

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Změny v sekreci kortizolu u koní v hiporehabilitaci

Bakalářská práce

Hana Farová

Zoorehabilitace a asistenční aktivity se zvířaty

doc. Ing. Kristýna Machová, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Změny v sekreci kortizolu u koní v hiporehabilitaci" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 28.4.2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé bakalářské práce doc. Ing. Kristýně Machové, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu během psaní mé bakalářské práce, zejména pak mojí sestře za pomoc s korekturou.

Změny v sekreci kortizolu u koní v hiporehabilitaci

Souhrn

Zapojení zvířat do zoorehabilitace sahá hluboko do minulosti a má pro lidi mnoho pozitivních účinků. Hiporehabilitace má původ ve starověkém Řecku a nyní je rozšířená po celém světě. Jedná se o léčebnou metodu, která pomáhá lidem s tělesným i mentálním postižením. Mezi odvětví hiporehabilitace patří hipoterapie ve fyzioterapii a ergoterapii, hipoterapie v psychiatrii a psychologii, hiporehabilitace v pedagogické a sociální praxi a parajezdectví. Hiporehabilitace má mnoho pozitivních dopadů na lidské zdraví. Mezi fyzické přínosy patří zlepšení rovnováhy a motoriky, posílení svalů, mobilizace kloubů a normalizace svalového napětí. Hiporehabilitace také zvyšuje sebevědomí a snižuje úzkost a depresi.

S hiporehabilitací úzce souvisí i pohoda koní, kteří se do ní zapojují. Aby koně mohli pomáhat lidem, musí sami být v psychické pohodě. Tu jim lze zajistit dobrými životními podmínkami a nízkou úrovní stresu. Pohodu zvířat ovlivňuje mnoho faktorů, jako je typ ustájení, krmení a interakce s ostatními koňmi nebo lidmi. Koně zapojení v zoorehabilitaci občas nejeví známky stresu, například proto, že chtějí potěšit své majitele. To ale neznamená, že pro ně hiporehabilitace někdy nemůže být stresující.

Kromě projevů chování lze stres určovat i fyziologickým měřením, a to zejména měřením hladiny stresového hormonu kortizolu. Kortizol je steroidní hormon patřící mezi glukokortikoidy. Je produkován kůrou nadledvin. Jeho sekrece je ovlivněna cirkadiálním rytmem, ale zvyšuje se také během stresové reakce. Kortizol hraje důležitou roli v CNS, metabolickém a imunitním systému. Kortizol u koní můžeme získávat z krve, slin, moči nebo stolice. V těchto ukazatelích se odráží se zpožděním několika minut až dvou dní. K hodnocení dlouhodobého stresu se používá kortizol získaný z koňské srsti.

Ve zkoumaných studiích, zaměřených na sekreci kortizolu u hiporehabilitačních koní, se měřil kortizol pouze z krve nebo slin. Často docházelo k porovnávání dvou skupin – terapeutických jezdců a zdravých rekreačních jezdců. Výsledky ukázaly, že koně v hiporehabilitaci nejsou vystaveni většímu stresu než koně rekreační, mnohdy u nich byly naměřeny i nižší koncentrace kortizolu. Studie se zabývaly měřením pouze krátkodobého stresu. Dosud nejsou žádné studie, které by se zaměřily na měření kortizolu ze srsti hiporehabilitačních koní a zjišťovaly tak, zda nejsou v dlouhodobém stresu.

Klíčová slova: hiporehabilitace, stres, kortizol, kůň, welfare

Changes in cortisol secretion in horses in equine-assisted therapy

Summary

The involvement of animals in animal-assisted therapy goes deep into the past and has many positive effects for humans. Equine-assisted therapy originated in ancient Greece and is now widespread throughout the world. It is a therapeutic method that helps people with physical and mental disability. The types of equine-assisted therapy include hippotherapy in physiotherapy and occupational therapy, hippotherapy in psychiatry and psychology, hipporehabilitation in educational and social practice, and para-therapy. Equine-assisted therapy has many positive impacts on human health. Physical benefits include improving balance and motor skills, strengthening muscles, mobilising joints and normalising muscle tension. Equine assisted-therapy also increases self-esteem and reduces anxiety and depression.

Closely related to equine-assisted therapy is the well-being of the horses involved. In order for horses to be able to help people, they must be mentally well themselves. This can be ensured by good living conditions and low stress levels. Many factors influence the well-being of animals, such as the type of housing, feeding and interaction with other horses or people. Horses involved in animal-assisted therapy sometimes show no signs of stress, for example because they want to please their owners. However, this does not mean that equine-assisted therapy cannot sometimes be stressful for them.

In addition to behavioural symptoms, stress can also be determined by physiological measurements, in particular by measuring levels of the stress hormone cortisol. Cortisol is a steroid hormone belonging to the glucocorticoid family. It is produced by the adrenal cortex. Its secretion is influenced by the circadian rhythm, but it also increases during a stress response. Cortisol plays an important role in the CNS, metabolic and immune systems. Cortisol in horses can be obtained from blood, saliva, urine or faeces. It is reflected in these parameters with a delay of a few minutes to two days. Cortisol obtained from the horse's hair is used to assess long-term stress.

In the studies reviewed, which focused on cortisol secretion in therapeutic horses, cortisol was measured only from blood or saliva. Often two groups were compared - therapeutic riders and healthy recreational riders. The results showed that the horses involved in equine-assisted therapy were not more stressed than the recreational horses and often had lower cortisol concentrations measured. The studies only measured short-term stress. To date, there are no studies that have focused on measuring cortisol from the hair of therapeutic horses to determine if they are under long-term stress.

Keywords: equine-assisted therapy, stress, cortisol, horse, welfare

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce	2
3 Literární rešerše	3
3.1 Hiporehabilitace	3
3.1.1 Úvod do zoorehabilitace a její přínosy	3
3.1.2 Hiporehabilitace a její rozdělení	5
3.1.3 Efekty hiporehabilitace	9
3.1.4 Welfare koní v hiporehabilitaci	11
3.2 Stres a kortizol	18
3.2.1 Stresová reakce	20
3.2.2 Kortizol	23
3.2.3 Kortizol u koní	26
3.2.4 Funkce a význam kortizolu	27
3.2.5 Způsoby stanovení hladiny kortizolu u koní	28
3.3 Sekrece kortizolu u koní v hiporehabilitaci	30
4 Závěr	35
5 Literatura	36

1 Úvod

Člověk měl zvířecí společníky již v pravěku. O vztahu člověka a jeho zvířat psali básníci, spisovatelé a romanopisci. Již před mnoha staletími si bystří pozorovatelé všimli, že to, jak člověk vnímá sám sebe a své místo ve vesmíru, se odráží i ve způsobu, jakým se chová ke svým zvířatům. Způsob, jakým člověk zachází se svými zvířaty, je také paralelou způsobu, jakým se chová k ostatním lidem. Zvířata nám totiž vždy připomínala náš vlastní zvířecí původ. Jako taková nás vracejí k přírodě a snižují naše odcizení od ní. Pro mnoho jedinců má spojení se zvířecími společníky terapeutickou hodnotu a přispívá k porozumění sobě samému (Levinson 1978).

Víra v socializační a psychoterapeutické účinky zvířecí společnosti sahá přinejmenším do 18. století, kdy filantropické skupiny v Evropě začaly prosazovat zavedení „ochočených zvířat“ do některých pokrokových psychiatrických zařízení té doby (Serpell 2000). Nástup vědecké medicíny na konci 19. století měl tendenci vytlačit společenská zvířata z terapeutického prostředí. V 60. letech 20. století tento koncept ve svých pracích znovu oživil americký dětský psychoterapeut Boris M. Levinson, který je považován za otce intervencí s pomocí zvířat. Ve své knize *Pet-Oriented Child Psychotherapy* popsal výhody, které jeho pes přinášel do poradenských sezení s dětmi a mládeží a uvedl řadu příkladů, jak mohou zvířata terapii zlepšit (Kruger et al. 2004).

Obliba koní, jakožto zvířat zapojovaných do zoorehabilitace, souvisí s dlouhou a pestrou historií vztahu člověka a koně. V průběhu staletí koně postupně získali pro člověka „smíšený status“. Zpočátku představovali zdroj potravy, poté byli využíváni k volnočasovým aktivitám a sportu nebo získali status zvířecího společníka. Později se také začali zapojovat v zoorehabilitaci (Hausberger et al. 2008).

Interakce mezi koněm a člověkem se od typické interakce mezi společenským zvířetem a člověkem liší tím, že koně nejsou od přírody draví jako psi a kočky, ale sami jsou kořist. Proto ze své podstaty nabízejí v terapeutickém procesu jedinečné možnosti, které by jinak nebyly k dispozici. Protože koně jsou kořistní zvířata, jejich přežití závisí na jejich extrémní citlivosti na prostředí. Mají schopnost zrcadlit nebo reagovat na chování, emoce a vnitřní stavy lidí kolem sebe, spíše než na slovní obsah nebo pach, který může být v nesouladu s chováním nebo emocemi (Smith-Osborne & Selby 2010).

Hiporehabilitace pozitivně přispívá ke kognitivní, fyzické, emocionální a sociální pohodě lidí. S rozšířením hiporehabilitace roste i zájem o welfare zapojených koní. (Kaiser et al. 2006; De Santis et al. 2017). O welfare v hiporehabilitaci se ví poměrně málo. Cílem této práce je také představení co nejpráhlednějšího shrnutí dostupné literatury na toto téma.

2 Cíl práce

Cílem práce je zpracovat literární rešerši na téma sekrece kortizolu u hiporehabilitačních koní a čím je ovlivněna. Dalším cílem je prostudovat, zda byla v rámci hiporehabilitace sekrece kortizolu sledována a o jaký druh hiporehabilitace se jednalo. Posledním cílem je uvést, jak je možné ovlivnit welfare koní v zoorehabilitaci k jejich maximální spokojenosti.

3 Literární rešerše

3.1 Hiporehabilitace

3.1.1 Úvod do zoorehabilitace a její přínosy

Zvířata a lidé jsou ve vzájemném vztahu již více než 12 000 let. Jeden z prvních důkazů pochází ze severního Izraele, kde byly nalezeny kosterní pozůstatky člověka držícího štěně. V 9. století se v belgickém Gheelu začala zvířata začleňovat do léčby postižených (Serpell 2000). V roce 1790 se v anglickém Yorku při terapiích s duševně nemocnými pacienty, kteří se učili sebeovládání, zapojovali králíci a slepice (Morrison 2007). Ve 30. letech 19. století britský charitativní komisař doporučil, aby zvířata byla v psychiatrických léčebnách, „aby se vytvořila příjemnější a méně vězeňská atmosféra“ (Serpell 2006). V roce 1867 byla pacientům s epilepsií v Bethelu v západním Německu do léčebných plánů zařazena hospodářská zvířata a koně. Dalším příkladem je newyorský psycholog Dr. Boris Levinson, který v 60. letech 20. století zapojil svého psa Jinglese do léčebného plánu dospívajících. Své poznatky poté rozebral v publikovaném článku s názvem „The dog as the Co-therapist“. V roce 1972 provedl Levinson další průzkum, podle kterého třetina ze 435 dotázaných psychoterapeutů ve státě New York používala zvířata jako terapeutické prostředky. Výzkum vlivu zvířat na lidské zdraví a pohodu začal koncem 70. let 20. století. V roce 1977 se výzkumný tým z Pensylvánské univerzity pod vedením psychiatra Dr. Deana Katchera a jeho asistentky Eriky Friedmannové zabýval vlivem domácích zvířat na krevní tlak pacientů. Zjistili, že účastníci studie, kteří komunikovali s domácími mazlíčky, měli ve srovnání s těmi, kteří komunikovali s lidmi, včetně členů rodiny, nižší krevní tlak (Morrison 2007).

Intervence s asistencí zvířat (animal-assisted interventions; AAI) můžeme rozdělit do dvou skupin: terapii s pomocí zvířat (animal-assisted therapy; AAT) a aktivity s pomocí zvířat (animal-assisted activities; AAA). AAT má konkrétní cíle a úkoly, které chtějí zvíře a pacient splnit. Cíle spočívají ve zlepšení fyzických, sociálních, emocionálních a kognitivních funkcí člověka, tyto cíle jsou měřeny a dokumentovány (Morrison 2007; Souter & Miller 2007). Tuto terapii provádí nebo zprostředkovává specialista, který byl vyškolen k začlenění zvířete do terapie (Kruger & Serpell 2006). Naproti tomu AAA nesměřují ke specifickým terapeutickým cílům, poskytují ale příležitosti k motivačním, vzdělávacím, rekreačním anebo terapeutickým přínosům pro zvýšení kvality života (Morrison 2007; Souter & Miller 2007). Mezi takové aktivity může patřit přivedení koček nebo psů na návštěvu k pacientům do nemocnice nebo domova seniorů či akvária s rybičkami umístěná v ordinacích poskytovatelů zdravotnické péče. Specialista, který při těchto aktivitách asistuje byl vyškolen k tomu, aby zprostředkoval AAA v různých prostředích včetně škol, zdravotnických zařízení a nápravných zařízení (Kruger & Serpell 2006). Nejčastěji zapojovaným druhem zvířat v rámci AAI jsou psi. Pro příznivé zdravotní účinky lze ale využít celou řadu zvířat, například kočky, morčata, papoušky, koně, kozy, slepice, osly či lamy (Morrison 2007). Terapeutický přínos má i sledování akvárií (Edwards & Beck 2002).

Ve většině případů jsou AAA a AAT poskytovány jednotlivcům nebo skupinám za pomoci dobrovolníků anebo zdravotníků (Connor & Miller 2000). AAI lze indikovat u pacientů všech věkových kategorií, kteří potřebují zlepšit náladu, motivaci, sebeúctu a

fyzickou a duševní pohodu. Patří sem muži, ženy a děti všech věkových kategorií, u nichž byla provedena příslušná bezpečnostní opatření a řešeny bezpečnostní otázky (Morrison 2007). Specifické zdravotní indikace zahrnují například autismus, demenci, depresi, Alzheimerovu chorobu, tělesná postižení, emoční poruchy, chronická onemocnění a další duševní a neurologické poruchy (Connor & Miller 2000; Allen et al. 2001; Kaminski et al. 2002; Richeson 2003; Filan & Llewellyn-Jones 2006; Macauley 2006; Sams et al. 2006). Kontraindikací pro AAI může být strach ze zvířete, nezáměr ze strany klienta nebo neschopnost klienta chovat se vhodně ke zvířeti (Morrison 2007). S těmito typy interakcí mezi lidmi a zvířaty se lze setkat v různých prostředích, jako jsou nemocnice, domovy důchodců, hospice, rehabilitační zařízení, onkologická oddělení, oddělení akutní a kritické péče, psychiatrická zařízení, věznice, školy a nápravná zařízení (Connor & Miller 2000; Morrison 2007). Dalším vhodným prostředím může být domov, farma nebo alternativní místa s přístupem k terapeutickým zvířatům (Morrison 2007).

Přínosy zoorehabilitace

Vazba majitele ke zvířeti je dalším, možná komplikovanějším aspektem vazby mezi člověkem a zvířecím společníkem a představuje výzvu pro výzkumníky, kteří studují fyzické a psychické výhody plynoucí ze zvířecích společníků. Zvířata mají vliv na různé psychologické procesy, které mohou následně ovlivnit fyzické zdraví. Výzkumníci zjistili, že majitelé zvířat zažívají nižší míru stresu, deprese a úzkosti, lepší morálku a méně pocitů osamělosti ve srovnání s těmi, kteří zvířata nevládní (Crawford et al. 2006). Terapie pomocí zvířat může snížit úzkost, zlepšit náladu a u dětí zlepšit chování (Eggiman 2006).

Fyziologické účinky zvířat na srdeční tep a krevní tlak jsou také dobře zdokumentovány. Stasi et al. (2004) zkoumali účinnost terapie pomocí domácích zvířat u starších, kognitivně intaktních pacientů v pečovatelských domech. Účastníci byli náhodně rozděleni do dvou skupin: skupina s terapií domácími zvířaty, kterou třikrát týdně navštěvovala kočka, a kontrolní skupina, kterou nenavštěvovala kočka, ale byla zapojena do běžného programu aktivit v domově seniorů. Účastníci ve skupině s terapií trávili čas chováním a mazlením se s kočkou. Krevní tlak byl měřen před zahájením studie a po šesti týdnech. U účastníků, kterým byla poskytnuta intervence spočívající v návštěvě kočky, došlo k významnému zlepšení systolického a diastolického krevního tlaku ve srovnání s účastníky z kontrolní skupiny.

Sobo et al. (2006) hodnotili vliv návštěv psů na 25 hospitalizovaných dětských pacientů, kteří podstoupili operaci a pociťovali pooperační bolest. Pacienty navštěvoval pes a umožňoval jim interakci po dobu určenou pacientem. Pacienti byli hodnoceni před a po sezení se psem. Byla hodnocena fyzická bolest, kterou uváděli pacienti sami, a emocionální bolest. Bylo zjištěno, že oba typy bolesti se po sezení významně snížily.

Zvířata začleněná do terapie dětí s vývojovými poruchami mohou přispět ke zlepšení celkového stavu. Martin & Farnum (2002) se zabývali účinky AAT na děti s pervazivními vývojovými poruchami. Tento malý vzorek deseti účastníků se účastnil individuálních patnáctiminutových terapeutických sezení třikrát týdně po dobu 15 týdnů. Terapie probíhala buď s míčem, plyšovým psem nebo s živým psem. Výsledky naznačily, že účastníci v přítomnosti živého psa vykazovali významně více hravých nálad, popisovaných jako častější a delší smích, ve srovnání s účastníky, kteří se účastnili terapie s míčem nebo

plyšovým psem. Účastníci byli také popisováni jako významně soustředěnější v přítomnosti živého psa nebo plyšového psa než v přítomnosti míče.

Sams et al. (2006) zjistili, že zapojení zvířat (psů, králíků a lam) do ergoterapie mělo pozitivní účinky na děti s poruchou autistického spektra. Každý z 22 účastníků absolvoval jedno standardní terapeutické sezení a jedno sezení se zvířaty. Bylo zjištěno, že účastníci během sezení se zvířaty ve srovnání se standardními terapeutickými sezeními významně více používali řeč a sociální interakce.

