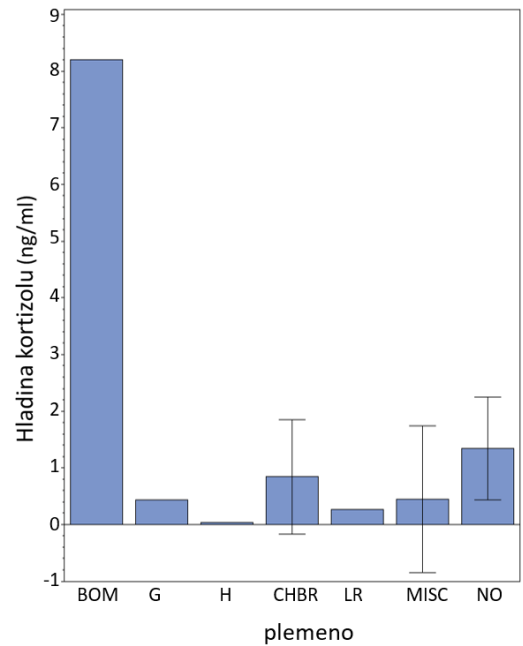
Graf č. 5 Vliv plemene na hladinu kortizolu v situaci p2.



Graf č. 6 Vliv plemene na hladinu kortizolu v situaci z2.

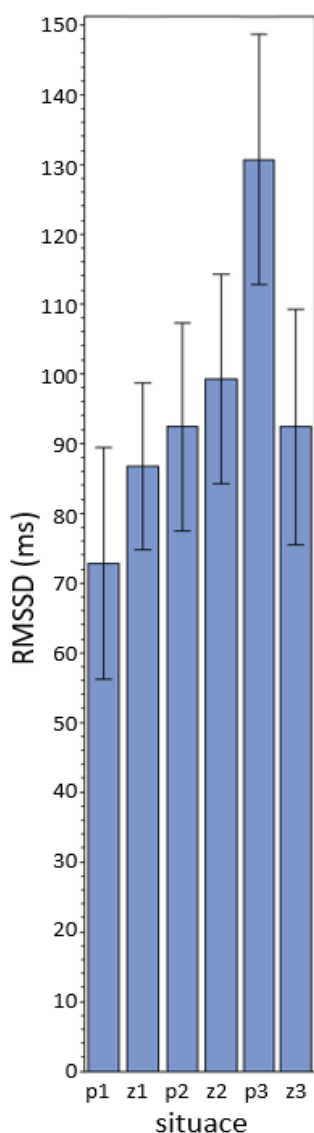


Graf č. 7 Vliv plemene na hladinu kortizolu v situaci p3.



Graf č. 8 Vliv plemene na hladinu kortizolu v situaci z3.

Rovněž byl nalezen signifikantní vliv situace na RMSSD ($F_{5,120} = 2,53$; $P = 0,0325$). Dále byla zjištěna tendence vztahu mezi HRV a BPM ($F_{1,118} = 3,88$; $P = 0,0511$), tento vztah je negativní, tedy čím vyšší je BPM, tím nižší je RMSSD (viz. graf č. 9). Také existuje tendence vztahu BPM na RMSSD v rozdílných situacích ($F_{5,121} = 2,08$; $P = 0,0728$).

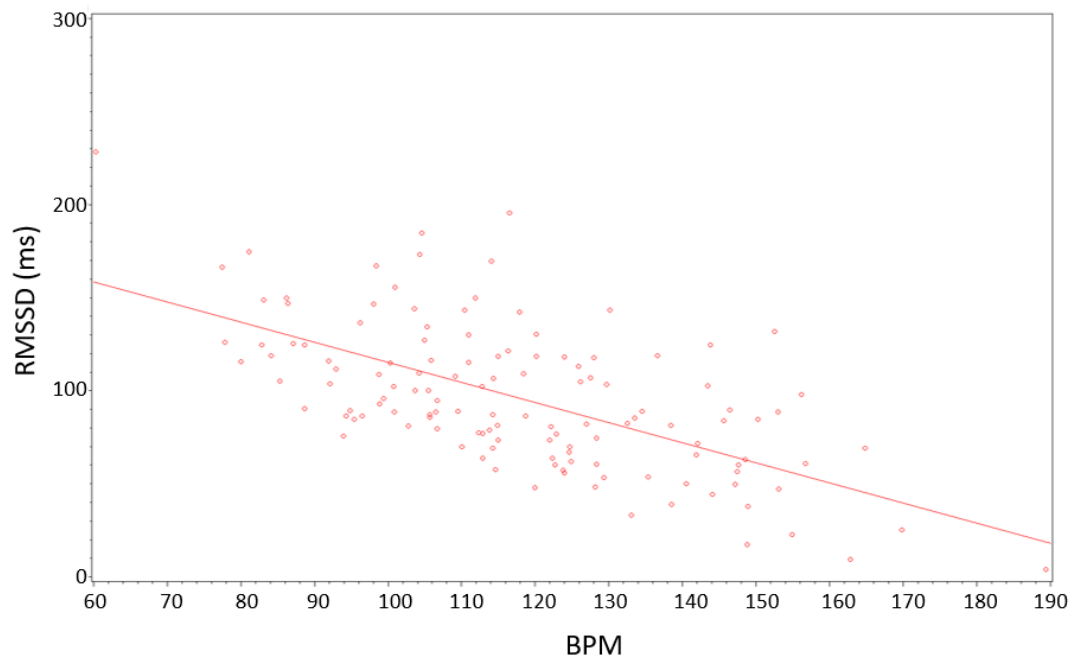


Graf č. 9 Zobrazení RMSSD v závislosti k situaci.