3.1.2 Hiporehabilitace a její rozdělení

Po několik staletí byl kůň v mytologii často zobrazován jako pomocník a léčitel člověka. Jízda na koni jakožto terapeutická intervence má původ již ve starověkém Řecku, kde byla předepisována pro zlepšení fyzické i duševní pohody. Termín „hipoterapie“ je odvozen od řeckého slova *hippos* (kůň). V překladu tedy znamená „léčbu pomocí koně“. V 19. století se objevily vědecké poznatky o terapeutickém využití jízdy na koni při neurologických poruchách a dalších postiženích. V Evropě si získala oblibu až po druhé světové válce, kdy byla předepisována k řešení duševních, fyzických a emocionálních problémů. K současnému širokému využití jízdy na koni jako terapie pravděpodobně přispěla i Lis Hartel, dánská olympijská jezdka, která po prodělání dětské obrny ochrnula. V roce 1952 vyhrála stříbrnou medaili na olympijských hrách v Helsinkách. Díky tomu se terapie prostřednictvím jízdy na koni rozšířila ze západní Evropy do dalších částí světa. V roce 1958 byla v Anglii založena organizace The Pony Riding for the Disabled Trust. V Severní Americe vznikla v roce 1960 organizace Community Association of Riding for the Disabled a následovalo mnoho dalších. Koncem 60. let 20. století byla založena Severoamerická asociace jezdeckví pro handicapované (NARHA). Tato organizace stanovila standardy pro programy a sloužila mimo jiné jako centrum pro výcvik koní (Meregillano 2004).

V současné době se jízda na koni využívá nejen z rekreačního, ale i terapeutického hlediska. Terapie pomocí koní slouží k řešení široké škály zdravotních znevýhodnění (např. roztroušená skleróza, dětská mozková obrna, poranění míchy, cévní mozková příhoda, Downův syndrom, poruchy autistického spektra apod.) (Snider et al. 2007). Kůň nabízí výjimečný zážitek, kterému se snad žádný jiný nevyrovná. Poskytuje také jedinečný fyzický prožitek odehrávající se v radostném sociálním prostředí (Hart 2000).

Kontraindikací pro provozování hipoterapie je alergie na koňskou srst a nemoci přenosné mezi lidmi a zvířaty. Nebezpečí hrozí i klientům s imunosupresí a klientům, kteří nemohou být mobilizováni. Hipoterapie je nevhodná i u klientů, v jejichž tělech probíhají zánětlivé procesy. Je nezbytné, aby terapeut dobře znal zvíře, se kterým pracuje (Ayala et al. 2021).

Koně jsou velmi vhodné pro terapeutickou práci, protože jsou to stádová zvířata, pro která je spolupráce stejně důležitá jako soutěžení, a vazby mezi členy jsou velmi silné. Během procesu domestikace začali koně v některých ohledech vnímat člověka jako součást svého stáda, což zřejmě představuje základ pro pouto mezi lidmi a koňmi. Aby se však toto pouto udrželo a využilo, musí člověk převzít roli vůdce (Bachi et al. 2012). Koně se neptají, co člověk dělal v minulosti, zda byl závislý na drogách nebo alkoholu nebo strávil nějaký čas ve vězení. Koňské emoce jsou dekodovatelné i pro začátečníky, což lidem umožňuje

interpretovat význam koně ve vztahu k jejich vzájemné interakci. Kone vyžadují transparentnost, to znamená, že vztah nelze předstírat. Díky vztahu, který s těmito zvířaty vzniká, se lidé cítí pochopeni, jako by kůň rozuměl hloubce jejich bolesti a zmatení (Frewin & Gardiner 2005).

Hiporehabilitace je léčebná metoda, která pomáhá osobám s tělesným i mentálním postižením (Koca & Ataseven 2016). Mezi odvětví hiporehabilitace patří hipoterapie ve fyzioterapii a ergoterapii (HTFE), hipoterapie v psychiatrii a psychologii (HTP), hiporehabilitace v pedagogické a sociální praxi (HPSP) a parajezdeckví. HTFE je terapie s asistencí koní, která souvisí s fyzickými aspekty. Naproti tomu HTP pomáhá lidem, kteří mají problémy s emočním a duševním zdravím. HPSP je činnost s asistencí koní, která je zaměřena na výuku jízdy na koni a jezdeckví a zároveň se přizpůsobuje speciálním potřebám jezdce (Bachi et al. 2012).

Rozdělení hiporehabilitace

Hipoterapie ve fyzioterapii a ergoterapii

Hipoterapie ve fyzioterapii a ergoterapii (HTFE) je fyzikální terapie, která využívá přirozené chůze a pohybu koně a poskytuje tak motorické i senzorycké podněty. Pohyb koně je rytmický a opakující se (Koca & Ataseven 2016). Kůň při chůzi předává člověku na svém hřbetě 90 až 120 pohybových impulzů za minutu. Tyto impulzy vyvolávají u člověka pohyby ve třech směrech: nahoru a dolů, dopředu a dozadu a ze strany na stranu. Dále pak způsobují rotaci trupu a střídavou laterální flexi v bederní páteři (Debuse et al. 2009).

Kůň poskytuje dynamickou oporu, což z něj činí vynikající nástroj pro zlepšení síly trupu a posílení kontroly a rovnováhy, jakož i celkového držení těla a odolnosti, rozložení hmotnosti a motorických dovedností (Kwon et al. 2011). Klienti při hipoterapii zažívají pohyb podobný chůzi. Pohyb v sedle při pomalé chůzi koně je podobný pohybu pánve, který vykonávají zdraví lidé při chůzi (Sunwoo et al. 2012). Tím se posilují svaly trupu a zlepšuje se schopnost udržet rovnováhu (Sunwoo et al. 2012; Silkwood-Sherer et al. 2012). Kromě toho dochází k mobilizaci pánve, bederní páteře a kyčelních kloubů. Svaly trupu se střídají v aktivovaném a uvolněném stavu, což vede k normalizaci svalového tonu (Snider et al. 2007).

Hipoterapie je prospěšná nejen u klientů s fyzickým znevýhodněním (například dětská mozková obrna), ale i u klientů s vrozenými vadami a vývojovými poruchami (Downův syndrom, poruchy autistického spektra) (Silkwood-Sherer et al. 2012). Při hipoterapii se také u klientů zlepšuje jemná a hrubá motorika a kognitivní, emoční a afektivně-sociální parametry. Dochází také ke zlepšení kvality spánku (del Rosario-Montejo et al. 2015; Ayala et al. 2021). Hipoterapie představuje jedinečnou příležitost pro motorické učení. Motorické schopnosti, které klienti získají při hipoterapii, dokáží přenést i do pohybových aktivit mimo koně (Debuse et al. 2009).

Hipoterapie v psychiatrii a psychologii

Hipoterapie v psychiatrii a psychologii (dále jen HTP) je forma terapie za pomoci zvířat, která se využívá k léčbě lidských psychických problémů. Využívají se při ní koně v přirozeném prostředí stájí a jejich okolí. HTP pomáhá lidem, kteří mají problémy s emočním a duševním zdravím. Podporuje osobní zkoumání pocitů a chování a umožňuje

jejich klinickou interpretaci. HTP vyžaduje trvalý terapeutický vztah s jasně stanovenými cíli a úkoly léčby, které terapeut a klient rozvíjejí (Bachi et al. 2012).

Mnoho programů HTP vychází z přesvědčení, že pouhá přítomnost u koně, péče o něj a práce s ním má ze své podstaty léčivou sílu. HTP prostřednictvím zážitků s koňmi podporuje sebeúctu a pocit odpovědnosti a sebedůvěry (Karol 2007). Podporuje také emoční učení a růst (Mallow et al. 2011). Také snižuje impulzivitu, zlepšuje sebepojetí a zvyšuje pocit odpovědnosti klientů i jejich schopnost zapojit se do emočních vztahů (Bates 2002). Je slibným přístupem k řešení deprese a řady dalších emočních nebo psychologických problémů (Yorke et al. 2008). Pomáhá dětem a dospívajícím poznat, jak se starat o jinou živou bytost, a často se díky této zkušenosti naučí lépe pečovat o sebe. Mnoho programů navíc pracuje s dětmi a dospívajícími ve skupinové formě, a tak se mohou dále zaměřit na rozvoj vrstevnických vztahů v pozitivní skupinové atmosféře (Karol 2007).

Terapeutický tým v HTP se skládá z klienta, terapeuta a koně. Toto uskupení tvoří terapeutický trojúhelník, který poskytuje příležitost řešit zdánlivou dualitu v terapeutickém prostředí. Přítomnost koně doplňuje a vylepšuje tradiční terapii, která zahrnuje pouze klienta a terapeuta. Aby bylo možné vytvořit smysluplné spojení mezi koněm a klientem a aby terapeut mohl takové spojení usnadnit, je také nutné pozitivní pouto mezi terapeutem a koněm. Vytvoření terapeutického spojení, které bude podporovat, obsahovat a nabízet potenciální léčebnou zkušenost pro negativní rané životní zkušenosti klienta, je rozhodující pro vybudování důvěry s druhým a vytvoření interpersonálních adaptačních dovedností. Terapeutické spojení v HTP nabízí příležitost k prožívání náklonosti jak emocionální, tak fyzické a neverbální. Stabilní přítomnost koně obklopuje klienta jak fyzicky, tak emocionálně, a to způsobem, který není vždy možný mezi terapeutem a klientem (Bachi et al. 2012).

Příkladem přístupu HTP je pozorování klienta a rozhovor o dynamice chování ve stádě koní. To nabízí okno do klientova vnitřního světa. Klient a terapeut společně zkoumají tyto projekce. HTP však není vhodná pro všechny lidi kvůli otázkám bezpečnosti spojenými s koňmi a otevřeným prostředím, ve kterém tato terapie probíhá. Členové stáda koní se stejně jako lidé liší povahou, chováním, životními zkušenostmi a vzpomínkami. Pro úspěšnou HTP se doporučuje vybrat vhodného koně pro dosažení konkrétního terapeutického cíle. Pozorování dynamiky a interakcí mezi koňmi ve stádě při volném pohybu ve výběhu umožňuje zrcadlení, které terapeut usnadňuje a slouží k podpoře a uvědomění a jako katalyzátor v léčebném procesu. Dynamika stáda je spojena s projevy životního cyklu, jako je namlouvání, odmítání, přátelství, hierarchie, páření, porod, vývoj hříbat, zranění a smrt. Během pozorování a vystavení různým situacím ve stádě je příležitost zabývat se těmito tématy ve vztahu k jejich výskytu u klienta. To nabízí příležitost zpracovat traumata, primární zážitky a vjemy, které se upevnily v kognitivním a emočním mapování klienta (Bachi et al. 2012).

Terapeutický proces HTP nabízí příležitost posílit prvky vedení, sebekontroly a způsobu oslovování druhého, přičemž se využívá rozvíjející se motivace klienta být ve vůdčí pozici vůči koni. Kůň je vysoce citlivý na ostatní ve svém okolí a má schopnost poskytovat zpětnou vazbu. Navozuje interakce, které usnadňují řešení významných problémů, během terapeutického sezení. Jeho behaviorální flexibilita mu umožňuje se přizpůsobit osobám nebo situacím, vnímat člověka a reagovat na něj (Bachi et al. 2012). Naučit se ovládat koně a umět se s ním samostatně a sebejistě pohybovat je důležitým krokem v procesu budování

sebedůvěry a pozitivního sebepojetí (Karol 2007). Aktivitu, které lze při jízdě na koni provádět, jsou rozmanité a lze je přizpůsobit speciálním potřebám každého klienta. Například pokud je problémem nedostatek sociálních dovedností, je možné HTP zařadit ve skupinovém prostředí (Bachi et al. 2012).

Hiporehabilitace v pedagogické a sociální praxi

Hiporehabilitaci v pedagogické a sociální praxi (HPSP) můžeme definovat jako vzdělávací přístup, který zahrnuje aktivity zprostředkované koňmi a zkušenost interakce mezi koňmi a lidmi v prostředí učení nebo sebepoznávání. HPSP podporuje osobní zkoumání pocitů a chování, které pomáhá podporovat lidský růst a rozvoj (Garcia 2010). HPSP může pomoci jedincům všech věkových kategorií a vzdělání posílit komunikaci, řešení problémů, sebedůvěru, řešení konfliktů a vztahy (Trotter et al. 2008). HPSP může být například účinnou terapeutickou možností pro děti s poruchou autistického spektra. U těchto dětí bylo prokázáno zlepšení v oblastech sensorické integrace a pozornosti. Došlo také ke zlepšení sociální motivace a smyslové citlivosti a snížení nepozornosti a nesoustředěnosti (Bass et al. 2009).

HPSP nabízí cíleně zaměřené aktivity související s jezdecktím, jako je péče o koně, lonžování, jízda na koni a práce ze země, a to buď individuálně nebo skupinově. Tyto aktivity pomáhají osvětlit styly intra a interpersonálních vztahů, přístupy k vedení a řadu emočních a behaviorálních otázek souvisejících s dynamickými dvojicemi (např. strach-odvaha, dominance-partnerství, posílení-oslabení, jasnost-nejednoznačnost...) (Garcia 2010). Koně jsou schopni promítat pozitivní pocity, jako je soucit a nepodmíněná láska, které následně poskytují příležitost pro nápravné emocionální zážitky. Tyto opravné zážitky zahrnují pozitivní přehodnocení předchozích negativních vzorců chování, a dokonce i transformační nebo život měnící události (Meinersmann et al. 2008).

Vztah mezi koněm a člověkem může usnadnit pozitivní přerámování vztahu člověka k sobě samému, k druhým a k větší ekologii Země. Pomocí řeči těla jsou koně schopni podat člověku informace o jeho vnitřním duševním nebo emočním rozpoložení (tuto schopnost také můžeme nazvat „zrcadlení“). Zdá se, že neverbální komunikace mezi koněm a člověkem funguje na úrovni řeči těla a na hluboce intuitivní úrovni. Jedním z důležitých přínosů HPSP je naučit se ve vztahu přejít od dominance ke spolupráci. Tato dovednost nachází uplatnění v našem každodenním profesním i osobním životě (Garcia 2010).

Parajezdeckví

Parajezdeckví je odvětví hiporehabilitace založené na aktivním ovládnutí koně osobou se zdravotním handicapem. Jezdec se učí jezdit za použití speciálních pomůcek nebo rozdílné techniky jízdy. Může se dopracovat až do takové úrovně, že je schopen se účastnit sportovních soutěží. Mezi disciplíny parajezdeckví patří paradrezura, paravoltiž, paraparkur, parawestern a paravozatajství (Klech 2014).

Paradrezura je paralympijský sport, v němž sportovci s tělesným a zrakovým postižením soutěží v disciplíně drezury (St. George et al. 2022). Paradrezura byla uznána jako paralympijský sport v roce 1996 (Dashper 2010) a doteď je jedinou paralympijskou jezdeckou disciplínou (De Haan 2015; St. George et al. 2022). V rámci paralympijských her jezdcí soutěží ve dvou typech drezurních úloh: úloha s přesně stanovenými pohyby a volný styl na hudbu (De Haan 2015). V paradrezuře jsou soutěžící rozděleni do pěti sportovních tříd, které

se označují jako stupně. Stupeň 1 zahrnuje sportovce s nejtěžšími omezeními v činnosti, vyšší stupně zahrnují sportovce s méně závažnými omezeními. Úroveň obtížnosti drezurních testů je vztažena k přidělené třídě, přičemž obtížnost je definována chody a pohyby, které musí účastníci provést. Například jezdci 1. stupně absolvují úlohu pouze v kroku, zatímco jezdci 5. stupně jezdí soutěže, které zahrnují krok, klus i cval. Pro účast v paradrežurě jsou způsobilí jezdci s těmito postiženími: porucha svalové síly, porucha pasivního rozsahu pohybu, nedostatek končetin, rozdíl délky nohou, malý vzrůst, hypertonie, ataxie, atetóza a porucha zraku (St. George et al. 2022). Parajezdci se mohou dělit o stupně vítězů s jezdci bez postižení, i když na olympijských hrách se tak zatím nestalo. Někteří paralympijští jezdci se účastní soutěží společně se zdravými jezdci, aby získali zkušenosti na soutěžní úrovni v rámci drezurního sportu. To je možné proto, že v drežurě je bodování založeno na kvalitě jednotlivých požadovaných pohybů koně. Jak toho kůň a jezdec dosáhnou je ve všech ohledech nepodstatné. Proto není neobvyklé, že paralympijští jezdci vyhrávají soutěže a kvalifikují se do šampionátů pro zdravé (De Haan 2015).

Další velmi oblíbenou parajezdeckou disciplínou je paravoltiž, která spočívá v provádění gymnastických cviků na hřbetu koně. Pomocí speciálního postroje, který se skládá z polstrovaného podbřišníku a madel, jezdec zkouší různé pozice, které vyžadují rozvíjení důvěry ke koni. Kůň působí jako prostředek socializace tím, že reaguje na jezdce a poskytuje mu zpětnou vazbu. Zvládnutí těchto úkolů a dovedností umožňuje jezdci zvýšit sebevědomí. Tato disciplína má uplatnění především u klientů s emočními poruchami a poruchami chování (Meregillano 2004).

Voltiž pochází ze starověku, kde se objevovala na hrách v raném Římě spolu s vozatajstvím a dostihy. Ve středověku rytíři nacvičovali naskakování na koně a v brnění prováděli elegantní cviky na koni. Během renesance byla voltiž přípravným cvičením pro jízdu na koni. Časem se vyvinula v samostatnou disciplínu, v níž byl kůň nahrazen dřevěným modelem. Moderní voltiž, jak se praktikuje dnes, je v evropských zemích hojně využívána k přípravě jezdců na jízdu na koni a jako terapie pro jedince se speciálními potřebami. Voltiž byla poprvé zařazena do programu světových jezdeckých her v roce 1990 a v roce 1996 se objevila v rámci exhibice na olympijských jezdeckých hrách v Conyers ve státě Georgia. Protože lonžér, který je uprostřed kruhu, řídí směr, rychlost a chod koně, jezdec je zbaven těchto povinností a může se plně soustředit na prožitek sdílené energie, impulsu, rytmu a rovnováhy mezi ním a koněm (Vidrine et al. 2002).

K parajezdeckví se jedinec většinou dostává až po zvládnutí hipoterapie. Klient je vyšetřen fyzioterapeutem, který spolupracuje s trenérem na stanovení výcvikového plánu. Důležité je přizpůsobení metody výcviku vzhledem k možnostem a zdravotnímu stavu klienta. Rovněž důležitá je i příprava a výběr koně (Klech 2014).

3.1.3 Efekty hiporehabilitace

Kontakt s tak velkým zvířetem jako je kůň má na člověka, zejména na děti, hluboký vliv. Kůň poskytuje nepřehledné množství emocionálních a smyslových zážitků (Meregillano 2004). Při hiporehabilitaci dochází k integrované smyslové stimulaci, včetně vestibulárních, hmatových, zrakových a posturálních smyslů (Sunwoo et al. 2012). U klientů s poruchou pozornosti bylo zaznamenáno prodloužení doby pozornosti a soustředění během jízdy na koni

(Meregillano 2004). Mezi nejčastější emocionální přínosy spojené s jízdou na koni patří zvýšení sebedůvěry, sebeúcty a pocitu kontroly (Karol 2007).

Na přínos hiporehabilitace může mít vliv i multisenzorická povaha této aktivity a lepší uvědomování si svého těla (Bass et al. 2009; Debuse et al. 2009). Přínos hiporehabilitace může také spočívat v tom, že se tato aktivita odehrává v „nezdravotnickém“ prostředí (Bachi et al. 2012). Psychologické výhody pozorované po hiporehabilitaci se neliší od těch, které jsou spojeny s vlastnictvím domácích zvířat, a nejsou tedy specifické pro koně (Kendall et al. 2014). Vědci zjistili, že domácí zvířata (zejména psi) mohou svým majitelům přinášet fyzický a psychický prospěch. Někteří tvrdí, že na tyto výhody má vliv náklonnost člověka ke zvířeti, které ho doprovází. Bylo prokázáno, že zvířecí společníci snižují krevní tlak, snižují srdeční tep, mírní stresové situace, snižují pocity osamělosti a deprese a zlepšují sebevědomí, a to zřejmě v různých kontextech (Crawford et al. 2006).

Kůň poskytuje emocionálně pozitivní kontext, čímž může zvýšit pravděpodobnost prospěšné změny. Může například poskytnout příležitost k zážitkům, které budou mít specifický dopad na psychickou pohodu jezdců. Zážitek z hiporehabilitace může sloužit jako rozptýlení od nepříjemných prožitků a emocí a vést tak k pozitivním psychologickým výsledkům (Kendall et al. 2014). Hiporehabilitace může také vytvářet prostředí, v kterém se jedinci, kteří se bojí komunikovat, mohou cítit pohodlněji, byť jen v komunikaci s koněm (Froeschle 2009). Při hiporehabilitaci je možné se setkávat a zapojovat se s dalšími jedinci s podobnými zájmy a posilovat tak sociální propojení a mezilidské vztahy (Smith-Osborne & Selby 2010).

Kůň je dlouhodobě předvídatelný, ve vztazích relativně nenáročný, nesoudí a neklade si žádné podmínky ohledně své náklonnosti (Trotter et al. 2008; Yorke et al. 2008; Smith-Osborne & Selby 2010; Mallow et al. 2011). Náklonnost, která vzniká mezi koňmi a lidmi je do značné míry výsledkem přirozené schopnosti koní zrcadlit naše emoce (Frewin & Gardiner 2005). Koně mají jemnou formu komunikace, která je citlivá na neverbální sdělení lidí i zvířat v jejich blízkosti. Nepodléhají sociokulturním normám a tabu, které ovlivňují způsob, jak na sebe reagují lidé. Tato jedinečná kombinace poskytuje lidem, zejména těm s postižením, bezpečné prostředí, v němž si mohou vybudovat důvěru (Kendall et al. 2014).

Jízda na koni povzbuzuje lidi, aby překonali svůj strach (Trotter et al. 2008). Zvládnutí této „rizikové“ činnosti, které se mnoho lidí z běžné populace nevěnuje, pak může zvyšovat jejich sebevědomí. Terapeutičtí koně jsou však ve skutečnosti velmi klidní, čímž se eliminuje skutečné riziko. To umožňuje dosáhnout úspěchu při zachování vnímání rizika a výzvy (Kendall et al. 2014). Hiporehabilitace stimuluje komunikaci mezi jezdcem a koněm a usnadňuje používání neverbální komunikace a emocionálního vyjádření (Trotter et al. 2008; Yorke et al. 2008; Froeschle 2009; Garcia 2010; Smith-Osborne & Selby 2010; Cody et al. 2011). Kůň pozitivně reaguje na neverbální komunikaci jezdců a poskytuje jim tak prostředek k sebevyjádření, zejména těm, kteří mají problém s verbální komunikací nebo jsou ve svém neverbálním projevu omezovali normami a požadavky společnosti (Kendall et al. 2014).

Koně nabízejí příležitost překonání strachu a posílení postavení pomocí kreativních metafor (Christian 2005). Bylo prokázáno, že interakce s koňmi přispívá k motivaci klientů k pravidelné docházce, účasti a spolupráci na terapii. Interakce a ovládání tak velkého a silného zvířete klienty posiluje, zvyšuje jejich sebevědomí a sebedůvěru (Chandler 2012). Terapie pomocí koní také zlepšuje samostatnost a snižuje úzkost (Cumella 2003).

Hiporehabilitace snižuje depresi a může například pomoci ženám, které zažily sexuální zneužívání. Také se zvyšuje úroveň úspěchu, komunikace a úroveň štěstí (Froeschle 2009). Terapie za pomoci koní má schopnost zvyšovat pocit kontroly (Vidrine et al. 2002) a zároveň pomáhat při vytváření pozitivních vztahů (Froeschle 2009) a snižování hněvu (Kaiser et al. 2004). Když se klienti naučí komunikovat se zvířetem, důvěřovat mu a zažívat pocit úspěchu při řešení problémů (navzdory zásahům zvířete), dochází k posílení jejich postavení. Toto posílení může přispět k vymizení pocitů nedostatečnosti, které podněcuje zneužívající prostředí (Froeschle 2009).

Mezi nevýhody hiporehabilitace bychom mohli zařadit její fyzickou náročnost pro některé klienty. Jindy může být překážkou strach z koní (Debusse et al. 2009). Koně mají také značnou nevýhodu oproti menším společenským zvířatům zapojovaných do terapií (jako například psi a kočky). Terapie pomocí koní není tak snadno dostupná a má větší požadavky na prostor (Bizub et al. 2003).

3.1.4 Welfare koní v hiporehabilitaci

Obecné zásady welfare

Welfare zvířat můžeme definovat například pomocí definice Brambellova výboru, který byl založen britskou vládou v roce 1965. Brambellův výbor zavedl koncept, podle kterého by zvířata měla mít možnost svobodně vstát, lehnout si, otočit se, natáhnout končetiny a pečovat o srst (Ralph & Tilbrook 2016). Tuto koncepci rozvinul poradní výbor pro dobré životní podmínky hospodářských zvířat a stala se přístupem „pět svobod“ k dobrým životním podmínkám zvířat (Hemsworth et al. 2015). Mezi těchto pět svobod patří: (1) svoboda od hladu a žízně; (2) svoboda od nepohodlí; (3) svoboda od bolesti, zranění a utrpení; (4) svoboda projevit přirozené chování; a (5) svoboda od strachu a úzkosti (Miller & Chinnadurai 2023); podrobněji jsou popsány v tabulce 1 (Webster 2001). Brambellův výbor definoval welfare zvířat jako široký pojem, který zahrnuje jak fyzickou, tak duševní pohodu zvířat, přičemž zdůraznil význam vědeckých důkazů při hodnocení welfare zvířat (Ralph & Tilbrook 2016).

Tabulka 1: Pět svobod a ustanovení (Webster 2001)

Svoboda	Ustanovení
1. Osvobození od hladu žízně a podvýživy	Díky snadnému přístupu k čerstvé vodě a stravě pro udržení plného zdraví a vitality
2. Osvobození od nepohodlí	Poskytnutím vhodného prostředí včetně přístřeší a vhodného místa k odpočinku
3. Osvobození od bolesti, zranění a nemocí	Prevencí nebo rychlou diagnostikou a léčbou
4. Volnost projevů normálního chování	Poskytnutím dostatečného prostoru, vhodného zázemí a společnosti zvířat svého druhu
5. Osvobození od strachu a trápení	Zajištěním podmínek, které zabraňují duševnímu utrpení

Existuje několik vědecky podložených rámců pro chápání welfare zvířat, včetně rámců „biologického fungování“, „afektivních stavů“ a „přirozeného života“. Rámec biologického

fungování se vztahuje k biologické aktivitě, která zvířeti umožňuje vyrovnat se s výzvou, a zahrnuje fyziologické reakce na stres, zapojení systémů obnovy organismu a imunologické obrany, jakož i různé behaviorální reakce. Rámec afektivních stavů zdůrazňuje, jak schopnost zvířete mít emoční prožitky ovlivňuje jeho pohodu. Rámec přirozeného života vychází z názoru, že welfare zvířete se zlepšuje, pokud může projevit přirozené chování (Hemsworth et al. 2015).

Pojem welfare se vztahuje především k subjektivnímu psychickému stavu jedince ve vztahu k jeho vnitřnímu a vnějšímu prostředí (Rushen 2003). Protože nedokážeme přímo číst pocity a emoce zvířat, snažíme se je odvodit z měřitelných ukazatelů, o kterých víme nebo předpokládáme, že s nimi souvisejí. Většina těchto měřítek, včetně chování, biologie, produkčních znaků a patologie, vychází ze studia psychofyziologie a patofyziologie emocí, stresu a adaptace (Mormède et al. 2007).

Ideálním ukazatelem welfare zvířat je absence stresu (Möstl & Palme 2002). Je však nemožné vytvořit pro zvířata podmínky zcela bez stresu. Naším cílem by tedy mělo být snížit stres zvířat na minimum, aby se u nich nevyvinuly patologické stavy (Moberg 2000). Neexistuje žádná jednotná definice stresu ani jednotný systém biochemických testů pro měření stresu (Möstl & Palme 2002). Stejně jako opakovaná nebo dlouhodobá nepřetržitá aktivace osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA) může být škodlivá pro lidské zdraví (Turner et al. 2012), může být škodlivá i pro zdraví zvířat a následně pro jejich pohodu (Ralph & Tilbrook 2016). Je prokázáno, že chronický stres má větší dopad na welfare koní než stres akutní (Jolivald et al. 2023).

Potíže pramení z nemožnosti interpretovat stav welfare zvířete z periferních měření hormonů, jako jsou glukokortikoidy. Tato měření neposkytují žádný důkaz o původním podnětu, který aktivoval paraventrikulární jádro. Například měřením zvýšení glukokortikoidů v plazmě nelze určit, zda bylo paraventrikulární jádro aktivováno strachem, odměnou nebo hypoglykemií. Také pozitivní a negativní afektivní prožitky vyvolávají syntézu glukokortikoidů. Hodnocení welfare zvířat pomocí měření cirkulujících glukokortikoidů je v rámci afektivních stavů téměř nemožné. Pro hodnocení welfare jsou důležité důsledky působení glukokortikoidů, nikoli glukokortikoidy samotné (Ralph & Tilbrook 2016).

Opakovaně chronicky zvýšené periferní koncentrace glukokortikoidů (měřené z krve a slin) neznamenají nevyhnutelně zhoršený blahobyt a akutní zvýšení automaticky nesignalizuje stav normality. Důležité je, že periferní měření glukokortikoidů nemusí odrážet vliv prostředí na biologické fungování a afektivní stav zvířete (Ralph & Tilbrook 2016). Například ke zvýšení hladiny kortizolu dochází i po přijetí potravy. To však není považováno za stresor (Mormède et al. 2007).

Panuje obecné přesvědčení, že tzv. chronická aktivace osy HPA negativně ovlivňuje fyziologické a behaviorální fungování. Naopak akutní stresové reakce pravděpodobně nebudou mít škodlivý dopad na zdraví a pohodu zvířat, i když to nemusí vždy platit, zejména pokud k reakci dojde v kritické době (Ralph & Tilbrook 2016). Například Moberg (1987a,b) zastával hypotézu, že reprodukce u samic může být narušena, pokud je osa HPA akutně aktivována v kritickém období během folikulární fáze. Je reálné, že tento předpoklad se může vztahovat i na další fyziologické a behaviorální systémy, které by mohly ovlivňovat welfare zvířete (Ralph & Tilbrook 2016).

Délka trvání podnětu hraje klíčovou koncepční roli v „obecném adaptačním syndromu“, jak jej popsal Selye (1956), se třemi po sobě následujícími fázemi – poplachová fáze, rezistence a vyčerpání. Bezprostřední biologické reakce na akutní výzvy (např. porod, kastrace, odstav, míšení zvířat z různých sociálních skupin, omezení pohybu, přeprava, porážka,...) byly podrobně studovány a stejně jako většina stresorů aktivují biologické stresové systémy víceméně standardním způsobem (poplachová fáze) (Mormède et al. 2007). Tento společný vzorec reakce stojí u zrodu koncepce stresu, kterou Selye (1973) definoval jako „nespecifickou reakci organismu na jakýkoli požadavek, který je na něj kladen“. Tato nespecifičnost je většinou důsledkem jedinečnosti reakce osy HPA, tedy zvýšení hladiny cirkulujícího kortizolu, který je mimořádně citlivý na „jakýkoli požadavek“, bez ohledu na jeho povahu či intenzitu. Pokud však podnět přetrvává po určitou dobu, cirkulující hladiny kortikosteroidů se vrací na výchozí úroveň. Trvalou aktivaci osy HPA lze zjistit různými přístupy, např. dynamickým testováním. Vzhledem k tomu, že mnoho faktorů, které ovlivňují welfare zvířat, je dlouhodobých (to platí pro většinu vlivů z fyzického a sociálního prostředí zvířat), měla by být věnována větší pozornost zkoumání chronického přizpůsobení adaptačních mechanismů (alostázy) (Korte et al. 2005). V neposlední řadě existuje obrovská variabilita (napříč druhy, plemeny i jedinci) v základním fungování adaptačních mechanismů a v jejich reakcích na výzvy prostředí. Tato variabilita má mnohočetný původ, genetický, vývojový i zkušenostní (Mormède et al. 2007).

Stres a welfare koní

Koně reagují na situace různě a to, co může být pro jednoho stresující, pro jiného stresující být nemusí. Stres může být vyvolán řadou faktorů a o tom, zda je situace vnímána jako stresující, rozhodují tři hlavní faktory. Prvním je zkušenost jedince. Nové situace jsou často vnímány jako ohrožující nebo stresující a zdá se, že koně se bojí neznámého. Druhým faktorem je pocit kontroly, který jedinec v dané situaci má. Pro některé osobnostní typy je velkým stresorem to, že nemají situaci pod kontrolou. Přístup k situaci je také významným faktorem toho, jak jedinec vnímá stres. Stres však vzniká také v důsledku fyzického výkonu, nemoci a bolesti (Cayado et al. 2006).

Ze studie Pawluski et al. (2017) vyplývá, že koně s chronicky zhoršenými životními podmínkami mají nižší hladiny kortizolu než koně, u nichž jsou dodrženy zásady welfare. Chronický stres totiž může za určitých podmínek vést spíše k hypoaktivitě osy HPA než k hyperaktivitě (Miller et al. 2007). U lidí s chronickou bolestí jsou hladiny kortizolu nižší než u pacientů s depresí či zdravých jedinců. Zdá se, že chronická bolest je spojena s nízkou sekrecí kortizolu (Muhtz et al. 2013). Chronické vystavení bolestivým podnětům a následný stres u pacientů s chronickou bolestí mohou vést nejprve k nadměrnému uvolňování glukokortikoidů a poté k hyporeaktivitě osy HPA, což vede celkově k nízkým hladinám kortizolu. Hypokortizolismus u pacientů s chronickou bolestí může měnit vnímání bolesti a může se tak kauzálně podílet na chronicitě bolesti (Kuehl et al. 2010). Hypokortizolismus byl zaznamenán také u dalších poruch spojených se stresem (například chronický únavový syndrom, chronická pánevní bolest a fibromyalgie) (Gaab et al. 2005; Wingefeld et al. 2008; Wingefeld et al. 2009; Riva et al. 2010; Papadopoulos & Cleare 2011). Hypokortizolismus se také může rozvinout po delším období stresu a nadměrném uvolňování glukokortikoidů (Fries et al. 2005). Stárnutí je (u lidí) spojeno s vyššími hladinami kortizolu (Otte et al. 2005).

Hladina kortizolu se u koní rapidně zvyšuje během přepravy, bez ohledu na vzdálenost, věk a plemeno koní či návyk koní na přepravu. Čím delší přeprava, tím větší stres pro koně. S ohledem na welfare koní (a to nejen hiporehabilitačních) je vhodné přepravu co nejvíce omezit, zvláště pak přepravu na dlouhé vzdálenosti (Fazio et al. 2008; Schmidt et al. 2010a; Schmidt et al. 2010b). Přepravní stres u koní můžeme snížit například tím, že je budeme navykat na nastupování do přepravníku a tím snížíme hladiny kortizolu při nakládání (Shanahan 2003).

Welfare koní může být ovlivněno řadou faktorů, včetně podmínek prostředí, jako je ustájení, strava, interakce s jinými koňmi a v poslední době i interakce mezi koněm a jezdcem (McGreevy et al. 2009; Mellor et al. 2020). Koně pro hiporehabilitaci jsou vybíráni na základě svého klidného temperamentu, a proto mohou mít menší sklon projevovat výrazné známky chování v reakci na vystavení stresorům. Chování jako utíkání, zrychlování chůze, plachost, otáčení, zmrznutí, vykopávání a vzpínání je považováno za výrazné indikátory stresových reakcí koní (McGreevy & McLean 2010). Koně, kteří jsou dobře vycvičení nebo mají pasivní mechanismus zvládnutí (Budzyńska 2014), nemusí vykazovat tak razantní známky stresu (McGreevy & McLean 2010; Merkies & Franzin 2021), ale mohou vykazovat jemnější behaviorální indikátory účinků stresu, jako je změna polohy uší nebo hlavy, švihání ocasem, házení hlavou a defekace (Rietmann et al. 2004; Bell et al. 2019). Fyziologické důsledky stresu u koní zahrnují zvýšené koncentrace kortizolu a změny variability srdeční frekvence (heart rate variability, HRV) (von Borell et al. 2007; De Santis et al. 2017).