Hodnoty RMSSD v průběhu dní, kdy probíhaly pátrací práce. První sloupec (p1) ukazuje HRV psů před začátkem pátracích prací, druhý sloupec (z1) po skončení prvního pátrání. Sloupec p2 značí RMSSD hodinu po prvním pátrání, z2 po druhém pátrání a obdobně je tomu u sloupců p3 a z3. RMSSD vykazuje vzestupnou tendenci až do situace p3, zde je také vidět největší vzestup. Pokles nastal v situaci z3, tedy po třetím pátrání.

	p1	z1	p2	z2	p3	z3
Průměr	72,82	86,68	92,40	99,24	130,72	92,42
Sm. odchylka	57,65	77,55	70,16	117,16	187,22	59,00
Var. koeficient (%)	79,17	89,47	75,93	118,05	143,22	63,84

Tab č. 6 RMSSD v závislosti na situaci



Graf č. 10 Zobrazení vztahu RMSSD a BPM.

Graf ukazuje negativní tendenci vztahu mezi RMSSD a BPM, to znamená, že čím je BPM vyšší, tím se sníží hodnota RMSSD.

6 Diskuze

Práce je pilotní studií výsledků, které byly doposud získány v rámci projektu „Využití vyspělých technologií a čichových schopností psů pro zvýšení efektivity vyhledávání pohřešovaných osob v terénu“.

Salivární kortizol

Výsledky ukázaly signifikantní vztah mezi hladinou kortizolu a situací, ve které byl vzorek odebrán, tedy zda se jednalo o situaci před zátěží, nebo po ní. Průměrné hodnoty kortizolu jsou vždy vyšší po zátěži než před ní (viz graf č. 2 a tab. č. 6). To ukazuje aktivaci osy HPA.

Po prvním pátrání byl zaznamenán mírný vzestup oproti výchozí hodnotě, dále byl zjištěn pokles kortizolu hodinu po prvním pátrání. To naznačuje, že se organismus byl schopen dobře vyrovnat se zátěží v prvním pátrání. V této fázi klesla hladina kortizolu pod hodnotu získanou před prvním pátráním. Počáteční hodnota může být ovlivněna manipulací se psy, případně s očekáváním aktivity (Angle et al. 2009). Po druhém pátrání hladina opět vzrostla a hodinu poté už byly zaznamenány téměř shodné hodnoty. To by mohlo znamenat, že se organismus už nezvládl tak rychle vyrovnat se zátěží z druhého pátrání. Po třetím pátrání hodnoty opět vzrostly, ale zároveň vykazovaly největší variabilitu.

Ovšem rozdíly mezi situacemi jsou pouze malé a celkově existuje velká variabilita těchto dat. Vzestup kortizolu po zátěži byl prokázán u saňových psů (Angle et al. 2009; Fergestad et al. 2016), při závodech agility (Pastore et al. 2011) a u psů vykonávajících pátrací a záchranné práce (Schneider et al. 2009; Lit et al. 2010; Diverio et al. 2016), naopak pokles sérového kortizolu zaznamenala Rovira et al. (2008) u psů, kteří vykonávali 20 minut dlouhé pátrací práce. Opětovný pokles není u většiny prací uveden, Diverio et al. (2016) zaznamenali pozvolný pokles i po dvou hodinách po ukončení pátrací práce.

Koncentrace kortizolu ve slinách psů se liší v závislosti na typu aktivity. Variace kortizolu závisí na rozsahu cvičení a na úrovni pozornosti požadované pro výkon (Colussi et al. 2018). Studie zabývající se hladinou kortizolu u pátracích a záchranných psů (Rovira et al. 2008; Schneider et al. 2009; Lit et al. 2010; Diverio et al. 2016) se zaměřují na podstatně kratší zátěž. Pátrací práce v těchto studiích trvaly do dvaceti minut. Nebyly nalezeny studie sledující vliv delších pátracích prací.

Hladina kortizolu v této práci se celkově pohybuje v nižších koncentracích, než je běžné v jiných studiích (Pastore et al. 2011; Cobb et al. 2016; Colussi et al. 2018) a vykazuje velkou variabilitu. Cobb et al. (2016) uvádějí průměrnou hladinu slinného kortizolu psa na 4,5 ng/ml v rozpětí od 0 až do 337,9 ng/ml. Nízká koncentrace může být způsobena kitem použitým pro laboratorní stanovení kortizolu (Salivary Cortisol ELISA SLV-2930), který je primárně určen pro určování lidského kortizolu. Jelikož se jedná o první výsledky, nejsou zatím k dispozici klidové hodnoty psů, které by byly stanoveny stejným kitem.

Dále byl zjištěn signifikantní vliv plemene psa na hladinu kortizolu v různých situacích. To by ovšem mohlo být způsobeno malým zastoupením jednotlivých plemen a celkově nízkým počtem testovaných psů. Nejvyšší hladinu kortizolu vykazují zástupci plemene belgického ovčáka – malinois. Pro jasnější informace je třeba otestovat více jedinců konkrétních plemen, která se liší svým temperamentem.

Vliv plemene zaznamenal také Fergestad et al. (2016), který porovnával dvě plemena saňových psů. Naopak Cobb et al. (2016) nezjistili žádné významné rozdíly v koncentraci slinného kortizolu v rámci různých plemen. Kromě toho nebyl zjištěn významný vliv tělesné hmotnosti, typu psa nebo barvy srsti.

Další faktory, které mohly koncentraci kortizolu ovlivnit, tedy pohlaví, věk a efekt prostředí, nebyly vyhodnoceny jako signifikantní.

Variabilita srdeční frekvence

Průměrné hodnoty HRV (tab. č. 1 a 2) jsou obecně vyšší, než bylo zaznamenáno u psů v klidu (Jonckheer-Sheehy et al. 2012), a naopak nižší než uvádějí Bogucki a Noszczyk-Nowak (2015), kteří stanovili referenční hodnoty pro krátkodobé parametry HRV u zdravých psů takto: SDNN 208.86 ± 77.1 ms; RMSSD 259 ± 120.17 ms; pNN50 71.84 ± 13.96 %. BPM však odpovídá hodnotám v obou studiích.

Situace, ve které byla data získána má signifikantní vliv také na HRV. Průměrná hodnota RMSSD od výchozího měření postupně stoupala, svého vrcholu dosáhla hodinu po skončení druhého pátrání, kde zároveň došlo i k největšímu vzestupu. To naznačuje aktivaci parasymptiku a vyrovnávání organismu s předchozí zátěží. Hodnota po třetím pátrání prvně klesla, což značí aktivaci symptiku jako odezvu na pátrání a zátěž s tím spojenou.

HRV jako ukazatel zátěže, byla sledována u lidí (Chen et al. 2015; Michael et al. 2017) a koní (Schmidt et al. 2010; von Lewinski et al. 2013; Loftus et al. 2016). Ukazuje se, že při fyzické aktivitě dochází k snížení parametrů HRV, a naopak k jejich zvýšení dochází po zotavování z cvičení. Přičemž intenzita fyzické aktivity je primárním faktorem ovlivňujícím HRV (Michael et al. 2017). Schmidt et al. (2010) také uvádějí snížení HRV jako indikátor stresové reakce.

U psů je HRV často měřena v souvislosti s onemocněním myokardu (del Rio et al. 2015). Bylo zjištěno, že u psů, kteří prodělali infarkt myokardu, vedlo cvičení na běžecím pásu k progresivnímu zrychlení HR a k současnému snížení HRV.

Zvýšení HR a snížení HRV bylo pozorováno také u psů reagujících na negativní nebo stresové podněty (Gácsi et al. 2013). Naopak u psů, kteří reagovali na pozitivní podnět, došlo k snížení SDNN, ale zároveň se nezměnila HR (Katayama et al. 2016).

Data v této práci vykazují značnou variabilitu, tato skutečnost by se mohla změnit po analýze dalších dat získaných v rámci projektu. Nicméně nebyly nalezeny dostupné studie hodnotící vliv pátrání po pohřešovaných osobách na HRV.

Výsledky také ukázaly tendenci vztahu mezi HR, konkrétně BPM, a HRV zastoupenou parametrem RMSSD (tab. č. 6 a graf č. 9). Jedná se o negativní vztah, čím větší je BPM, tím menší je hodnota RMSSD. Tento vztah ve svých studiích potvrdili například Gácsi et al. (2013), del Rio et al. (2015) a Kazmi et al. (2016). Zjištění pouhé tendence je pravděpodobně způsobeno malým množstvím dat.

Nebyl zjištěn signifikantní vztah hladiny kortizolu s HRV ani HR. Lewinski et al. (2013) měřil kortizol a HRV koní při jezdeckých aktivitách. Zatímco hladina kortizolu při těchto aktivitách vzrostla, u parametrů HRV byl zaznamenán pokles.

Jedná se o první výsledky tohoto projektu a výzkum problematiky nadále pokračuje. K získání přesnějších výsledků je třeba otestovat více jedinců a pro lepší zhodnocení zátěže zvířat při pátracích pracích přidat další fyziologická a behaviorální data.

7 Závěr

Práce si kladla za cíl zjistit, zda zátěž spojená s vyhledáváním pohřešovaných osob v terénu ovlivňuje hladinu salivárního kortizolu a variabilitu srdeční frekvence psů.

Z výsledků vyplývá, že pátrací práce mají vliv na hladinu kortizolu i variabilitu srdeční frekvence. V případě kortizolu došlo k zvýšení jeho koncentrace ve slinách po každém pátrání, zatímco po přestávce buď klesla nebo zůstala nezměněná. Dále se ukázal vliv plemene na hladinu kortizolu v různých situacích.

Variabilita srdeční frekvence postupně vzrůstala až do měření před posledním pátráním, po tomto pátrání výrazně klesla. Také byla nalezena tendence vztahu mezi srdeční frekvencí a variabilitou srdeční frekvence, pokud se zvýší počet tepů za minutu, sníží se zároveň variabilita srdeční frekvence. Nebyl nalezen vztah mezi hladinou kortizolu a variabilitou srdeční frekvence.

Ovšem existuje velká variabilita těchto dat způsobená rozdíly mezi jednotlivými psy. Na základě těchto dat není možné potvrdit hypotézu. Pro získání přesnějších výsledků, je třeba otestovat více jedinců.

8 Seznam literatury

- Ahrens F, Knies K, Schneider M, Kohler F, Erhard MH. 2005. Influence of different training and outdoor conditions on plasma histamine and cortisol concentrations in search-and-rescue dogs. *Inflammation Research* **54**: S34-S35.
- Acharya UR, Joseph KP, Kannathal N, Lim CM, Suri JS. 2006. Heart rate variability: a review. *Medical and Biological Engineering and Computing* **44**:1031-1051
- Angle CT, Wakshlag JJ, Gillette RL, Stokol T, Geske S, Adkins TO, Gregor C. 2009. Hematologic, serum biochemical, and cortisol changes associated with anticipation of exercise and short duration high-intensity exercise in sled dogs. *Veterinary Clinical Pathology* **38**:370-374.
- Beerda B, Schilder MBH, Bernadina W, Van Hooff JARAM, De Vries HW, Mol JA. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses. *Physiology & Behavior* **66**:243-254.
- Beerda B, Schilder MBH, vanHooff JARAM, deVries HW. 1997. Manifestations of chronic and acute stress in dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **52**:307-319.
- Ben Alexander M, Friend T, Haug L. 2011. Obedience training effects on search dog performance. *Applied Animal Behaviour Science* **132**:152-159.
- Bogucki S, Noszczyk-Nowak A. 2015. Short-term heart rate variability (HRV) in healthy dogs. *Polish Journal of Veterinary Sciences* **18**:307-312.
- Cablk ME, Sagebiel JC, Heaton JS, Valentin C. 2008. Olfaction-based detection distance: A quantitative analysis of how far away dogs recognize tortoise odor and follow it to source. *Sensors* **8**:2208-2222.
- Carter AJ, Hall EJ. 2018. Investigating factors affecting the body temperature of dogs competing in cross country (canicross) races in the UK. *Journal of Thermal Biology* **72**:33-38.
- Castillo VA, Blatter MFC, Gomez NV, Sinatra V, Gallelli MF, Ghersevich MC. 2009. Diurnal ACTH and plasma cortisol variations in healthy dogs and in those with pituitary-dependent Cushing's syndrome before and after treatment with retinoic acid. *Research in Veterinary Science* **86**:223-229.