Z hlediska welfare by hiporehabilitace neměla koním, kteří se jí účastní, způsobovat zbytečný stres nebo nepohodlí. Do hiporehabilitace se zapojují klienti s fyzickými, psychickými, emočními nebo sociálními problémy. Některé z těchto problémů mohou být pro zúčastněné koně problematické a vést k vysoké míře stresu nebo frustrace (Kaiser et al. 2006). Etologicky správné intervence, jako je například protipodmínění (counter conditioning) během specifických činností (např. nasedání a sesedání), mohou snížit stres a podpořit pozitivní afektivní stav koní během terapie. Protipodmínění přesahuje rámec habituace a vyžaduje, aby byl koni předložen náhodný příjemný podnět v době, kdy zažívá negativní nebo nepříjemný podnět (McGreevy 2012). Například může být koni nabídnut pamlsek nebo může být podrbán, zatímco jezdec nasedá nebo sesedá z koně. Pozitivní účinek žádoucího podnětu může převážit nad negativním účinkem nežádoucího podnětu, a tím snížit stres (McDuffee et al 2022).

Koně zapojení do hiporehabilitace často pracují na denní bázi a podobně jako koně, kteří se využívají pro běžnější jezdecké disciplíny, mohou být vystaveni pracovním stresorům souvisejícím s fyzickým omezením nebo „psychologickým“ konfliktům, jako jsou kontroverzní příkazy jezdců nebo potlačení emocí (Hausberger et al. 2009). V kontextu hiporehabilitace se od koní také očekává, aby navazovali vztahy s osobami s různými fyzickými, sociálními či emocionálními postiženími. Jako příklad lze uvést klienty s tělesným postižením, kteří mohou mít problémy s rovnováhou, což může od koně vyžadovat další fyzickou zátěž. Jezdci s vážnými psychickými problémy mohou způsobovat frustraci nebo stres. Lidé s rizikem antisociálního chování mohou vykazovat nevhodné chování vůči koním, se kterými pracují, a toto chování se může projevit jako impulzivní, antisociální nebo násilné činy. Osoby s poruchou autistického spektra se naopak vyznačují přetrvávajícími deficity v sociální komunikaci a interakci a mohou vykazovat související problémové chování, jako je

hyperaktivita, nepozornost, agrese a podrážděnost (Kaiser et al. 2006; Hartley et al. 2008; De Santis et al. 2017).

Existuje několik ukazatelů welfare zvířat, které lze zjišťovat neinvazivními, výhradně pozorovacími technikami. Mezi tradiční klinické ukazatele patří hodnocení tělesné kondice, chutě k jídlu, močení a defekace či abnormálního chování, jako je sebepoškozování a stereotypy (Otovic & Hutchinson 2015). Stereotypie patří mezi poruchy chování, které se mohou objevit v důsledku dlouhodobých stresujících, nudných a pohybově omezených podmínek. Často se projevuje jako neustálé okusování a žvýkání nebo chození dokola. Existují důkazy, že u některých savců koreluje nízká reaktivita osy HPA s větší tendencí k rozvoji stereotypního chování (Manteuffel 2002; Pol et al. 2002). Stereotypní chování může u koní sloužit ke snížení úrovně stresu nebo jako způsob, jak si koně zajišťují určitou kontrolu nad svým prostředím (Cooper & Albentosa 2005).

Odpovědností odborníků je zajistit dobré životní podmínky terapeutických zvířat a brát ohled na pohodu a bezpečnost všech účastníků. Musí si být vědomi toho, že zvíře není pouhým nástrojem, ale živou bytostí. Do hiporehabilitace by se pak měli zapojovat pouze koně, kteří jsou fyzicky i psychicky zcela zdraví a práce je baví (Ayala et al. 2021).

Projevy stresu u koní

Reakce zvířat na stres závisí na různých faktorech, jako je rozsah a intenzita stresorů, předchozí zkušenosti zvířete, fyziologický stav a použitá omezení (Etim et al. 2013). Reakci na stres lze měřit jak na fyziologické, tak na behaviorální úrovni a jako indikátor nepohody zvířat se používá řada parametrů. Vnímání stresového podnětu zvířetem ovlivňuje intenzitu hormonálních a behaviorálních reakcí, které jsou ve stresovém kontextu úzce propojeny. Zdroje stresu pro koně může představovat fyzický stres, vyvolaný specifickými činnostmi a ježděním, nebo strach a úzkost z nových podnětů, sociální separace, přeprava, bolest a nepohoda (König von Borstel et al. 2017), případně mohou souviset s emocionálními stavy jezdce nebo ošetřovatele (Keeling et al. 2009; Merkies et al. 2014).

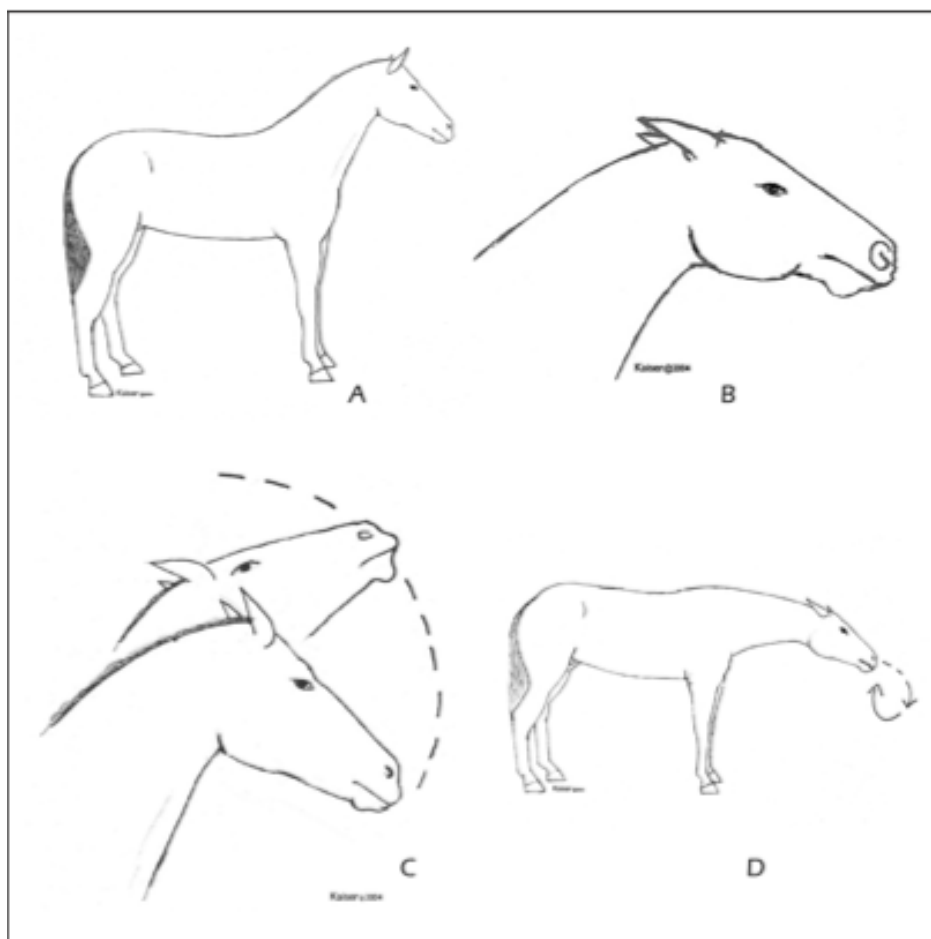
Reakci na stres lze spolehlivě vyhodnotit pomocí zvýšené koncentrace kortizolu (Möstl & Palme 2002; Peeters et al. 2011; Bohák et al. 2013). Při akutním stresu se sérový kortizol zvyšuje během 10 minut, což z něj činí vynikající biomarker fyziologických reakcí na krátkodobý stres (Peeters et al. 2011). Koncentrace glukózy v krvi se může zvýšit také po zvýšení sérového kortizolu, protože kortizol inhibuje působení inzulínu (Kannan et al. 2000; Randall et al. 2002).

Pro pochopení, proč mohou koně, zejména ti ustájení, zažívat stres v životním prostředí, je důležité vzít v úvahu jejich etologii (Goodwin 2010). Divocí koně jsou společenská zvířata žijící ve stádech, která tráví většinu svého denního času pastvou a cestováním na velké vzdálenosti, aby dosáhla základních zdrojů (McGreevy 2012). Ve stádě existuje složitá sociální struktura, která se udržuje jemným sociálním chováním. Domestikace koní, ke které došlo v období pozdního neolitu asi před 5,5 tisíci lety (Outram et al. 2009), způsobila, že tato zvířata žijí jednotlivě nebo v malých skupinách v ohradách nebo malých budovách, omezených z hlediska prostoru a pohybu, a dostávají potravu a vodu v pravidelných intervalech, které nemusí odpovídat tomu, jak by se živila ve volné přírodě (Goodwin 2007; McGreevy 2012). Přestože se někteří koně mohou dobře přizpůsobit modernímu managementu díky kombinaci učení a zkušeností, mohou tyto environmentální výzvy vést k

vysoké míře stresu. Kromě toho se od mnoha koní vyžaduje každodenní práce a mohou tak být vystaveni pracovním stresorům souvisejícím s fyzickými a emocionálními omezeními, jako je požadavek na potlačení emocí (Hausberger et al. 2009). Tím, že chování poskytuje zvířatům možnost pružně reagovat na náročné situace, představuje důležitý mechanismus adaptace na člověkem vytvořené prostředí a může hrát důležitou roli jako ukazatel špatné pohody (König von Borstel et al. 2017). Bylo poukázáno na různé kategorie chování jako na mechanismy zvládnání náročných situací (Budzyńska 2014). Jako příklad lze uvést vliv faktorů managementu (např. doba strávená v boxu) na riziko abnormálního chování (tkalcování, chození v boxu, klkání, okusování boxu) u ustájených koní (Cooper & McGreevy 2007).

Ačkoli není vždy snadné přisoudit dané chování konkrétní emoci, aktivní vyhýbavé chování (např. plachost, utíkání), stejně jako pasivní vyhýbavé chování (např. odmítání pohybu – pokud ho nelze přičíst tvrdohlavosti nebo lenosti) bylo důsledně označováno jako dobrý indikátor reakce na strach či úzkost u koní. To může být spojeno s chováním, jako je vokalizace (např. frkání), poloha a pohyby uší, hlavy, krku a ocasu, hrabání a defekace nebo močení (Visser et al. 2001; Seaman et al. 2002; Visser et al. 2002; Visser et al. 2003; Hall et al. 2014; Hall & Heleski 2017). I v případě nepřítomnosti strachu a úzkosti může kůň pociťovat negativní psychické stavy, jako je napětí a nervozita. Primárním příznakem negativních afektivních stavů u koně je poloha a pohyb jeho uší, zejména míra jejich fixace v poloze. Poloha a pohyby tlamy a jazyka (tj. olizování a pohyby pysků, otevírání tlamy a skřípání udidlem či jeho žvýkání) jsou také považovány za dobré indikátory nepohody u koní (Hall & Heleski 2017). Mezi další projevy stresu patří celkové známky svalového napětí, neobvykle vysoké nebo nízké držení hlavy, pohyby hlavy a krku (ze strany na stranu, nahoru a dolů, třesení, házení), pohyb ocasu, couvání nebo obecněji pohyb směrem, který jezdec nepožaduje (Hall et al. 2014). Je důležité si všimnout, že absence abnormálního chování nebo známek nepohodlí není přesvědčivým důkazem toho, že kůň již neprožívá negativní psychické stavy, ale může to být tím, že byl vycvičen, aby tyto reakce odstranil ze svého repertoáru chování (König von Borstel et al. 2017). Nedůsledné a nevhodné tréninkové metody mohou u koní vést až k naučené bezmoci či stavům podobným depresi (Hall et al. 2008; Visser et al. 2009; von Borstel et al. 2009; Fureix et al. 2012; Fureix et al. 2015).

Kaiser et al. (2006) vytvořili etogram chování koní, podle kterého zjišťovali, zda má terapeutické a rekreační ježdění vliv na stres koní. Za projev stresu bylo v této studii označeno celkem 7 projevů chování (některé z nich můžeme vidět na obrázku 1): sklopení uší, zvedání hlavy, otáčení hlavy doleva nebo doprava nezávisle na činnosti jezdce, házení hlavou, třesení hlavou, držení hlavy dole a defekace. Mezi extrémnější stresové chování (které do studie zařazeno nebylo) můžeme zařadit vzpínání a vykopávání a dále pak kousnutí nebo kopnutí člověka. Dalším projevem stresu může být švihání ocasem, u toho je ovšem obtížné rozlišit, zda se jedná o reakci na mouchy nebo projev diskomfortu. V neposlední řadě můžeme zahrnout i žvýkání udidla jako projev stresu.



Obrázek 1: Diagramy vybraných chování u koní. A – uvolněný kůň bez známek stresu; B – kůň s ušima staženými dozadu; C – házení hlavou související se stresem; D – třesení hlavou (Kaiser et al. 2006).

U koní je sklopení uší mírnou formou agrese, která je obvykle prvním projevem nespokojenosti nebo agrese (Haupt et al. 2000; McDonnell 2003; Waring 2003). Sklopením uší a dupáním při sedlání mohou koně signalizovat nesouhlas s jízdou. Sklopení a natažení hlavy lze také považovat za mírný agresivní signál, protože toto chování může doprovázet hrozbu kousnutím nebo kopnutím. Při házení hlavou jsou uši sklopené dozadu a krk je zvednutý do plné výšky, zatímco hlava přechází z plně ohnuté do natažené. Část této sekvence, během které je hlava zvednutá nad horizontální polohu a krk je natažený, také odpovídá definici zvedání hlavy. Třesení hlavou může naznačovat přítomnost něčeho nežádoucího, protože se může objevit jako reakce na nepříjemné podněty v okolí hlavy a uší. Je také například běžné, když se hřebec přiblíží k nereceptivním klisnám (Waring 2003). Otáčení hlavou (McDonnell 2003) bylo popsáno jako situace, kdy se kůň orientuje směrem k něčemu nepříjemnému nebo ve snaze vyhnout se tlaku, který může vzniknout ze strany jezdce nebo vodiče. K defekaci může docházet v důsledku stimulace nebo vzrušení, a proto může indikovat stresovou situaci (Waring 2003).

3.2 Stres a kortizol

Stres je popisován jako důsledek nepříznivých vlivů prostředí nebo systémů řízení, které si vynucují změny ve fyziologii nebo chování jedince. Tyto změny zabraňují fyziologickému selhání a tím se pomáhá organismu vyrovnat se s prostředím (Fazio & Ferlazzo 2003). Poprvé popsal stres Hans Selye (1936) a označil ho jako „syndrom vyvolaný různými škodlivými činiteli“. Tyto činitele může představovat například vystavení chladu, chirurgické poranění nebo nadměrné dávky léků. Akutní fázi stresu, která probíhá v řádu minut a hodin, označil jako „celkovou poplachovou reakci“. Chronickou fázi, kdy se jedná například o akutní výzvy nebo podněty přítomné po řadu dní, chápal jako generalizovanou snahu organismu přizpůsobit se novým podmínkám, a tu označil jako „obecný adaptační syndrom“.

Moberg (2000) definuje stres jako biologickou reakci vyvolanou v případě, že jedinec vnímá ohrožení své homeostázy. Termínem stres můžeme označit i nespecifickou adaptační reakci organismu, který se snaží přizpůsobit narušení. Zdroj stresu, stresor, může být skutečný nebo domnělý a může být psychický nebo fyziologický. Souhrn fyziologického úsilí o kompenzaci poruch způsobených stresorem je definován jako alostatická zátěž. Alostatickou zátěž lze kvantifikovat pomocí měření fyzických změn (jako je krevní tlak, srdeční frekvence či procento tělesného tuku) nebo pomocí biochemických koncentrací různých látek (například kortizol, katecholaminy, lipoproteiny s vysokou hustotou, celkový cholesterol aj.) (Russell et al. 2012).

Stres může být také definován jako jakákoli událost, která vede ke zvýšené aktivitě osy HPA (Hellhammer et al. 2009). Podněty z prostředí, které vedou k narušení homeostázy, můžeme definovat jako „stresory“. Odpovídající obrannou reakci zvířete pak můžeme označit jako „stresovou reakci“ (Möstl & Palme 2002). Pojmem *distres* poté můžeme označit biologický stav, kdy má stresová reakce škodlivý vliv na blaho jedince. Tento stav je třeba odlišovat od neohrožující stresové reakce. *Distres* může být důsledkem akutního i chronického stresu. Fyziologické mechanismy využívané těmito dvěma typy stresorů jsou podobné, ale liší se délkou trvání stresoru. Za akutní stres se obvykle považuje relativně krátké vystavení jednomu stresoru. Chronický stres je u většiny zvířat, stejně jako u lidí, důsledkem prožívání řady akutních stresorů, které se kumulují a vedou tak k patologickému stavu (Moberg 2000). Je poněkud obtížné určit přesnou definici stresu. Jedná se o pojem, který podléhá subjektivitě a emotivitě a může se zdát rozptýlený a významově neurčitý (Ralph & Tilbrook 2016).

Zdroje stresu mohou být různé. Patří mezi ně fyziologický stres, stres vyvolaný činností nebo cvičením, psychologický stres, stres vznikající v důsledku patologických stavů, environmentální stres a akutní nebo chronický stres (Cook 2012). Různé formy stresu vyvolávají různé vzorce hormonální odezvy (Miller et al. 2007). Reakce HPA osy na stres se vyvinula, aby pomohla zvířatům vyrovnat se se stresory v přírodě. Zvířata chovaná v zajetí jsou ale často vystavena stresorům, se kterými by se ve volné přírodě nesetkala (např. přeprava) nebo jsou jim vystavena po příliš dlouhou dobu (např. omezující podmínky ustájení) (Cook 2012).

Chronický stres a jeho důsledky

Chronický stres zvyšuje i snižuje aktivitu osy HPA, ale děje se tak v různých obdobích v průběhu ohrožení. Krátce po začátku stresu může dojít k aktivaci osy, což vede ke zvýšení hladiny adrenokortikotropního hormonu (ACTH) a kortizolu. S odstupem času však tělo vyvolává protiregulační reakci, takže se výdej kortizolu vrací pod normální úroveň. K tomuto poklesu většinou dochází s odstupem času a po odstranění podnětu, který stres způsobil. Osa HPA je totiž regulována silným okruhem negativní zpětné vazby. Zvýšené hladiny kortizolu tlumí produkci kortikoliberinu (corticotropin-releasing hormone, CRH) a ACTH v tomto okruhu tím, že působí na glukokortikoidní receptory hypotalamu, hipokampu a hypofýzy. Existuje tedy korelace mezi načasováním a aktivitou osy HPA, přičemž vzdálenější traumata jsou spojena s hypokortizolismem. Naopak stres s nedávným nástupem se vyznačuje zvýšenými hladinami kortizolu (Miller et al. 2007).