- Cobb ML, Iskandarani K, Chinchilli VM, Dreschel NA. 2016. A systematic review and meta-analysis of salivary cortisol measurement in domestic canines. *Domestic Animal Endocrinology* **57**:31-42.
- Colussi A, Stefanon B, Adorini C, Sandri M. 2018. Variations of salivary cortisol in dogs exposed to different cognitive and physical activities. *Italian Journal of Animal Science* **17**: 1030-1037
- Diverio S, Barbato O, Cavallina R, Guelfi G, Iaboni M, Zasso D, Di Mari W, Matteo Santoro M, Knowles TG. 2016. A simulated avalanche search and rescue mission induces temporary physiological and behavioural changes in military dogs. *Physiology and Behavior* **163**:193-202.
- del Rio CL, Clymer BD, Billman GE. 2015. Myocardial electrotonic response to submaximal exercise in dogs with healed myocardial infarctions: evidence for beta-adrenoceptor mediated enhanced coupling during exercise testing. *Frontiers In Physiology* 6 (UNSP 25) DOI: 10.3389/fphys.2015.00025.
- Dreschel NA, Granger DA. 2009. Methods of collection for salivary cortisol measurement in dogs. *Hormones and Behavior* **55**:163-168.
- Fergestad ME, Jahr TH, Krontveit RI, Skancke E. 2016. Serum concentration of gastrin, cortisol and C-reactive protein in a group of Norwegian sled dogs during training and after endurance racing: a prospective cohort study. *Acta Veterinaria Scandinavica* 58 (24) DOI: 10.1186/s13028-016-0204-9.
- Foley P, Kirschbaum C. 2010. Human hypothalamus–pituitary–adrenal axis responses to acute psychosocial stress in laboratory settings. *Neuroscience And Biobehavioral Reviews* **35**:91-96.
- Gan SD, Patel KR. 2013. Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Investigative Dermatology* 133 (e12) DOI:10.1038/jid.2013.287.
- Gácsi M, Maros K, Sernkvist S, Faragó T, Miklósi Á. 2013. Human Analogue Safe Haven Effect of the Owner: Behavioural and Heart Rate Response to Stressful Social Stimuli in Dogs. *PLoS One* 8 (e58475) DOI: 10.1371/journal.pone.0058475.
- Gazit I, Terkel J. 2003. Domination of olfaction over vision in explosives detection by dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **82**:65-73.

- Giannetto C, Fazio F, Assenza A, Alberghina D, Panzera M, Piccione G. 2014. Parallelism of circadian rhythmicity of salivary and serum cortisol concentration in normal dogs. *Journal Of Applied Biomedicine* **17**: 229-233.
- Greatbatch I, Gosling RJ, Allen S. 2015. Quantifying Search Dog Effectiveness in a Terrestrial Search and Rescue Environment. *Wilderness & Environmental Medicine* **26**:327-334.
- Hall EJ, Carter A. 2017. Establishing a reference range for normal canine tympanic membrane temperature measured with a veterinary aural thermometer. *Veterinary Nursing Journal* **32**: 369-373.
- Hasičský záchranný sbor ČR. 2003. Sbíрка interních aktů řízení generálního ředitele hasičského záchranného sboru české republiky a náměstka ministra vnitra. Praha. Částka 47/2003.
- Charmandari E, Tsigos C, Chrousos, G. 2005. Endocrinology of the stress response. *Annual Review of Physiology* **67**: 259-284.
- Chen SW, Liaw JW, Chang YJ, Chuang LL, Chien CT. 2015. Combined heart rate variability and dynamic measures for quantitatively characterizing the cardiac stress status during cycling exercise. *Computers in Biology and Medicine* **63**:133-142.
- Jonckheer-Sheehy VSM, Vinke CM, Ortolani A. 2012. Validation of a Polar (R) human heart rate monitor for measuring heart rate and heart rate variability in adult dogs under stationary conditions. *Journal of Veterinary Behavior-Clinical Applications and Research* **7**:205-212.
- Katayama M, Kubo T, Mogi K, Ikeda K, Nagasawa M, Kikusui T. 2016. Heart rate variability predicts the emotional state in dogs. *Behavioural Processes* **128**:108-112.
- Kazmi SZH, Zhang HG, Aziz W, Monfredi O, Abbas SA, Shah SA, Kazmi SSH, Butt WH. 2016. Inverse Correlation between Heart Rate Variability and Heart Rate Demonstrated by Linear and Nonlinear Analysis. *PloS one* 11 (e0157557) DOI: 10.1371/journal.pone.0157557. – ANALÝZY
- Kobelt AJ, Hemsworth PH, Barnett JL, Butler KL. 2003. Sources of sampling variation in saliva cortisol in dogs. *Research in Veterinary Science* **75**:157-161.
- Konietschke U, Kruse BD, Muller R, Stockhaus C, Hartmann K, Wehner A. 2014. Comparison of auricular and rectal temperature measurement in normothermic, and hyperthermic dogs. *Tieraerztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere* **42**:13-19.