Během chronického stresu klesá koncentrace volných mastných kyselin. Při chronickém stresu také klesá tvorba reprodukčních hormonů. K poklesu testosteronu dochází při vysokém riziku predace a sociálních konfliktech. Progesteron klesá rovněž při sociálních konfliktech. Prolaktin se snižuje při zvýšení náročnosti prostředí (Breuner et al. 2013). Chronické stresory vedou k úbytku hmotnosti v období dospělosti (Scheuerlein et al. 2001; Pérez-Tris et al. 2004; Hodges et al. 2006). Chronický stres během březosti a laktace může přímo stresovat matky a způsobovat přenos glukokortikoidů z matky na potomky (Sheriff et al. 2009; Sheriff et al. 2010) anebo může ovlivnit chování rodičů, což může způsobit, že je budou méně krmit (Zanette et al. 2011).

Vystavení chronickému stresu je u lidí spojeno s významně nižšími koncentracemi ranního kortizolu, vyššími koncentracemi odpoledního a večerního kortizolu, plošším denním rytmem a vyšším denním objemem vylučovaného kortizolu. Souhrnně lze říci, že chronický stres je doprovázen dysregulovaným vzorcem sekrece hormonů, s nižším než obvyklým ranním výdejem, ale vyšším než očekávaným výdejem po zbytek dne. Tento vzorec vede ke zploštělému dennímu rytmu. (U zdravých osob, které nejsou vystaveny chronickému stresu, vykazuje kortizol obvykle silný denní rytmus s nejvyššími hodnotami ráno a nejnižšími večer) (Miller et al. 2007).

Dlouhodobý stres negativně ovlivňuje fyzické a behaviorální parametry, které mají význam pro přežití. Dlouhodobá nadprodukce glukokortikoidů, ať už v důsledku dlouhodobého stresu nebo genetické predispozice k hyperaktivitě osy HPA, poškozuje mozkové struktury, zejména hipokampus, které jsou nezbytné pro omezení funkce osy HPA. Takové poškození vede ke zpětnovazebnému okruhu, v němž probíhající stresory vedou k nadprodukcí glukokortikoidů po neomezenou dobu (to se nazývá „hypotéza glukokortikoidní kaskády“). Vysoké koncentrace glukokortikoidů mají schopnost narušovat buněčné funkce způsobem, který může vést k řadě onemocnění. Předpokládá se, že tato nadprodukce glukokortikoidů přímo přispívá k mnoha behaviorálním a fyziologickým následkům spojených s chronickým stresem (Raison & Miller 2003).

Naproti tomu však přibývá údajů, které dokládají, že kromě nadbytku glukokortikoidů může hrát významnou roli při rozvoji a projevech patologie u onemocnění souvisejících se stresem i nedostatečná glukokortikoidní signalizace. Nedostatečnou glukokortikoidní signalizaci definujeme jako jakýkoli stav, kdy signální kapacita glukokortikoidů není dostatečná pro omezení příslušných systémů reagujících na stres, a to buď v důsledku snížené

biologické dostupnosti hormonů (např. hypokortizolismus), nebo v důsledku oslabené reaktivity glukokortikoidů (např. sekundárně snížená citlivosti glukokortikoidních receptorů). Takto definovaná nedostatečná glukokortikoidní signalizace neznámá žádný specifický mechanismus nebo absolutní nedostatek, ale zaměřuje se spíše na konečný bod glukokortikoidní aktivity (Raison & Miller 2003).

3.2.1 Stresová reakce

Stresovou reakci můžeme rozdělit do tří obecných fází: rozpoznání stresoru, biologická obrana proti stresoru a důsledky stresové reakce. Díky poslední fázi stresové reakce můžeme určit, zda zvíře trpí stresem nebo jen prožívá krátkou epizodu ve svém životě, která nebude mít významný dopad na jeho welfare (Moberg 2000).

Stresová reakce zahrnuje aktivaci široké škály behaviorálních a fyziologických reakcí (Smith & Vale 2006). Jakmile CNS vnímá hrozbu, vyvine se biologická odpověď (obrana), která se skládá ze čtyř obecných obranných biologických reakcí: behaviorální reakce, reakce autonomního nervového systému, neuroendokrinní reakce nebo imunitní reakce (Moberg 2000).

V případě mnoha stresorů je první a bezpochyby nejlogičtější reakcí reakce behaviorální. Zvíře se může vyhnout stresoru tím, že se od něj vzdálí, uteče. Druhou obranou je autonomní nervový systém. Tento systém je základem reakce „flight or fight“, kterou popsal Cannon v roce 1929. Během stresu ovlivňuje autonomní nervový systém řadu biologických systémů včetně kardiovaskulárního a gastrointestinálního systému, exokrinních žláz a dřeně nadledvin. Výsledkem jsou změny krevního tlaku, srdečního rytmu a činnosti trávicího traktu (Moberg 2000). Během stresové reakce také dochází ke zvýšení hladiny glukózy (Breuner et al. 2013). Výše zmíněné fyziologické příznaky jsou často spojovány se stresem. Protože však autonomní reakce ovlivňují některé velmi specifické biologické systémy a biologické účinky mají relativně krátké trvání, lze tvrdit, že stresová reakce autonomního nervového systému nemá významný vliv na dlouhodobou pohodu zvířete. Naopak hormony vylučované neuroendokrinním systémem mají, na rozdíl od účinků autonomního nervového systému, široký a dlouhodobý účinek na organismus. Jedná se o hormony hypofýzy, jimiž je regulována například imunitní kompetence reprodukce, metabolismu a chování. (Moberg 2000).

Ústřední roli ve stresové reakci hraje kortikoliberin. Tento vysoce koncentrovaný neuropeptid reguluje osu hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA) (Miller & O'Callaghan 2002; Smith & Vale 2006). Skládá se ze 41 aminokyselin a poprvé ho popsal Vale se spolupracovníky v roce 1981. CRH je primárně odpovědný za iniciaci stresové reakce působením prostřednictvím jednoho ze dvou specifických receptorů na plazmatické membráně, které se nacházejí na kortikotrofech přední hypofýzy. Neurony paraventriculárního jádra hypotalamu syntetizují CRH v reakci na vnější a vnitřní podněty. CRH pak putuje po axonových projekcích těchto neuronů do vnější vrstvy *eminentia mediana*. Jeho následné uvolnění do portální krve řídí zpracování ACTH v kortikotrofech hypofýzy. Kromě v mozku se CRH a jeho receptory nachází i v kůži, srdci a gastrointestinálním traktu (Miller & O'Callaghan 2002). Za normálních okolností při zvýšené

hladině kortizolu klesá hypotalamická sekrece CRH. Díky tomu se snižuje uvolňování ACTH a kortizolu (Miller et al. 2007).

V reakci na stres CRH spouští kaskádu dějů, které vrcholí uvolňováním glukokortikoidů z kůry nadledvin (Smith & Vale 2006). Glukokortikoidy vyvolávají homeostatické procesy v energetickém metabolismu a neurobiologických funkcích (Sapolsky et al. 2000; Miller & O'Callaghan 2002). V důsledku toho se vyvinulo několik mechanismů, které kontrolují aktivaci osy HPA a integrují reakci na stres. Významnou roli při regulaci velikosti a trvání uvolňování glukokortikoidů hraje zpětnovazební inhibice glukokortikoidů. Kromě zpětné vazby glukokortikoidů je osa HPA regulována na úrovni hypotalamu různorodou skupinou aferentních projekcí z limbických jader, jader středního mozku a mozkového kmene. Stresová odpověď je částečně zprostředkována také noradrenergními neurony mozkového kmene, sympatickými arenomedulárními okruhy a parasympatickými systémy (Smith & Vale 2006).

Aktivace HPA osy je jednou z neznámějších a nejkonzistentnějších neuroendokrinních reakcí na stres a vede k sekreci steroidních hormonů z nadledvin (Matteri et al. 2000). Konečným výsledkem aktivace HPA osy je tedy zvýšení plazmatických koncentrací kortikosteroidů (Schwinn et al. 2018). Zvýšená cirkulace nadledvinových glukokortikosteroidů (kortizolu a kortikotropinu) je obecně spojována se stresem.

Kortikosteroidy jsou steroidy odvozené od cholesterolu. Syntetizují se v kůře nadledvin (oblast *zona fasciculata*) pod kontrolou ACTH. ACTH je syntetizován specializovanými buňkami přední hypofýzy, které se nazývají kortikotrofy. Jeho uvolňování je spouštěno koordinovaným působením dvou neuropeptidů, kortikoliberinu (CRH) a vazopresinu (Mormède et al. 2007). Tyto neuropeptidy jsou syntetizovány ve specializovaných neuronech paraventriculárního jádra hypotalamu (PVN). Jsou uvolňovány v kapilárním řečišti *eminetia mediana*, odkud se hypotalamo-hypofyzárním portálním oběhem dostávají přímo do hypofýzy (Tilbrook 2007). PVN dostává četné vstupy z jiných hypotalamických jader, z mozkového kmene, ze subfornikálního orgánu a z limbického systému. Tato četnost signálů sbíhajících se do PVN vysvětluje citlivost osy HPA na širokou škálu podnětů vnitřního i vnějšího původu (Mormède et al. 2007).

Citlivá na stres je i sekrece dalších hormonů. Patří mezi ně například prolaktin, somatotropin, gonadotropiny či hormon stimuluující štítnou žlázu (TSH) (Moberg 2000). Opakované vystavení stejnému stresoru obvykle vede ke ztrátě stresové reakce (Miller & O'Callaghan 2002). Spouštěčem stresové reakce mohou být pozitivní i negativní stavy (Ralph & Tilbrook 2016).

Osa HPA

Osa HPA (obrázek 2) se skládá ze tří hlavních složek – hypotalamu, přední hypofýzy a kůry nadledvin (Tilbrook 2007). V hypotalamu se syntetizuje CRH, který spouští uvolňování ACTH z přední hypofýzy do krve (Spencer & Deak 2017). ACTH je peptid, který je tvořen 39 aminokyselinami. Vzniká proteolytickým štěpením proopiomelanokortinu. (Miller & O'Callaghan 2002). V kůře nadledvin stimuluje ACTH produkci a uvolňování steroidů tím, že podporuje vychytávání cholesterolu a jeho enzymatickou přeměnu na glukokortikoidní hormony, kortizol a kortikosteron. Kortizol je hlavním glukokortikoidem u lidí, většiny savců a ryb. U ptáků a hlodavců je primárním glukokortikoidem kortikosteron (Matteri et al. 2000;

Mormède et al. 2007; Spencer & Deak 2017). Mezi hlavní produkty osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny patří sérový kortizol a plazmatický ACTH (Contalbrigo et al. 2021). Osa HPA je regulována hypofyziotropními neuropeptidy, které jsou syntetizovány v paraventriculárních jádrech hypotalamu, jak již bylo zmíněno výše. U všech studovaných druhů savců tyto neurony vylučují CRH (Tilbrook 2007). Kortizol navíc působí na osu negativní zpětnou vazbou, a to působením na kortikotrofy hypofýzy, PVN a vyšší úrovně v CNS. Toto zpětnovazebné působení kortizolu se podílí na návratu aktivity osy HPA na bazální úroveň po stimulaci (Manteuffel 2002).

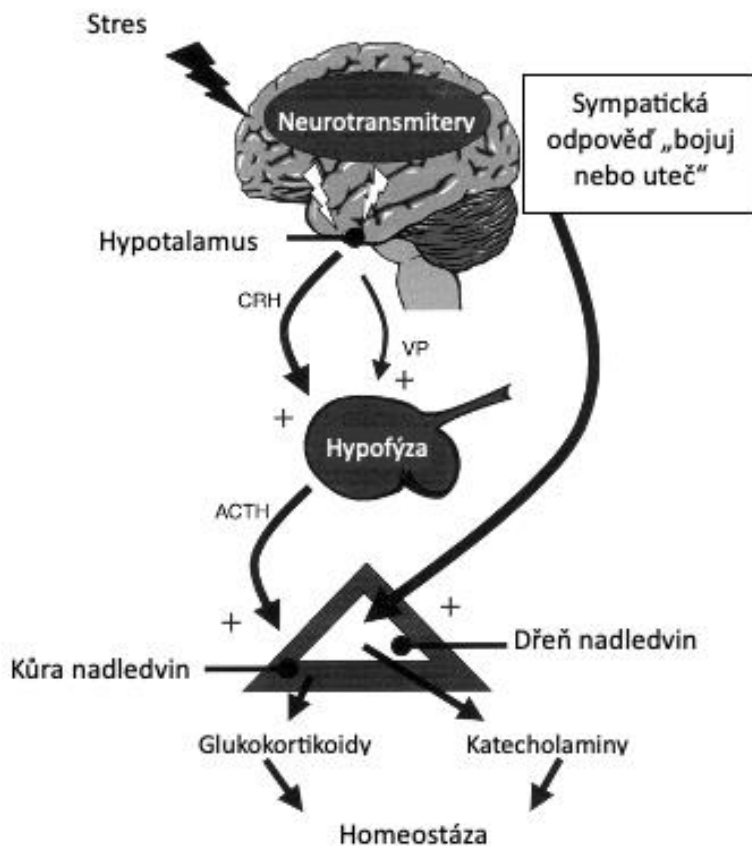
Druhá důležitá osa je osa SAM, která se skládá ze sympatického nervového systému a nadledvinek. Produktem této osy jsou katecholaminy (adrenalin, noradrenalin a dopamin) vylučované do krve (Sawchenko et al. 2000; Contalbrigo et al. 2021). Katecholaminy iniciují činnost sympatoadrenálního systému, který vyvolává rychlou nervovou, endokrinní, behaviorální a svalovou aktivitu v celém těle. Katecholaminy dále zvyšují srdeční výdej, rychlost dýchání a přerozdělují průtok krve do plicních orgánů a orgánů nezbytných pro vytvoření reakce na stresor (Sawchenko et al. 2000). Sympatická složka sympatoadrenálního systému se skládá z pregangliových neuronů, které vystupují z míchy do ganglií, kde se synapticky spojují s postgangliovými neurony, které vystupují do cílových tkání a inervují je (Turner et al. 2012).

Obě tyto výše zmíněné osy se aktivují při reakci na stresové podněty (Contalbrigo et al. 2021). Na aktivitu osy HPA má vliv i sociální prostředí a stres vyvolaný sociálními interakcemi (Heimbürge et al. 2019). Dysregulace HPA osy může mít nepříznivé zdravotní důsledky. Patří mezi ně například ukládání viscerálního tuku a kardiovaskulární onemocnění (Miller & O'Callaghan 2002).

Směr a velikost reakce HPA osy se řídí emocemi vyvolanými danou situací. Emoce představují psychologický mechanismus spojující stresory s biologií. Jsou tak nejsilnějším faktorem určujícím změny funkcí HPA. Jednou z emocí, která je v této souvislosti opakovaně diskutována, je **stud**. Ve studiích, v nichž jsou subjekty vystaveny akutnímu stresu v laboratorním prostředí, se míra reaktivity kortizolu lineárně zvyšuje s rostoucím studem (Dickerson & Kemeny 2004; Gruenewald et al. 2004). Druhou emocí jsou **pocity ztráty**. Bylo prokázáno, že životní stres zahrnující velkou ztrátu, předpovídá vznik těžké deprese (Kendler et al. 2003). Příčinou je aktivace osy HPA k trvalému vylučování kortizolu (Nicolson 2004; Meinlschmidt & Heim 2005). Další důležitý rozměr chronického stresu, který ovlivňuje reaktivitu osy HPA, je **schopnost kontroly** (Heim et al. 2000). V souvislosti s akutním stresem zesiluje nekontrolovatelnost sekreci kortizolu, a to jak u lidí, tak u zvířat (Dickerson & Kemeny 2004). Při silnějším a déle trvajícím stresu má však nekontrolovatelnost za následek sníženou aktivitu HPA (Heim et al. 2000; Mason et al. 2001; Gold & Chrousos 2002). Naopak může jít i o projev fyzického zocelení, ke kterému dochází, když člověk nemůže uniknout z obtížné situace (Gunnar & Vazquez 2001). Posledním faktorem je, že velikost a směr reakce osy HPA určují spíše psychiatrické důsledky chronického stresu než vlastnosti stresu samotného. Výzkum například naznačuje, že pokud se u osoby vystavené traumatu vyvine posttraumatická stresová porucha, je pravděpodobné, že se u ní projeví i hypokortizolismus (Miller et al. 2007). Naproti tomu deprese po traumatu je spojena se zvýšeným výdejem kortizolu (Raison & Miller 2003). I když se u oběti traumatu

nerozvine plnohodnotný psychiatrický stav, výzkum naznačuje, že rozsah subjektivního stresu je pozitivně spojen s aktivací osy HPA (Davis et al. 2004).

Modifikaci osy HPA na následné stresory lze částečně vysvětlit modifikací behaviorální reaktivity zvířat. Existují důkazy, že chronicky stresovaná zvířata nereagují na své prostředí jako zvířata normální (nestresovaná). Byly zaznamenány případy zvýšené reaktivity chování a naopak apatie u telat vystavených sociální nestabilitě. Tyto opačné výsledky jsou způsobeny mírou kontroly, kterou může mít zvíře nad svým prostředím (Boissy et al. 2001).



Obrázek 2: Schéma hlavních složek osy HPA (Matteri et al. 2000)

3.2.2 Kortizol

Kortizol je steroidní hormon patřící mezi glukokortikoidy. Je produkován kůrou nadledvin (Reece 2011). Glukokortikoidy hrají důležitou roli v glukoneogenezi tím, že stimuluji játra k přeměně tuků a bílkovin na intermediární metabolity, které se nakonec přeměňují na glukózu pro získání energie. Glukokortikoidy také podporují tuto reakci tím, že potencují syntézu a působení adrenalinu, katecholaminu uvolňovaného dření nadledvinek během stresové reakce. Adrenalin stimuluje glukoneogenezi a lipolýzu, které mobilizují energetické zásoby pro intenzivní aktivitu „boj nebo uteč“ (Matteri et al. 2000). Glukokortikoidy tedy mají vliv na metabolismus sacharidů a tuků (Reece 2011). Pro udržení homeostázy je nezbytné udržovat dostatečnou, ale ne nadměrnou, koncentraci glukokortikoidů. Glukokortikoidy také chrání organismus před rozvojem některých poruch souvisejících se stresem (Raison & Miller 2003). Chronické zvýšení glukokortikoidů vede ke

katabolismu bílkovin, hyperglykémii, potlačení imunity, náchylnosti k infekcím a depresi (Matteri et al. 2000). Glukokortikoidy kromě metabolismu ovlivňují i růst a reprodukci (Breuner et al. 2013).