- Koyama T, Omata Y, Saito A. 2003. Changes in salivary cortisol concentrations during a 24-hour period in dogs. *Hormone and Metabolic Research* **35**:355-357.
- Kyrou I, Tsigos C. 2009. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Current Opinion in Pharmacology* **6**:787-793.
- Lensen RCMM, Betremieux C, Bavegems V, Sys SU, Moons, CPH, Diederich, C. 2017. Validity and reliability of cardiac measures during behavioural tests in pet dogs at home, *Applied Animal Behaviour Science* **186**:56-63.
- Lit L, Boehm D, Marzke S, Schweitzer J, Oberbauer AM, Certification testing as an acute naturalistic stressor for disaster dog handlers. *Stress-the International Journal on the Biology of Stress* **13**:392-401.
- Loftus L, Marks K, Jones-McVey R, Gonzales JL, Fowler VL. 2016. Monty Roberts' Public Demonstrations: Preliminary Report on the Heart Rate and Heart Rate Variability of Horses Undergoing Training during Live Audience Events. *Animals* 6 (55) DOI: 10.3390/ani6090055.
- Mack Z, Fokidis HB. 2017. A novel method for assessing chronic cortisol concentrations in dogs using the nail as a source. *Domestic Animal Endocrinology* **59**:53-57.
- Maros A, Dóka A, Miklósi Á. 2008. Behavioural correlation of heart rate changes in family dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **109**:329-341.
- Mesarcova L, Kottferová J, Skurková L, Lesková L, Kmečová N. 2017. Analysis of cortisol in dog hair - a potential biomarker of chronic stress: a review. *Veterinarni Medicina* **62**:363-376.
- Mezinárodní kynologická federace (FCI), Mezinárodní federace pro záchranné psy (IRO). 2019. Mezinárodní zkušební řád pro zkoušky záchranných psů.
- Michael S, Graham KS, Oam GMD. 2017. Cardiac Autonomic Responses during Exercise and Post-exercise Recovery Using Heart Rate Variability and Systolic Time Intervals-A Review. *Frontiers in Physiology* 8 (301) DOI: 10.3389/fphys.2017.00301.
- Moore J. 2016. Heart Rate Variability vs. Heart Rate. The Science and Application of Heart Rate Variability. Available from <https://hrvcourse.com/heart-rate-variability-vs-heart-rate/> z (accessed March 2019).

- Norman SE, Eager RA, Waran NK, Jeffery L, Schroter RC, Marlin DJ. 2005. Recording of ECG signals on a portable MiniDisc recorder for time and frequency domain heart rate variability analysis. *Physiology & Behavior* **83**:729-738.
- Pastore C, Pirrone F, Balzarotti F, Faustini M, Pierantoni L, Albertini M. 2011. Evaluation of physiological and behavioral stress-dependent parameters in agility dogs. *Journal of Veterinary Behavior-Clinical Applications and Research* **6**:188-194.
- Reeder DM, Kramer KM. 2005. Stress in Free-Ranging Mammals: Integrating Physiology, Ecology, and Natural History. *Journal of Mammalogy* **86**:225–235.
- Roth LSV, Faresjo A, Theodorsson E, Jensen P. 2016. Hair cortisol varies with season and lifestyle and relates to human interactions in German shepherd dogs. *Scientific Reports* 6 (19631) DOI: 10.1038/srep19631.
- Rovira S, Munoz A, Benito M. 2008. Effect of exercise on physiological, blood and endocrine parameters in search and rescue-trained dogs. *Veterinarni Medicina* **53**:333-346.
- Santos POPR, Santos EA, Reis AC, Santos AMMR, Kuster MCC, Trivilin LO, Aptekmann, KP. 2018. Effect of exercise on cardiovascular parameters in search and rescue-trained dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* **70**: 1036-1044.
- Schneider M, Wilhelm S, Scheideler A, Erhard M. 2009. Effectiveness of and physical and mental strain in search and rescue dogs during a three-day search operation. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* **4**:82.
- Schmidt A, Aurich J, Mostl E, Muller J, Aurich, C. 2010. Changes in cortisol release and heart rate and heart rate variability during the initial training of 3-year-old sport horses. *Hormones and Behavior* **58**: 628-636.
- Skarlandtová H, Fraňková M, Frynta D, Kittnar O. 2010. Stres a stresové hormony u savců. *Československá Fyziologie* **59**:32-36.
- Svaz záchranných brigád kynologů České republiky (SZBK ČR). 2016. Národní zkušební řád pro záchranné psy.
- Travain T, Colombo ES, Grandi LC, Heinzl E, Pelosi A, Previde EP, Valsecchi P. 2016. How good is this food? A study on dogs' emotional responses to a potentially pleasant event using infrared thermography. *Physiology & Behavior* **159**:80-87.

- Travain T, Colombo ES, Heinzl E, Bellucci D, Previde EP, Valsecchi P. 2015. Hot dogs: Thermography in the assessment of stress in dogs (*Canis familiaris*)-A pilot study. *Journal of Veterinary Behavior-Clinical Applications and Research*. 10:17-23.
- von Borell E, Langbein J, Despres G, Hansen S, Lettieri C, Marchant-Forde J, Marchant-Forde R, Minero M, Mohr E, Prunier A, Valance D, Veissier I. 2007. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals - A review. *Physiology and Behavior* **92**:293-316.
- von Lewinski M, Biau S, Erber R, Ille N, Aurich J, Faure JM, Mostl E, Aurich C. 2013. Cortisol release, heart rate and heart rate variability in the horse and its rider: Different responses to training and performance. *Veterinary Journal* **197**: 229-232.
- Zanghi BM. 2016. Eye and Ear Temperature Using Infrared Thermography Are Related to Rectal Temperature in Dogs at Rest or With Exercise. *Frontiers In Veterinary Science* 3 (111) DOI: 10.3389/fvets.2016.00111.

9 Seznam použitých zkratek

ACTH	adrenokortikotropní hormon
BPM	Beat per Minute
BTB	beat to beat, interval mezi jednotlivými údery v ms
EIA	enzyme immunoassay
EKG	elektrokardiografie
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
GPS	globální polohový systém
HPA	osa hypothalamus-hypofýza-kůra nadledvin
HR	srdeční frekvence
HRV	variabilita srdeční frekvence
IZS	integrovaný záchranný systém
KPT	kynologický pátrací tým
LTV	pomalé výkyvy v srdeční frekvenci
NN50	počet po sobě jdoucích RR intervalů lišících se alespoň o 50 ms
pNN50	procento po sobě jdoucích RR intervalů lišících se alespoň o 50 ms
RIA	radioimunoanalýza
RMSSD	druhá odmocnina průměrných čtvercových rozdílů po sobě následujících RR intervalů
RR interval	vzdálenost mezi R vlnami na elektrokardiogramu
SAM	osa sympato-adrenální-medulární
SDNN	standardní odchylkou RR intervalů
STV	rychlé změny v srdeční frekvenci