Sekrece glukokortikoidů je regulována z adenohypofýzy adrenokortikotropním hormonem. Sekrece ACTH je ovlivněna koncentrací volného plazmatického kortizolu – jeho nízká hladina stimuluje sekreci ACTH. Sekrece ACTH se může zvýšit i při stresu, čímž se také zvyšuje koncentrace glukokortikoidů (Reece 2011).

Kortizol může působit na omezení své vlastní syntézy prostřednictvím mechanismu negativní zpětné vazby na hypotalamus a hypofýzu. Po dosažení cílové buňky volný kortizol difunduje přes buněčnou membránu a váže se na cytoplazmatický glukokortikoidní receptor. Tento komplex ligand-receptor se přemisťuje do jádra, kde se váže na elementy glukokortikoidní odpovědi a ovlivňuje transkripci cílových genů (Tsigos & Chrousos 2002; Miller et al. 2007).

Za bazálních podmínek (když organismus není ve stresu) se glukokortikoidy uvolňují s výrazným cirkadiálním rytmem (Spiga et al. 2014). Obecně platí, že u denních živočichů dochází k vrcholu hladiny glukokortikoidů ke konci období tmy, zatímco u nočních druhů je vrchol ke konci období světla. U denních druhů (včetně většiny hospodářských zvířat) je vrchol pozorován ráno a nejnižší hladiny jsou během večera a noci (Mormède et al. 2007; Otovic & Hutchinson 2015). U denních savců existuje inverzní vztah mezi cirkadiálními rytmy plazmatického kortizolu a melatoninu, přičemž začátek klidového období produkce kortizolu je vázán na začátek produkce melatoninu (Weibel & Brandenberger 2002). Sekrece melatoninu je nejvyšší v době tmy, klesá brzy ráno a zůstává nízká během dne. Naproti tomu 24hodinový vzorec plazmatické koncentrace kortizolu dosahuje vrcholu brzy ráno, odpoledne klesá a zůstává nízký po většinu noci. Při absenci světla však hladiny melatoninu zůstávají zvýšené. Naproti tomu hladiny kortizolu vykazují 24hodinovou rytmicitu i při absenci světla (Murphy et al. 2011).

Za bazálních podmínek cirkuluje v krvi 80 až 90 % glukokortikoidů vázaných na proteiny, především na globulin vázající kortikosteroidy (corticosteroid-binding globulin, CBG) a v menší míře na albumin (Breuner et al. 2003). CBG váže glukokortikoidy s vysokou afinitou a nízkou kapacitou, zatímco albumin váže glukokortikoidy s nízkou afinitou a vysokou kapacitou (Breuner & Orchinik 2002).

CBG je specifický transportní protein pro sérový kortizol (Beishuizen et al. 2001). Vzniká v játrech a jeho tvorba může být zvýšena v reakci na syntézu glukokortikoidů (Ralph & Tilbrook 2016). CBG se vyskytuje v různých tkáních, především v plazmě. Podílí se na kontrole vychytávání kortikosteroidů buňkami a může regulovat přístup glukokortikoidů do tkání (Beishuizen et al. 2001; Breuner et al. 2013). Kromě své klasifikační úlohy při kontrole množství volných kortikosteroidů v krvi působí jako biologicky významný signál. CBG slouží jako snadno dostupná zásobárna kortizolu. Další funkcí je například usnadnění vstupu steroidů do buňky (Beishuizen et al. 2001). CBG lze považovat za prostředek k „uzamčení“ glukokortikoidů v oběhovém systému. Glukokortikoidy se tak stávají biologicky neaktivní (Breuner et al. 2013).

Glukokortikoidy jsou považovány za biologicky neaktivní, pokud jsou vázány na proteiny, protože pouze nevázané, neboli volné, glukokortikoidy jsou schopny migrovat z krve do nitrobuněčného prostředí a navázat se na receptory (Ralph & Tilbrook 2016). Proto je

při studiu biologického působení glukokortikoidů důležité rozlišovat mezi volnou a vázanou frakcí (Perogamvros et al. 2012). Vazba glukokortikoidů na bílkoviny je mechanismus zajišťující transport a ochranu steroidů (Sapolsky et al. 2000). Glukokortikoidy vázané na CBG se však mohou z CBG uvolnit a zpřístupnit (Ralph & Tilbrook 2016).

U mnoha druhů existuje cirkadiální rytmus v produkci CBG, který reguluje koncentrace volných glukokortikoidů během dne. Syntéza CBG může být také zvýšena v reakci na stresory (Ralph & Tilbrook 2016). Hladiny CBG nejsou konstantní a mohou se měnit vlivem několika faktorů, mezi které patří věk, strava a akutní či chronický stres (Bohák et al. 2013). Různé stresory mohou ovlivňovat hladiny CBG buď jejich zvýšením, nebo snížením v reakci na akutní nebo chronický stres (van der Kolk et al. 2016). Některé stavy vedou ke zvýšení CBG, např. estrogenová terapie či lymfoproliferativní malignity. Naopak hladiny CBG nejsou relativně ovlivněny stavem podvýživy (Beishuizen et al. 2001). Vyvolání sociálního stresu snižuje vazebnou kapacitu CBG a zvyšuje hladinu volného kortizolu v séru, aniž by se změnila celková koncentrace kortizolu v plazmě (Bohák et al. 2013). Ke zvýšení koncentrace volného kortizolu dochází také například u kriticky nemocných pacientů (Beishuizen et al. 2001). Během 5minutového stresu dochází k významnému zvýšení kapacity CBG. Po zahájení působení stresoru játra vypouštějí CBG do plazmy, čímž se vazebná kapacita zvyšuje až o 50 %. Toto zvýšení CBG tlumí tkáň před obrovským nárůstem celkových glukokortikoidů a oddaluje nárůst volných glukokortikoidů až o 30 minut (Qian et al. 2011). Nelze vyloučit, že koncentraci CBG a vazebnou kapacitu mohou ovlivňovat i jiné faktory než výše uvedené, což vede k výkyvům volné a celkové hladiny kortizolu v plazmě (Bohák et al. 2013).

Změny v produkci CBG mohou významně modulovat účinek kortikosteroidů. Glukokortikoidy mají inhibiční účinek na produkci CBG, čímž zvyšují výdej volného kortizolu do periferních tkání i jeho koncentraci (Beishuizen et al. 2001). Zjednodušeně lze říci, že menší množství CBG vede k vyšší aktivitě glukokortikoidů. Díky tomu se do plazmy dostává více volných glukokortikoidů (Breuner et al. 2013). Vzhledem k měnícím se koncentracím CBG je nepravděpodobné, že by měření celkového kortizolu přesně odráželo plazmatický profil volného hormonu a skutečnou hypofyzárně-adrenální aktivitu, zejména při nízkých koncentracích CBG (Beishuizen et al. 2001). Koncentrace volných glukokortikoidů se může měnit nezávisle na celkové koncentraci glukokortikoidů. Změny ve vazebné afinitě CBG ovlivňují množství volných glukokortikoidů v plazmě (Picard-Hagen et al. 2000; Breuner & Orchinik 2002). Pouze volný kortizol je však biologicky aktivní a může regulovat metabolické a imunologické procesy (Beishuizen et al. 2001; Schwinn et al. 2018). Pomocí indexu volného kortizolu (FCI) lze snadno získat nepřímý údaj o nevázané frakci kortizolu. Volná frakce kortizolu působí v cílových buňkách, kde iniciuje hormonální účinky (Beishuizen et al. 2001).

Změny v koncentracích CBG jsou rozdílné napříč různými druhy živočichů. U druhů, u nichž CBG v průběhu působení stresoru rychle klesá, by pokles CBG měl posílit biologické účinky stresové reakce zvýšením množství hormonu, které se dostane do tkání. U druhů, které vykazují opožděný pokles CBG (24 hod), se zdá být pravděpodobnější, že funkce poklesu připravuje zvíře k rychlejší reakci volných glukokortikoidů na následné stresory. Ačkoli by to záviselo také na tom, zda se změní celková reakce glukokortikoidů na následné stresory. Druhy, které nevykazují žádné krátkodobé změny CBG v reakci na stres, mohou mít hladiny

glukokortikoidů pod přísnější kontrolou, možná v důsledku ekologických tlaků, které upřednostňují sníženou reaktivitu na stresory (Breuner et al. 2013).

Afinita CBG ke glukokortikoidům vykazuje vysokou teplotní citlivost. Se zvyšující se tělesnou teplotou afinita CBG ke glukokortikoidům klesá (Cameron et al. 2010). Afinita je měřítkem toho, jak silně se hormon váže na svůj receptor. I malé změny afinity mohou mít velký vliv na množství navázaného hormonu. V případě CBG znamená vysoká afinita to, že se váže více přítomného hormonu. Zatímco nižší afinita znamená, že se váže méně přítomného hormonu. Proto se při nízkých tělesných teplotách (např. v noci u denních druhů) více glukokortikoidů přítomných v plazmě váže na CBG a méně vstupuje do tkání. Při vysokých tělesných teplotách (např. při horečce) se na CBG váže méně glukokortikoidů a do tkání jich vstupuje více (Breuner et al. 2013).

Glukokortikoidy jsou úzce spjaty s funkcí imunitního systému. Zpočátku zvyšují zánětlivé reakce a později je potlačují. V případech, kdy zánět lokálně zvyšuje teplotu, může CBG v daném místě lokálně uvolňovat glukokortikoidy a dále aktivovat imunitní funkci. Při déletrvajících horečkách však může větší přístup glukokortikoidů ke tkáním inhibovat imunitní funkci, čímž se přerušuje poškození tkání a výdej energie (Breuner et al. 2013).

3.2.3 Kortizol u koní

Kortizol v krvi i slinách vykazuje cirkadiální rytmus (van der Kolk et al. 2001; Murphy et al. 2011; Cordero et al. 2012). Nejvyšší koncentrace slinného kortizolu u koní je ráno a postupně během dne klesá. V průběhu celého roku byly nejvyšší koncentrace kortizolu naměřeny během prosince (měření probíhalo od prosince do května) (Aurich et al. 2015). Kortizol hraje významnou roli v energetickém metabolismu a v reakci na stres. Proto by tyto sezónní výkyvy u koní mohly vznikat v očekávání změn v dostupnosti potravy a energetických nároků, ke kterým dochází v podzimních a zimních měsících (Cordero et al. 2012). Pohlaví a věk koní nemá žádný vliv na koncentraci kortizolu ve slinách (Aurich et al. 2015). Avšak u starších koní byly zjištěny menší výkyvy v koncentracích kortizolu (Cordero et al. 2012). Koncentrace kortizolu v séru se také může měnit v reakci na stresující podmínky prostředí, jako je nadměrné teplo, chlad nebo vlhkost (Williams et al. 2002). Cirkadiální rytmus kortizolu může být narušen, pokud se změní denní režim koní (Cayado et al. 2006; Schmidt et al. 2010a). Cirkadiální rytmus kortizolu může být například ovlivněn krměním (Mormède et al. 2007). Vliv na změny v sekreci kortizolu může mít i stresová reakce na odběr vzorků, očekávání potravy, cvičení nebo změna prostředí (Cordero et al. 2012).

Ukazatelem dlouhodobého stresu může být kortizol získaný z koňské srsti (Heimbürge et al. 2019). Kortizol se v srsti hromadí v reakci na ACTH, a proto může být používán jako zpětný indikátor okolností, které zahrnují aktivaci osy HPA (González-de-la-Vara et al. 2011). Přestože koně neprojevují behaviorální známky stresu, mohou být stresováni, což lze odhalit právě díky koncentraci chlupového kortizolu (Hair Cortisol Concentration, HCC) (Jolivald et al. 2023). Vyšší hladiny HCC byly například naměřeny u novorozeneých hříbat ve srovnání s hříbaty ve věku 30 nebo 60 dnů (Comin et al. 2012; Montillo et al. 2014). Koncentrace chlupového kortizolu závisí i na lokalizaci odběru vzorku, barvě srsti, věku jedince či skutečnosti, zda je jedinec kastrován (Zhao et al. 2003; Van Uum et al. 2008; Duran et al. 2017; Lelláková et al. 2022).

Tyto rozdíly v koncentraci kortizolu v srsti na základě zbarvení či lokalizace byly zkoumány i u dalších zvířat. Například u holštýnských krav se v bílé srsti ukládá větší množství kortizolu než v černé (González-de-la-Vara et al. 2011). Davenport et al. (2006) ve své studii na opicích makak rhesus nezjistili rozdíl v koncentraci kortizolu v proximální a distální části chlupového stvolu. Důvodem může být ustájení subjektů ve stabilních podmínkách ustájení bez vystavení stresující manipulaci. Průměrná adrenokortikální aktivita v průběhu dnů a týdnů mohla být u každého jedince dostatečně konzistentní, aby poskytla relativně stabilní míru ukládání kortizolu do chlupového stvolu.

HCC poskytuje informace o chronické aktivitě HPA osy bez vlivu krátkodobých výkyvů způsobenými cirkadiálním rytmem nebo akutními stresory (Meyer & Novak 2012; Russell et al. 2012). Změna v hladině v kortizolu je v srsti pozorována s 15 až 20 denním zpožděním oproti kortizolu v plazmě (Russell et al. 2012). Nejvyšší koncentrace chlupového kortizolu byly u koní naměřeny na podzim a v létě bez ohledu na to, v jakém typu ustájení koně pobývali (Mazzola et al. 2021).

3.2.4 Funkce a význam kortizolu

Kortizol hraje klíčovou roli v centrálním nervovém systému, kde se podílí na učení, paměti a emocích. Dále v metabolickém systému, kde reguluje ukládání a využití glukózy. A v neposlední řadě v imunitním systému, kde reguluje velikost a trvání zánětlivých reakcí a zrání lymfocytů (Sapolsky et al. 2000). Kortizol snižuje vstup glukózy do buněk a zvyšuje sekreci glukózy v krvi a inzulinu. Kombinace zvýšeného kortizolu a inzulinu vede k ukládání energie ve formě tuku v tukové tkáni (pokud není energie využita v reakci na stres, například k úpravě chování). Výsledným efektem je nárůst tukových zásob na úkor tkáňových bílkovin. Kortizol také zvyšuje příjem potravy působením na mozek, takže zvýšení dostupnosti energie je koordinovaný proces prostřednictvím periferních a centrálních mechanismů (Mormède et al. 2007).

Vystavení stresorům je běžně spojeno se zvýšenou aktivitou HPA osy, a proto se odpověď kortizolu obecně považuje za indikátor stresu (Sapolsky et al. 2000; Novak et al. 2013). Při používání koncentrace kortizolu jako markeru stresu je třeba vzít v úvahu i fakt, že zvýšená aktivita HPA osy může být způsobena metabolickými procesy, pozitivními afektivními stavy, pářicím chováním nebo fyzickou aktivitou (Mormède et al. 2007; Ralph & Tilbrook 2016). Pozitivní afektivní stavy, jako je vzrušení, odměna a očekávání, mohou vyvolat zvýšenou syntézu katecholaminů a glukokortikoidů. Stejně tak negativní afektivní stavy (např. úzkost, strach a bolest) mohou vyvolat zvýšenou aktivitu osy HPA (Ralph & Tilbrook 2016). Hodnocení afektivních stavů, a to jak pozitivních, tak negativních, je jedním z přístupů k hodnocení welfare zvířat (Berridge & Kringelbach 2013; Hemsworth et al. 2015). Odchylky kortizolu v obou směrech (tedy jeho zvyšování i snižování) může být považováno za potenciálně škodlivé. To, zda je pokles či zvýšení patogenní, závisí na stavu organismu (Miller et al. 2007).

Široká škála různých stresorů spojených s ustájením, managementem a manipulací se zvířaty zvyšuje aktivitu HPA osy, což se může projevit zvýšenou koncentrací chlupového kortizolu, zejména pokud období prožívání stresu trvá v řádu týdnů až měsíců (Heimbürge et al. 2019). Koncentrace kortizolu v srsti koreluje s koncentracemi kortizolu ve slinách

(Davenport et al. 2006; Meyer & Novak 2012). Je tomu tak proto, že látky přenášené krví mohou difundovat z kapilár do buněk chlupového folikulu a následně se ukládat do chlupového stvolu. Tato difúze je zesílena vysokou rozpustností lipidů a nízkou vazbou proteinů, což naznačuje přednostní ukládání nevázaných molekul analytu ve srovnání s molekulami vázanými na proteiny. Z tohoto důvodu by měly koncentrace steroidů měřené v chlupech, stejně jako koncentrace měřené ve slinách, odrážet volnou neboli nevázanou frakci steroidů přítomnou v oběhu. Prakticky každá látka, kterou lze nalézt v krvi, může být také vylučována v potu a kožním mazu, přičemž obě tyto látky se obvykle dostávají na povrch chlupů (Davenport et al. 2006).

3.2.5 Způsoby stanovení hladiny kortizolu u koní

Kortizol můžeme získávat z krve, slin, moči a stolice. Kortizol se v těchto ukazatelích odráží se zpožděním několika minut až dvou dní (Meyer & Novak 2012; Cook 2012; Novak et al. 2013). Při odběru vzorků pro stanovení hladiny kortizolu může být problematický stres spojený s manipulací se zvířaty a jejich znehybněním, zejména při tradičních technikách odběru krve. Stres může způsobit aktivaci osy HPA a zkreslit tím výsledky měření (Novak et al. 2013). Ve snaze minimalizovat stres u zvířat během odběru vzorků byla vyvinuta řada technik. Například přivykání na odběr vzorků krve, měření kortikosteroidů jinak než z krve – například ze slin, trusu nebo moči či využívání různých specifických zařízení na odběr krve (Cook et al. 2000).

Pro zjištění hladiny kortizolu v krvi se odebírá krev z jugulární žíly do speciální zkumavky. Krev se poté centrifuguje po dobu 20 minut a zmrazí se v polypropylenových zkumavkách (Aurich et al. 2015). Sérový kortizol je možné analyzovat pomocí automatického chemiluminiscenčního imunoanalytického systému (např. Immulite), stejně tak plazmatický ACTH. Plazmatické katecholaminy (adrenalin, noradrenalin a dopamin) lze analyzovat pomocí metody ELISA (Contalbrigo et al. 2021). Vzorky plazmy, zejména s vysokou koncentrací kortizolu, se nesmějí dlouhodobě skladovat při pokojové teplotě. Také vzorky, které se nechají před zpracováním dlouho rozmrazovat, mohou mít nižší koncentraci kortizolu než v době odběru. Vzorky by se neměly několikrát rozmrazovat a zmrazovat (Mormède et al. 2007).

Problémem odběru vzorků krve je určité fyzické omezení zvířete a případná nutnost sedace, pokud zvíře nemá zavedený žilní katétr nebo není na odběr krve navyklé (Coleman et al. 2008). Další nevýhodou je, že kortizol získaný z plazmy nebo séra odráží pouze stresovou reakci v určitém okamžiku. Je tedy často nutné získat několik vzorků ve stejném časovém bodě v průběhu několika dní. Vyhodnocení také komplikuje cirkadiální rytmus hladin kortizolu, který může vzorky zkreslovat (Sánchez et al. 2005). Hladiny kortizolu naměřené z plazmy zahrnují volný i vázaný kortizol, což může opět zkreslovat výsledky (akutní i chronický stres může měnit cirkulující koncentrace CBG) (Beishuizen et al. 2001; Davenport et al. 2008). Jednou ze zřejmých výhod odběru krve, pokud je prováděn za dobrých podmínek, je to, že umožňuje přístup nejen k hladinám glukokortikoidů a ACTH, ale také k informacím o biologických ukazatelích aktivace osy HPA (změny hladin glukózy nebo počtu a vzorce bílých krvinek) a dalších biologických systémů citlivých na stres, jako je autonomní nervový systém (např. stanovení katecholaminů) (Mormède et al. 2007).

Slinný kortizol se odebírá pomocí bavlněného tamponu, který se vloží do huby koně, kde se ponechá jednu minutu, dokud nenasákne slinami. Sliny se poté centrifugují po dobu deseti minut. Poté se vzorek přenesení do polypropylenových zkumavek a zamrazí se. Takto se uchovává až do analýzy (Aurich et al. 2015). Kortizol získaný ze slin je, stejně jako kortizol z krve, bodovým vzorkem, který podléhá cirkadiálním výkyvům. Výhodou slinného kortizolu oproti plazmatickému či sérovému je, že odráží biologicky aktivní volnou frakci. Změna koncentrace kortizolu se ve slinách projevuje o 20-30 minut později než v krvi (Peeters et al. 2011). Také jeho odběr je pro zvířata méně invazivní a snadněji si na něj zvyknou (Novak et al. 2013). Kortizol ve slinách je relativně stabilní a může být ponechán při pokojové teplotě několik hodin až dní. Růst bakterií ve vzorku však nevyhnutelně vede k degradaci, proto je nejvhodnější vzorek co nejdříve po odběru zmrazit (Cook 2012).

Méně invazivní než odběr krve a slin je odběr moči. Z moči je možné získat pouze volný kortizol (Otvic & Hutchinson 2015). Močový kortizol odráží produkci nadledvinek z období několika hodin až celého dne, ale stále může být ovlivněn cirkadiálním rytmem. Na rozdíl od plazmy nebo slin však hladiny kortizolu v moči nepodléhají potenciálnímu stresu při odběru vzorku, ani nejsou ovlivněny náhodnými stresovými událostmi, ke kterým došlo krátce před odběrem vzorku (Novak et al. 2013). Močový kortizol vykazuje úzkou lineární korelaci s nevázaným plazmatickým kortizolem (Mormède et al. 2007). Vzorky moči je potřeba co nejdříve po odběru zmrazit, aby se zabránilo množení bakterií (Cook 2012). V moči lze měřit i další parametry, včetně katecholaminů a jejich metabolitů (Mormède et al. 2007), což umožňuje komplexnější zkoumání neuroendokrinních adaptačních procesů (Hay et al. 2001).

Časový rámec odrážející hladiny kortizolu ve stolici se liší v závislosti na druhu zvířete, dostupnosti potravy a rychlosti vyprazdňování. Kortizol ve stolici může být dále ovlivněn denní dobou, pohlavím, věkem, ročním obdobím a reprodukčním stavem zvířat (Touma & Palme 2005). Existuje pozitivní korelace mezi hladinami plazmatického kortizolu a metabolity kortizolu ve stolici. Hladiny fekálního kortizolu tedy mohou být srovnatelným ukazatelem hladiny plazmatického kortizolu u koní (Pawluski et al. 2017). Výhodou této metody je, že je neinvazivní, nezpůsobuje znatelný stres a nepodléhá tolik cirkadiálním vlivům (Otvic & Hutchinson 2015). Je však nezbytné, aby nedošlo ke smíchání vzorku trusu s močí. V moči je mnohem vyšší koncentrace glukokortikoidů než v trusu a mohlo by tak dojít ke zkreslení výsledků (Möstl & Palme 2002). Vzorky trusu je nezbytné okamžitě zmrazit a až do analýzy uchovávat při teplotě -20 °C. Podíl metabolitů kortizolu ve výkalech u koní je zhruba 41 % (Mormède et al. 2007).

Nejméně invazivní metodou je poté odběr chlupového kortizolu (Heimbürge et al. 2019). Při odběru vzorků pro určování koncentrace kortizolu v srsti je důležité odebírat vzorky u všech zkoumaných subjektů ze stejného místa. Srst by se měla stříhat nebo holit těsně u kůže, nikoli vytrhávat. Dobré je před prvním odběrem vzorků místo odběru oholit a použít vzorky až z druhého holení (metoda shave-reshave). Chlupy z prvního vzorku mohou vyrůstat postupně a obsahují tak kortizol z různých časových období (Meyer & Novak 2012). Někdy se vzorky chlupů před zpracováním myjí, což může odstranit určité procento kortizolu obsaženého v chlupcích (Davenport et al. 2006; Gow et al. 2010). Na druhou stranu je prokázáno, že dvě krátká mytí isopropanolem odstraní ze srsti pouze 5-10 % celkového obsahu kortizolu (Davenport et al. 2006).

Vzorky chlupů se po umytí a vysušení (pokud se provádí) rozmělní na malé, cca 1 mm velké, částičky nebo se rozdrťí na prášek (Davenport et al. 2006). Kortizol se poté z chlupů získává pomocí methanolu, který snadno rozpouští steroidní hormony, mezi které patří právě kortizol. Poté se analyzuje obsah kortizolu například pomocí enzymové imunoanalýzy a jiných metod (Meyer & Novak 2012). Kortizol je v neporušených chlupech stabilní po dobu nejméně jednoho roku, pokud je uchováván při pokojové teplotě (González-de-la-Vara et al. 2011). Výhodou kortizolu získaného ze srsti je, že vzorky nejsou ovlivněny denní dobou ani stresem spojeným s odběrem vzorků (Novak et al. 2013).

Existuje korelace mezi koncentrací kortizolu v srsti a ve slinách. Typické bodové odhady získané měřením v plazmě nebo slinách jsou přinejmenším z části způsobené stejnými základními konstitutivními rozdíly v hypofyzárně-adrenokortikální aktivitě, které přispívají k hodnotám získaných při odběru vzorků ze srsti. Dalším pravděpodobným faktorem tohoto vztahu je skutečnost, že se předpokládá, že chlupy, stejně jako sliny, obsahují pouze volnou (nevázanou) frakci kortizolu z krevního oběhu. Právě volná frakce je obecně považována za biologicky aktivní. To také znamená, že koncentrace kortizolu v srsti i slinách mohou být ovlivněny nejen změnami v adrenokortikální sekreci, ale také v cirkulujícím CBG (Davenport et al. 2006).

3.3 Sekrece kortizolu u koní v hiporehabilitaci

McDuffee et al. (2022) zjistili, že hladina kortizolu u koní se zvýšila při nasedání a sesedání z koně. Hladina kortizolu před terapií, během ní a po ní se nijak výrazně neměnila. Výzkum byl prováděn během lekcí terapeutického ježdění na koni určených pro klienty s mentálním a vývojovým postižením. Do studie se zapojili 4 koně, kteří se účastnili lekcí 1 až 3 dny v týdnu po dobu 8 týdnů. Každý kůň absolvoval maximálně 3 lekce denně. Každá lekce trvala přibližně 40 minut. Jako měřítko stresu během výchozího stavu, nasedání a sesedání byly analyzovány výsledky chování, měření slinného kortizolu a variability srdeční frekvence. Skupinu jezdců tvořilo 12 jedinců s mentálním a vývojovým postižením. Koně, kteří se účastnili terapeutického ježdění vykazovali fyziologické a behaviorální známky stresu během některých částí programu, zejména při nasedání a sesedání jezdců. Jezdci v tomto programu měli různá kognitivní a fyzická omezení. Tato omezení způsobovala těžkopádné pokusy o nasedání a sesedání a vyžadovala adaptivní postupy nasedání a sesedání, což mohlo vést ke stresovým projevům u koní.

Contalbrigo et al. (2021) porovnávali behaviorální a fyziologické ukazatele stresu u koní, využívaných v hipoterapiích u dětí s poruchou autistického spektra (PAS) a u koní využívaných u normálně se vyvíjejících dětí. Studie se zúčastnilo celkem 19 koní a 38 dětí. Na každém z koní jezdilo jak zdravé dítě, tak dítě s PAS. Všechna sezení probíhala odpoledne v zimním období, aby se snížilo zkresení způsobené prostředím a cirkadiálními vlivy. Koním byla odebírána krev z jungulární žíly a sliny deset minut před začátkem a deset minut po skončení terapie. Po celou dobu sezení byl také pořizován kamerový záznam včetně fotografických snímků v určitých fázích sezení. Po celou dobu byla měřena i srdeční frekvence. Behaviorální reakce koní byly posuzovány na základě etogramu, který byl vytvořen za účelem identifikace stresového chování u koní. Byly v něm položky jako například frkání, kývání hlavou, švihání ocasem nebo sklopení uší k hlavě. Výsledky ukazují,

že hladina kortizolu byla ve fyziologickém rozpětí. Ve fyziologickém rozpětí byly i změny ACTH a katecholaminů. Nebyly zaznamenány žádné rozdíly v hladinách kortizolu při sezeních s dětmi s poruchou autistického spektra a s dětmi normálně se vyvíjejícími. Jediným rozdílem byl významně menší nárůst adrenalinu během sezení s dětmi s PAS, což má za následek menší rozrušení během hipoterapie. U koní zapojených do terapií s dětmi s PAS byl také pozorován nižší sympatický tonus. Koně vykazovali behaviorální známky stresu ve fázi nasedání a sesedání nezávisle na chování dětí. Jinak nebyly zaznamenány výrazné rozdíly v chování mezi jednotlivými skupinami.

Fazio et al. (2013) zkoumali, zda je terapeutické ježdění pro koně více stresující než rekreační ježdění. U šesti koní byla hodnocena reakce osy HPA sledováním cirkulujících koncentrací β -endorfinu, ACTH a kortizolu. Koně byli zvyklí být trénováni jak pro terapeutickou činnost, tak pro činnost v jezdecké škole. Intervence se skládala z šedesátiminutových terapeutických sezení, dvakrát týdně po dobu 6 týdnů s různými jezdci – handicapovanými a rekreačními. Skupinu terapeutických jezdců tvořilo šest dětí s psychomotorickým postižením. Rekreační skupina byla složena ze šesti zdravých dětí bez předchozí zkušenosti s jízdou na koni. Z hlediska fyzické náročnosti byla obě sezení pro koně stejně náročná. Vzorky krve byly odebírány z krční žíly pomocí zavedeného katetru před zahájením sezení a 5 a 30 minut po každém sezení. Výzkum ukázal, že hladina kortizolu byla nižší po sezení s dětmi s psychomotorickým postižením než po sezení se zdravými dětmi. Koncentrace β -endorfinu a ACTH zůstaly nezměněné.

Na tuto studii navazuje studie Cravana et al. (2021). I v této studii byla měřena koncentrace cirkulujícího β -endorfinu, ACTH a kortizolu. Na šesti terapeutických koních jezdily náhodně ve stejném prostředí dvě skupiny jezdců, dospělí mentálně postižení jezdci a zcela zdraví dospělí jezdci. Jezdci v obou skupinách neměli předchozí zkušenosti s jízdou na koni. Každý jezdec jezdil dvakrát týdně po dobu 6 týdnů. Koně prováděli stejné chody a cviky na všech sezeních, a to jak s jezdci s mentálním postižením, tak se zdravými jezdci. Koncentrace všech hormonů byly zjišťovány z krve v den klidu (24 hodin před sezením), bezprostředně před sezením a 5 a 30 minut po každém sezení. Vzorky krve byly odebírány z krční žíly pomocí zavedeného katetru. Statistická analýza ukázala významný vliv jednotlivých skupin na koncentrace kortizolu. Byly také zaznamenány zvýšené koncentrace ACTH po sezení se zdravými jezdci. Nebyl zjištěn žádný významný vliv jezdců na změny β -endorfinu. Výsledky naznačují, že koncentrace kortizolu je nižší 24 hodin před terapeutickým sezením než bezprostředně před sezením, bez ohledu na to, jaká skupina jezdců se terapie zúčastní. U skupiny zdravých jezdců pak vyšší koncentrace kortizolu přetrvávaly až do doby po terapeutickém sezení. Koncentrace kortizolu u koní, kteří se účastnili terapie s mentálně postiženými jezdci, byla nižší po terapeutickém sezení než před ním. Pravděpodobnou příčinou tohoto rozdílu je, že zdraví jezdci rychleji přejímají kontrolu nad koněm než jezdci s mentálním postižením (Cravana et al. 2021).

Malinowski et al. (2018) sledovali vliv hipoterapie u veteránů s posttraumatickou stresovou poruchou na koncentraci plazmatického kortizolu, plazmatického oxytocinu a variability srdeční frekvence u koní. Studie se účastnilo devět koní vycvičených pro terapeutické ježdění. Sedm koní bylo náhodně vybráno k nošení elektrokardiogramových jednotek. Všem devíti koním se odebíraly vzorky krve pro měření plazmatického kortizolu a

oxytocinu. Ke každému koni byl náhodně přidělen jeden klient-veterán a to po dobu pěti sezení o délce trvání jedné hodiny. Vzorky krve byly odebírány z krční žíly 30 minut před začátkem sezení, na začátku sezení a 10 a 30 minut po ukončení sezení. Vzorky byly odebírány každý den přibližně ve stejnou dobu, aby se zohlednilo kolísání denního rytmu kortizolu. Koně vykazovali fyziologickou koncentraci kortizolu a během terapie nedocházelo k výrazným změnám koncentrace kortizolu. Nebyly zaznamenány ani žádné změny v koncentracích oxytocinu ani výrazné změny v srdeční frekvenci.

Naproti tomu stojí dřívější studie (Johnson et al. 2017), která porovnávala hladiny kortizolu a další fyziologické ukazatele u koní, kteří se účastnili terapeutického ježdění s veterány s posttraumatickou stresovou poruchou (PTSD) a zdravými zkušenými jezdci. Pět koní pracovalo ve dvou šestitýdenních sezeních terapeutického ježdění. V jednom sezení jezdili váleční veteráni s PTSD (skupina 1) a ve druhém zkušení jezdci (skupina 2). Koním byly odebírány vzorky krve pomocí běžné jugulární venepunkce. Plazmatické hladiny ACTH, glukózy a kortizolu byly stanoveny v klidový den a v 1., 3. a 6. týdnu 30 minut před každou lekcí, po nachystání koně a po každé lekci. Dále byly zjišťovány vzorce stresového chování, a to před každou venepunkcí. Sezení probíhala vždy ve stejnou denní dobu a trvala přibližně 60 minut. Hladiny kortizolu u skupiny 1 (veteráni) byly vyšší před začátkem sezení a po něm než ve dnech klidu. U skupiny 2 (zkušení jezdci) byly naopak hladiny kortizolu vyšší ve dnech klidu a nižší před a po skončení terapie. Koncentrace kortizolu u skupiny 1 byla před ježděním a po něm vyšší než u skupiny 2. Pracovní zátěž byla u obou skupin stejná. Hladina glukózy byla u 1. skupiny vyšší v klidový den než po lekci, u skupiny 2 byla vyšší v klidový den než před lekcí. U skupiny 1 byla hladina glukózy vyšší než u skupiny 2 před lekcí, po nachystání koně i po lekci. Hladiny ACTH byly stejné u obou skupin. Ačkoli se měřené parametry lišily napříč skupinami, zůstávaly v normálním referenčním rozmezí. Stresové chování bylo hodnoceno podle etogramu, který je znázorněn v tabulce 2 (Young et al. 2012). Hodnocení probíhalo na škále 1 až 10, kde číslo 1 představuje žádný stres a číslo 10 vysoký stres. Nejvyšší skóre, které hodnotitelé uvedli bylo 2, což naznačuje, že koně během lekcí zažívali minimální stres. Behaviorální projevy stresu byly nižší u skupiny veteránů. Nebylo prokázáno, že by koně byli během terapie s veterány nějak výrazně stresováni (Johnson et al. 2017).