10 Samostatné přílohy

Příloha č. 1 – Tabulka analyzovaných dat

cvičení	psovod	pes	pohlaví	věk	plemeno	situace	kortizol (ng/ml)	SDNN (ms)	RMSSD (ms)	pNN50 (%)	BPM
Pouště	Čiperová	Roxy	fena	9,7	Gordonsetr	z1	0,155	77,22379467	66,73829485	38,1	106,4601984
Pouště	Čiperová	Roxy	fena	9,7	Gordonsetr	z2	1,75	76,62164207	73,18437252	42,9	91,90920485
Pouště	Čiperová	Roxy	fena	9,7	Gordonsetr	z3	0,43	109,2806777	107,2591432	42,9	94,82077437
Pouště	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	z1	1,432	89,73086481	68,55862976	23,8	140,5451448
Pouště	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	z2	0,377	70,48450976	40,28292797	9,5	118,68369
Pouště	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	z3	1,56	37,33774816	24,06835504	4,8	123,7809452
Pouště	Smejkal	Class	pes	5	NO	z1	0,567	30,81016925	12,08107532	0,0	128,1428987
Pouště	Smejkal	Class	pes	5	NO	z2	0,788	51,74015257	39,68026978	9,5	112,3499872
Pouště	Smejkal	Class	pes	5	NO	z3
Žihle	Hubnerová	Spike	pes	8,6	LR	z1	0,62	150,0219337	137,5273133	47,6	105,8795219
Žihle	Hubnerová	Spike	pes	8,6	LR	z2	2,28	45,86687978	76,77146047	61,9	86,21252694
Žihle	Hubnerová	Spike	pes	8,6	LR	z3	0,27	123,7672853	150,9848621	66,7	87,1459695
Žihle	Sudzina	Chaime	pes	3,1	NO	z1	3,92	13,71951918	10,19803903	0	138,5535845
Žihle	Sudzina	Chaime	pes	3,1	NO	z2	.	10,57646303	8,214389233	0,0	148,866584
Žihle	Sudzina	Chaime	pes	3,1	NO	z3	5,03	16,58561559	12,2552224	0	133,0108827
Žihle	Uher	Ergo	pes	4	NO	z1	0,66	40,75498753	18,67899253	4,8	124,6341233
Žihle	Uher	Ergo	pes	4	NO	z2	0,58	52,22007229	25,70436316	4,8	122,165664
Žihle	Uher	Ergo	pes	4	NO	z3
Žihle	Šimek	Bentley	pes	10	BO	z1	1,26	59,79703965	59,94124107	47,6	122,8592703
Žihle	Šimek	Bentley	pes	10	BO	z2	2,03	36,83333022	21,80541654	4,8	141,9049667
Žihle	Šimek	Bentley	pes	10	BO	z3	8,2	93,93601656	136,7561264	19,0	124,8581158
Žihle	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	z1	2,07	151,9693926	261,4854999	81,0	127,4992756

cvičení	psovod	pes	pohlaví	věk	plemeno	situace	kortizol (ng/ml)	SDNN (ms)	RMSSD (ms)	pNN50 (%)	BPM
Žihle	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	z2	0,51	76,07408579	117,3963575	14,3	152,9725345
Žihle	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	z3	0,22	92,10936053	137,5285252	23,8	156,6765579
Nové Město	Godzman	Argo	pes	5,8	NO	z1	0,03	138,4342267	192,1730371	66,7	143,7751879
Nové Město	Godzman	Argo	pes	5,8	NO	z2	0,64	188,7452096	313,2934878	47,6	114,0388769
Nové Město	Godzman	Argo	pes	5,8	NO	z3	1,4	96,88526272	86,20131476	9,5	117,8466208
Nové Město	Kůžel	Kilian	pes	4,7	NO	z1	0,08	48,64800201	53,34255873	9,5	110,9243697
Nové Město	Kůžel	Kilian	pes	4,7	NO	z2	0,12	72,58521638	67,75586427	28,6	120,1201201
Nové Město	Kůžel	Kilian	pes	4,7	NO	z3	0,25	17,53255531	10,26784161	0,0	118,3750336
Nové Město	Mrazík	Bart	pes	9	NO	z1	0,2	42,60778748	55,51147458	42,9	143,4003259
Nové Město	Mrazík	Bart	pes	9	NO	z2	.	394,4276322	548,3377913	76,2	111,8454499
Nové Město	Mrazík	Bart	pes	9	NO	z3	0,22	55,66155475	91,08394872	14,3	116,309807
Nové Město	Šťastný	Greeny	pes	5	NO	z1	0,76	34,12873659	19,6517296	0,0	98,85419007
Nové Město	Šťastný	Greeny	pes	5	NO	z2	0,32	73,65887703	118,5300846	23,8	106,7184089
Nové Město	Šťastný	Greeny	pes	5	NO	z3	0,56	49,90290159	52,50850271	28,6	95,36883173
Nové Město	Krč	Doris	fena	7,2	Hovavart	z1	0,08	168,3943681	236,7459961	76,2	127,9689772
Nové Město	Krč	Doris	fena	7,2	Hovavart	z2	0,61	109,5666238	165,4701815	90,5	136,6318187
Nové Město	Krč	Doris	fena	7,2	Hovavart	z3	0,04	143,3592263	216,6378369	66,7	129,6914915
Nové Město	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	z1	0,44	25,75921563	17,23368794	0,0	112,7626858
Nové Město	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	z2	0,11	57,76020893	29,31032648	9,5	110,9896578
Nové Město	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	z3	0,67	125,414058	159,6003938	42,9	82,8313253
Nové Město	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	z1	4,57	39,83592382	28,28763822	4,8	100,8249313
Nové Město	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	z2	1,68	32,47605602	31,14329401	9,5	84,17293713
Nové Město	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	z3	0,12	69,89757855	57,7750152	42,9	88,71563949
Hamry	Procházka	Amar	pes	4,9	NO	z1	1,33	132,5558981	222,1029362	47,6	114,1868512
Hamry	Procházka	Amar	pes	4,9	NO	z2	0,59	71,4217482	65,33138967	33,3	104,2654028

cvičení	psovod	pes	pohlaví	věk	plemeno	situace	kortizol (ng/ml)	SDNN (ms)	RMSSD (ms)	pNN50 (%)	BPM
Hamry	Procházka	Amar	pes	4,9	NO	z3
Hamry	Bazinková	Charlie	pes	6,9	bordera	z1	.	96,39360597	155,5827754	57,1	153,0612245
Hamry	Bazinková	Charlie	pes	6,9	bordera	z2	1,25	46,20695451	54,00749507	9,5	148,5482782
Hamry	Bazinková	Charlie	pes	6,9	bordera	z3	0,63
Hamry	Špaldoňová	Orna	fena	3	NO	z1	0,55	89,93883367	140,6173464	76,2	77,84395825
Hamry	Špaldoňová	Orna	fena	3	NO	z2	1,18	88,01724333	95,43509387	57,1	88,71563949
Hamry	Špaldoňová	Orna	fena	3	NO	z3	0,60	69,63980528	110,8581247	38,1	85,29335746
Hamry	Kovář	Vuk	pes	5	NO	z1	0,37	74,85412812	111,294547	33,3	103,692066
Hamry	Kovář	Vuk	pes	5	NO	z2	.	112,4063246	156,1119867	47,6	100,3344482
Hamry	Kovář	Vuk	pes	5	NO	z3	.	33,46050466	32,4455588	9,5	112,9073646
Hamry	Gabrišová	Extra	fena	9,3	NO	z1	0,28	32,93331605	40,4368997	23,8	102,7717222
Hamry	Gabrišová	Extra	fena	9,3	NO	z2	1,77	37,64273113	25,01999201	4,8	144,0419031
Hamry	Gabrišová	Extra	fena	9,3	NO	z3
Hamry	Blažek	Fantom	pes	3	BO	z1	0,35	16,27653587	15,90148241	0,0	147,1571906
Hamry	Blažek	Fantom	pes	3	BO	z2	0,97	33,36527739	20,82923769	4,8	147,568474
Hamry	Blažek	Fantom	pes	3	BO	z3
Hamry	Bomer	Acanero	pes	5,5	AUO	z1	1,07	36,62282628	27,1933115	9,5	105,7014734
Hamry	Bomer	Acanero	pes	5,5	AUO	z2	1,35	104,0755546	151,6896895	42,9	100,8018328
Hamry	Bomer	Acanero	pes	5,5	AUO	z3
Hamry	Paterová	Tereza	fena	5,4	MISC	z1	2,23	42,37672935	42,31852009	14,3	112,8687473
Hamry	Paterová	Tereza	fena	5,4	MISC	z2	1,32	28,84244032	37,28334238	14,3	122,324159
Hamry	Paterová	Tereza	fena	5,4	MISC	z3
Pouště	Čiperová	Roxy	fena	9,7	Gordonsetr	p1	.	24,07139003	24,67889015	9,5	154,8387097
Pouště	Čiperová	Roxy	fena	9,7	Gordonsetr	p2	.	83,73740191	63,24931771	38,1	121,9624873
Pouště	Čiperová	Roxy	fena	9,7	Gordonsetr	p3	1,1	94,36433701	82,99081992	23,8	114,9225144

cvičení	psovod	pes	pohlaví	věk	plemeno	situace	kortizol (ng/ml)	SDNN (ms)	RMSSD (ms)	pNN50 (%)	BPM
Pouště	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	p1	1,793	74,74730156	72,22781419	38,1	106,6666667
Pouště	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	p2	1,183	126,9307174	150,0287274	85,7	109,4799701
Pouště	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	p3	3,291	39,12738784	8,029706749	0,0	145,6471367
Pouště	Smejkal	Class	pes	5	NO	p1	1,14	14,86495685	15,340578	0,0	119,9563795
Pouště	Smejkal	Class	pes	5	NO	p2	0,095	37,2503536	26,19341975	4,8	123,9785855
Pouště	Smejkal	Class	pes	5	NO	p3	.	25,47357243	15,31106043	0,0	142,1035634
Žihle	Hubnerová	Spike	pes	8,6	LR	p1	0,04	118,2624899	83,72602713	52,4	126,9230769
Žihle	Hubnerová	Spike	pes	8,6	LR	p2	0,03	121,9969262	76,09799447	23,8	138,4083045
Žihle	Hubnerová	Spike	pes	8,6	LR	p3	0,89	185,1221174	220,7517459	33,3	156,1391057
Žihle	Sudzina	Chaime	pes	3,1	NO	p1	5,27	44,64804976	52,07915221	14,3	148,7994589
Žihle	Sudzina	Chaime	pes	3,1	NO	p2	0,79	26,50951022	20,66973863	0,0	122,6651798
Žihle	Sudzina	Chaime	pes	3,1	NO	p3	.	22,03922124	16,87771142	0,0	114,2857143
Žihle	Uher	Ergo	pes	4	NO	p1	0,47	41,92952075	60,02340813	52,4	114,2362614
Žihle	Uher	Ergo	pes	4	NO	p2	0,43	39,31521271	22,28922439	0,0	124,6458924
Žihle	Uher	Ergo	pes	4	NO	p3	1,09	108,250408	171,3300908	23,8	126,1588455
Žihle	Šimek	Bentley	pes	10	BO	p1	0,23	49,67688988	50,78432454	33,3	128,3547258
Žihle	Šimek	Bentley	pes	10	BO	p2	0,08	45,88973489	71,18620787	23,8	169,7967584
Žihle	Šimek	Bentley	pes	10	BO	p3	.	23,66658907	21,05208959	0,0	125,8581236
Žihle	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	p1	.	76,1045388	87,53040288	47,6	134,5017322
Žihle	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	p2	0,6	47,98553501	62,06755153	33,3	120,1091902
Žihle	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	p3	0,02	180,2953729	170,1712023	85,7	104,3148412
Nové Město	Godzman	Argo	pes	5,8	NO	p1	.	51,70691803	72,47101227	47,6	98,42666468
Nové Město	Godzman	Argo	pes	5,8	NO	p2	0,47	169,7057553	271,0688719	90,5	130,1390121
Nové Město	Godzman	Argo	pes	5,8	NO	p3	0,45	295,6053077	452,0934375	90,5	116,5151381
Nové Město	Kůžel	Kilian	pes	4,7	NO	p1	0,06	49,78194186	39,38636457	9,5	104,9701789

cvičení	psovod	pes	pohlaví	věk	plemeno	situace	kortizol (ng/ml)	SDNN (ms)	RMSSD (ms)	pNN50 (%)	BPM
Nové Město	Kůžel	Kilian	pes	4,7	NO	p2	0,16	28,75588334	18,17769434	4,8	123,9902311
Nové Město	Kůžel	Kilian	pes	4,7	NO	p3	1,43	971,3119142	880,9389201	71,4	60,25746371
Nové Město	Mrazík	Bart	pes	9	NO	p1	0,02	133,1665831	187,0306825	52,4	150,2048248
Nové Město	Mrazík	Bart	pes	9	NO	p2	0,18	142,9545165	89,07540947	38,1	110,4510083
Nové Město	Mrazík	Bart	pes	9	NO	p3	0,64	42,71859196	55,28023844	19,0	152,5129983
Nové Město	Šťastný	Greeny	pes	5	NO	p1	1,74	0,583874208	0,786795792	0,0	162,8222524
Nové Město	Šťastný	Greeny	pes	5	NO	p2	0,02	129,8452671	142,8052287	47,6	92,08874006
Nové Město	Šťastný	Greeny	pes	5	NO	p3	0,03	118,3314525	80,41144197	38,1	86,40439877
Nové Město	Krč	Doris	fena	7,2	Hovavart	p1	0,71	188,3190102	262,8994014	85,7	105,3303543
Nové Město	Krč	Doris	fena	7,2	Hovavart	p2	0,02	39,6503572	31,36573806	9,5	81,12592957
Nové Město	Krč	Doris	fena	7,2	Hovavart	p3	0,43	116,3775915	197,3749152	47,6	104,579306
Nové Město	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	p1	0,06	50,7196353	59,59106676	23,8	189,355903
Nové Město	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	p2	0,24	186,0628893	234,8637903	85,7	132,5434281
Nové Město	Hrubešová	Leosh	pes	3	MISC	p3	0,63	125,8993761	136,3903711	42,9	100,9637448
Nové Město	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	p1	0,26	96,45814405	130,9360076	38,1	94,35310936
Nové Město	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	p2	1,82	105,3237433	152,156248	81,0	80
Nové Město	Hlubocká	Sam	pes	8,2	CHBR	p3	0,03	79,80504396	115,3782599	76,2	83,11819155
Hamry	Procházka	Amar	pes	4,9	NO	p1	1,56	53,33848331	63,37154236	33,3	105,6760868
Hamry	Procházka	Amar	pes	4,9	NO	p2	1,04	64,81277869	65,51154024	19,0	105,5240227
Hamry	Procházka	Amar	pes	4,9	NO	p3	0,94	35,62581013	18,19733104	4,8	146,4388729
Hamry	Bazinková	Charlie	pes	6,9	bordera	p1	1,2	25,25641233	12,6396956	0,0	114,8325359
Hamry	Bazinková	Charlie	pes	6,9	bordera	p2	.	71,85621835	79,64564377	52,4	147,4036851
Hamry	Bazinková	Charlie	pes	6,9	bordera	p3	1,51	111,7042287	84,24567249	33,3	103,5781544
Hamry	Špaldoňová	Orna	fena	3	NO	p1	0,39	120,270391	124,2129508	42,9	114,9825784
Hamry	Špaldoňová	Orna	fena	3	NO	p2	0,94	78,19249399	89,36415602	47,6	92,95774648

cvičení	psovod	pes	pohlaví	věk	plemeno	situace	kortizol (ng/ml)	SDNN (ms)	RMSSD (ms)	pNN50 (%)	BPM
Hamry	Špaldoňová	Orna	fena	3	NO	p3	0,37	83,35869173	87,79792817	61,9	77,48752568
Hamry	Kovář	Vuk	pes	5	NO	p1	1,80	59,23737094	41,63331999	14,3	113,7342754
Hamry	Kovář	Vuk	pes	5	NO	p2	0,63	136,6997146	209,7325962	42,9	98,80979115
Hamry	Kovář	Vuk	pes	5	NO	p3	.	41,0249118	42,7244772	19,0	98,03193465
Hamry	Gabrišová	Extra	fena	9,3	NO	p1	0,66	40,35495914	21,68167978	0,0	114,6131805
Hamry	Gabrišová	Extra	fena	9,3	NO	p2	0,43	34,29550726	28,65974446	9,5	129,3103448
Hamry	Gabrišová	Extra	fena	9,3	NO	p3	1,12	31,05380561	37,48269442	9,5	133,4951456
Hamry	Blažek	Fantom	pes	3	BO	p1	.	59,99347416	85,15252422	33,3	135,3429714
Hamry	Blažek	Fantom	pes	3	BO	p2	0,28	75,77861677	122,0179534	42,9	128,2923511
Hamry	Blažek	Fantom	pes	3	BO	p3	2,09	30,03015014	30,09271388	9,5	164,7940075
Hamry	Bomer	Acanero	pes	5,5	AUO	p1	0,88	46,0253254	70,77866238	61,9	96,49122807
Hamry	Bomer	Acanero	pes	5,5	AUO	p2	0,77	75,5951729	81,81046621	42,9	99,37514116
Hamry	Bomer	Acanero	pes	5,5	AUO	p3	0,34	50,94041244	60,23050959	33,3	96,19588981
Hamry	Paterová	Tereza	fena	5,4	MISC	p1	0,94	49,20634576	56,00170065	33,3	93,91007399
Hamry	Paterová	Tereza	fena	5,4	MISC	p2	1,33	27,44340533	17,12836689	0,0	110,0183364
Hamry	Paterová	Tereza	fena	5,4	MISC	p3	0,74	42,55101459	21,37644453	4,8	109,0999256