Tabulka 2: Škála behaviorálních indikátorů stresu u ustájených koní (Young et al. 2012)

Úroveň stresu	Skóre chování	Indikátory chování
Žádný stres	1	Stojí v přední části stáje, rozhlíží se kolem sebe nebo má hlavu pod úrovní kohoutku a žere. Uši nastražené, vzadu nebo naslouchající zvukům, nehybný nebo jemně švihající ocas. Některé opakující se orální chování.
	2	Stejné chování jako výše; přidává se chůze
Nízký stres	3	Stejné chování jako pro předchozí úroveň stresu; přidává se: občasné tkalcování, chození po boxu a opakované pohyby hlavou, uši občas sklopené, defekace.
	4	Chování popsané výše; přidává se: pochodování sem a

		tam, přibližování se k potenciálním stresorům (např. zvuky zvenku), opakované švihání ocasem.
Střední zátěž	5	Chování z předchozí úrovně; přidává se: drbání se o stěny a jiné části stáje, hrabání předními nohama o zem, rozšířené nozdry, opakované rozhlížení kolem sebe, zdvižený ocas.
	6	Chování viz výše, přidává se: přibližování a vzdalování se od potenciálních stresorů, přerušování žraní a soustředění na potenciální stresor.
	7	Chování stejné jako výše; přidává se: kůň se drží dál od potenciálních stresorů, stojí nehybně a soustředí se na ně.
Vysoký stres	8	Stejně chování jako v předchozí úrovni; přidává se: opakované stereotypní chování (např. tkalcování, chození po boxe, opakované pohyby hlavou), dupání zadními nohama, frkání.
	9-10	Chování jako výše

Nuchprayoon et al. (2017) zjišťovali koncentraci slinného kortizolu a ztuhlost dlouhého zádového svalu (*longissimus dorsi*) u koní během hipoterapie s dítětem s poruchou autistického spektra. Jako indikátory fyziologického stresu byly použity hladiny kortizolu ve slinách a srdeční frekvence, k odhadu tuhosti zádového svalu byl použit svalový indentor. Vzorky slin byly odebírány před a po terapii a poté byly analyzovány technikou přímé enzymové imunoanalýzy. Srdeční frekvence byla měřena pomocí monitoru srdeční frekvence v klidu, během terapie v pětiminutových intervalech po dobu 30 minut a po terapii v pětiminutových intervalech po dobu 20 minut. Svalová ztuhlost a svalový tonus byly měřeny před a po terapii. Studie se účastnil jeden chlapec s PAS a tři terapeutičtí koně. Každé jezdecké sezení se skládalo z jízdy na koni v kroku po dobu 30 minut. Dítě absolvovalo 5 jízd na každém ze tří terapeutických koní. Slinný kortizol ani srdeční frekvence nevykazovaly v důsledku terapie významné rozdíly. Celkově měla terapie na koně malý nebo žádný vliv, ačkoli měli po terapii tendenci mít větší svalovou ztuhlost.

Při porovnání hladin kortizolu během terapeutického ježdění, běžné jezdecké lekce a v klidu se zjistilo, že se nijak výrazně neliší. Koncentrace kortizolu ve slinách byly měřeny u šesti dospělých koní 3 dny v týdnu po dobu celkem 6 týdnů. Vzorky byly odebírány po nasednutí na koně (nebo v 15.00 h v den klidu), po 30 minutách jízdy (v 15.30 h v den klidu) a po 60 minutách jízdy, což odpovídalo skončení jízdy (v 16.00 v den klidu). Této studii se zúčastnily dvě skupiny jezdců. První skupinu tvořilo šest dívek ve věku 8 až 14 let, které se účastnily jezdeckého tábora. Druhou skupinou byla terapeutická jezdecká skupina, kterou tvořilo pět chlapců a jedna dívka s různými diagnózami (PAS, ADHD, mentální postižení, porucha smyslového zpracování aj.), také ve věku 8 až 14 let. Složení terapeutické skupiny zůstávalo po celých 6 týdnů stejné. Složení jezdecké skupiny se měnilo podle toho, jak se střídali účastníci na táboře. Celkem se v jezdecké skupině prostřídalo 30 dětí. Jezdecká úroveň skupiny však zůstávala stejná. Nutno zmínit, že běžných jezdeckých lekcí se účastnily děti, které už měly jezdecké zkušenosti a lekce byly pro koně fyzicky náročnější než terapeutické

ježdění (pohybovali se častěji v klusu). Měřilo se také skóre chování. Ani to se mezi jednotlivými aktivitami nezměnilo (McKinney et al. 2015).

Při pobytu v kruhové ohradě s člověkem s posttraumatickou stresovou poruchou nevykazovali koně žádné změny v hladinách kortizolu oproti pobytu se zdravými jedinci (kontrolní skupinou), přestože vykonávali identické pohyby. Srdeční frekvence koní byla však vyšší během pobytu lidí s PTSD. Byla také vyšší, když měli lidé předchozí zkušenosti s koňmi (bez ohledu na to, zda měli diagnostikovanou duševní poruchu). Koně pravděpodobně více reagují na fyzické podněty než na emoce. Je také více rozhodující, zda mají lidé předchozí zkušenost s koňmi, než jestli trpí duševní poruchou (Merkies et al. 2018).

Hovey et al. (2020) zjišťovali rozdíly v chování souvisejícím se stresem a v koncentracích kortizolu v séru mezi koňmi využívanými v terapeutickém jezdeckém programu a univerzitním jezdeckém programu. Jezdci byli rozděleni do skupin podle typu postižení nebo podle úrovně zkušeností, aby se zjistil vliv stresu na koně. Dva vyškolení pozorovatelé hodnotili chování koní během několika jezdeckých lekcí. Chování bylo hodnoceno naživo a prostřednictvím videozáznamu. Vzorky krve pro stanovení koncentrace kortizolu v séru byly odebrány před lekcí, bezprostředně po lekcí a 30 minut po lekcí. Do terapeutické skupiny bylo zapojeno celkem 17 koní. Všichni jezdci v této skupině měli určitý stupeň mentálního, fyzického nebo psychického postižení. Během studie bylo zastoupeno deset různých postižení, podle typu postižení byli jezdci rozděleni do tří podskupin. Skupinu 1 tvořili účastníci s poruchou pozornosti s hyperaktivitou, epilepsií a jiným zdravotním postižením. Skupina 2 se skládala z jezdců s autismem, Aspergerovým syndromem, mentálním postižením a poruchami smyslového zpracování. Ve 3. skupině byli účastníci s traumatickým postižením mozku, Downovým syndromem a dětskou mozkovou obrnou. Program pro terapeutickou skupinu se skládal ze dvou po sobě jdoucích osmitýdenních jízd, které byly označeny jako turnusy A a B. Před zahájením turnusu A měli koně 4 týdny odpočinku, mezi turnusy A a B měli koně volno 2 týdny. Koně se účastnili tří lekcí týdně, přičemž každá lekce trvala 1,5 hodiny. Každá lekce zahrnovala čas na přípravu a odchystání koně (zhruba 45 minut) a čas na ježdění (také 45 minut). Data byla sbírána během 1., 5. a 8. týdne v každém turnusu. Do jezdecké skupiny bylo zařazeno celkem 25 koní. Jezdci byli rozděleni do tří skupin podle jezdeckých schopností: začátečníci (6 jezdců), mírně pokročilí (2 jezdci) a pokročilí (2 jezdci). Tato studie probíhala během jednoho akademického semestru. Data byla sbírána během 1., 9. a 15. týdne. Koně byli využíváni v 1 až 5 jezdeckých hodinách týdně. Jedna lekce trvala 1,5 hodiny, z toho 30 minut připadlo na nachystání a odchystání koně a 60 minut na ježdění. Výsledky ukázaly, že celkové skóre stresového chování bylo u obou skupin relativně nízké. U obou skupin koní se koncentrace kortizolu pohybovaly ve standardním rozmezí. U koní, kteří se účastnili terapeutického jezdeckého programu byla naměřena vyšší koncentrace kortizolu před začátkem jízdy a postupně se snižovala. U koní využívaných v univerzitním jezdeckém programu byla naměřena vyšší koncentrace kortizolu před jízdou i po jízdě. U těchto koní byly také průměrně nižší hladiny kortizolu na začátku experimentu než na jeho konci. To může souviset s postupným zvyšováním nároků na koně i jezdce během jezdeckého programu úměrně s tím, jak jezdci v programu postupují. Nízké koncentrace kortizolu u koní mohou souviset i s nižší fyzickou zátěží, kterou mají koně v terapeutických programech.

4 Závěr

Hladinu kortizolu lze u koní měřit různými způsoby. Nejběžnější je odběr krve nebo slin. Méně invazivní metody poté zahrnují získávání kortizolu z moči a výkalů. Indikátorem dlouhodobého stresu je kortizol získaný z koňské srsti.

Ve všech uvedených studiích se kortizol určoval z odběru slin nebo krve. Výsledky zkoumaných studií ukázaly, že obecně nedochází ke zvýšené sekreci kortizolu u koní během hiporehabilitace. Hodnoty kortizolu se vždy pohybovaly v referenčním rozmezí. V žádné z uvedených studií nebyl analyzován kortizol z koňské srsti, protože na toto téma dosud nebyla zveřejněná žádná studie.

Mezi jednotlivými studii byly značné rozdíly, a to jak v intenzitě práce, množství zapojených koní a klientů, diagnózách klientů a přítomnosti kontrolních skupin. Množství zapojených klientů se pohybovalo od 1 do 40, počet koní od 3 do 25. V některých studiích sloužila jako kontrola hladina kortizolu v klidu, u jiných docházelo k porovnání dvou skupin jezdců, zpravidla rekreačních a terapeutických. Některé studie měřily další stresové parametry, jako je chování a variabilita srdeční frekvence.

Co se týče hladiny kortizolu, zůstávala buď nezměněná nebo se u hiporehabilitačních koní snižovala. Ve dvou studiích se u koní projevila stresová reakce při nasedání a sesedání. Ze studií vyplývá, že koně zapojení do hiporehabilitace, nejsou stresováni víc než koně využívaní v rekreačním ježdění. Často vykazují i nižší koncentraci kortizolu. Nižší koncentrace kortizolu u terapeutických koní může souviset s nižší fyzickou zátěží v hiporehabilitaci. Rekreační jezdci rychleji přejímají kontrolu nad koněm, což může vést ke zvyšování hladiny kortizolu.

Vnímání stresu je u koní individuální a je ovlivněno řadou faktorů. U koní se kortizol zvyšuje například během přepravy. Mezi další faktory, které mohou mít vliv na zvýšení hladiny kortizolu patří typ ustájení a podmínky prostředí, změna režimu, strava nebo interakce s ostatními koňmi a lidmi. Přestože se zdá, že koně v hiporehabilitaci nejsou vystaveni akutním stresorům, bylo by vhodné zjistit, zda jim tyto intervence nezpůsobují dlouhodobý stres. Do budoucích výzkumů by se tedy mohla zařadit i analýza chlupového kortizolu u hiporehabilitačních koní.

5 Literatura

- Allen K, Shykoff BE, Izzo JL Jr. 2001. Pet ownership, but not ace inhibitor therapy, blunts home blood pressure responses to mental stress. *Hypertension*. **38**: 815-820.
- Aurich J, Wulf M, Ille N, Erber R, von Lewinski M, Palme R, Aurich C. 2015. Effects of season, age, sex, and housing on salivary cortisol concentrations in horses. *Domestic Animal Endocrinology* **52**: 11-16.
- Ayala MD, Carrillo A, Iniesta P, Ferrer P. 2021. Pilot Study of the Influence of Equine Assisted Therapy on Physiological and Behavioral Parameters Related to Welfare of Horses and Patients. *Animals* **11**.
- Bachi K, Terkel J, Teichman M. 2012. Equine-facilitated psychotherapy for at-risk adolescents: The influence on self-image, self-control and trust. *Clinical Child Psychology and Psychiatry* **17**: 298-312.
- Bass MM, Duchowny CA, Llabre MM. 2009. The Effect of Therapeutic Horseback Riding on Social Functioning in Children with Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders* **39**: 1261-1267.
- Bates A. 2002. Of Patients & Horses: Equine-Facilitated Psychotherapy. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services* **40**: 16-19.
- Beishuizen A, Thijs LG, Vermes I. 2001. Patterns of corticosteroid-binding globulin and the free cortisol index during septic shock and multitrauma. *Intensive Care Medicine* **27**: 1584-1591.
- Bell C, Rogers S, Taylor J, Busby D. 2019. Improving the Recognition of Equine Affective States. *Animals* **9**.
- Berridge KC, Kringelbach ML. 2013. Neuroscience of affect: brain mechanisms of pleasure and displeasure. *Current Opinion in Neurobiology* **23**: 294-303.
- Bizub AL, Joy A, Davidson L. 2003. "It's like being in another world": Demonstrating the benefits of therapeutic horseback riding for individuals with psychiatric disability. *Psychiatric Rehabilitation Journal* **26**: 377-384.
- Bohák Z, Szabó F, Beckers JF, Melo de Sousa N, Kutasi O, Nagy K, Szenci O. 2013. Monitoring the circadian rhythm of serum and salivary cortisol concentrations in the horse. *Domestic Animal Endocrinology* **45**: 38-42.
- Boissy A, Veissier I, Roussel S. 2001. Behavioural Reactivity Affected by Chronic Stress: An Experimental Approach in Calves Submitted to Environmental Instability. *Animal Welfare* **10**: 175-185.
- Breuner CW, Orchinik M, Hahn TP, Meddle SL, Moore IT, Owen-Ashley NT, Sperry TS, Wingfield JC. 2003. Differential mechanisms for regulation of the stress response across latitudinal gradients. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **285**: 594-600.

- Breuner CW, Delehanty B, Boonstra R, Fox C. 2013. Evaluating stress in natural populations of vertebrates: total CORT is not good enough. *Functional Ecology* **27**: 24-36.
- Breuner CW, Orchinik M. 2002. Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *Journal of Endocrinology* **175**: 99-112.
- Budzyńska M. 2014. Stress Reactivity and Coping in Horse Adaptation to Environment. *Journal of Equine Veterinary Science* **34**: 935-941.
- Cameron A, Henley D, Carrell R, Zhou A, Clarke A, Lightman S. 2010. Temperature-Responsive Release of Cortisol from Its Binding Globulin: A Protein Thermocouple. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **95**: 4689-4695.
- Cayado P, Muñoz-Escassi B, Domínguez C, Manley W, Olabarri B, Sánchez de la Muela M, Castejon F, Marañón G, Vara E. 2006. Hormone response to training and competition in athletic horses. *Equine Veterinary Journal* **38**:274-278.
- Cody P, Steiker LH, Szymandera ML. 2011. Equine Therapy: Substance Abusers' "Healing Through Horses." *Journal of Social Work Practice in the Addictions* **11**:198-204.
- Coleman K, Pranger L, Maier A, Lambeth SP, Perlman JE, Thiele E, Schapiro SJ. 2008. Training Rhesus Macaques for Venipuncture Using Positive Reinforcement Techniques: A Comparison with Chimpanzees. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* **47**:37-41.
- Comin A, Veronesi MC, Montillo M, Faustini M, Valentini S, Cairoli F, Prandi A. 2012. Hair cortisol level as a retrospective marker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in horse foals. *The Veterinary Journal* **194**:131-132.
- Connor K, Miller J. 2000. Animal-assisted therapy: An in-depth look. *Dimensions of Critical Care Nursing* **19**:20-26.
- Contalbrigo L, Borgi M, De Santis M, Collacchi B, Tuozzi A, Toson M, Redaelli V, Odore R, Vercelli C, Stefani A, Luzi F, Valle E, Cirulli F. 2021. Equine-Assisted Interventions (EAIs) for Children with Autism Spectrum Disorders (ASD): Behavioural and Physiological Indices of Stress in Domestic Horses (*Equus caballus*) during Riding Sessions. *Animals* **11**.
- Cook CJ, Mellor DJ, Harris PJ, Ingram JR, Matthews LR. 2000. Hands-on and Hands-off Measurement of Stress. Pages 123-146 in Moberg GP, Mench JA, editors. *The Biology of animal stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. Cabi Publishing, New York.
- Cook NJ. 2012. Review: Minimally invasive sampling media and the measurement of corticosteroids as biomarkers of stress in animals. *Canadian Journal of Animal Science* **92**:227-259.
- Cooper J, McGreevy P. 2007. Stereotypic Behaviour in the Stabled Horse: Causes, Effects and Prevention Without Compromising Horse Welfare. Pages 99-124 in Waran NK, editor. *The Welfare of Horses*. Springer Netherlands, Dordrecht.

- Cooper JJ, Albentosa MJ. 2005. Behavioural adaptation in the domestic horse: potential role of apparently abnormal responses including stereotypic behaviour. *Livestock Production Science* **92**:177-182.
- Cordero M, Brorsen BW, McFarlane D. 2012. Circadian and circannual rhythms of cortisol, ACTH, and α -melanocyte-stimulating hormone in healthy horses. *Domestic Animal Endocrinology* **43**:317-324.
- Cravana C, Fazio E, Ferlazzo A, Medica P. 2021. Therapeutic Riding Horses: using a hypothalamic-pituitary-adrenal axis measure to assess the physiological stress response to different riders. *Journal of Veterinary Behavior* **46**:18-23.
- Crawford EK, Worsham NL, Swinehart ER. 2006. Benefits derived from companion animals, and the use of the term “attachment.” *Anthrozoös* **19**:98-112.
- Cumella EJ. 2003. Questions & Answers. *Eating Disorders* **11**:143-147
- Dashper K. 2010. ‘It's a Form of Freedom’: The experiences of people with disabilities within equestrian sport. *Annals of Leisure Research* **13**:86-101.
- Davenport MD, Lutz CK, Tiefenbacher S, Novak MA, Meyer JS. 2008. A Rhesus Monkey Model of Self-Injury: Effects of Relocation Stress on Behavior and Neuroendocrine Function. *Biological Psychiatry* **63**:990-996.
- Davenport MD, Tiefenbacher S, Lutz CK, Novak MA, Meyer JS. 2006. Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *General and Comparative Endocrinology* **147**:255-261.
- Davis LL, Weaver M, Zamrini E, Stevens A, Kang D-H, Parker CR. 2004. Biopsychological Markers of Distress in Informal Caregivers. *Biological Research For Nursing* **6**:90-99.
- De Haan D. 2015. Evaluating the experience of the Olympic and Paralympic Games in the career histories of elite equestrian athletes [PhD. Thesis]. Loughborough University, Loughborough.
- De Santis M, Contalbrigo L, Borgi M, Cirulli F, Luzi F, Redaelli V, Stefani A, Toson M, Odore R, Vercelli C, Valle E, Farina L. 2017. Equine Assisted Interventions (EAIs): Methodological Considerations for Stress Assessment in Horses. *Veterinary Sciences* **4**.
- Debusse D, Gibb C, Chandler C. 2009. Effects of hippotherapy on people with cerebral palsy from the users’ perspective: A qualitative study. *Physiotherapy Theory and Practice* **25**:174-192.
- del Rosario-Montejo O, Molina-Rueda F, Muñoz-Lasa S, Alguacil-Diego IM. 2015. Efectividad de la terapia ecuestre en niños con retraso psicomotor. *Neurología* **30**:425-432.
- Dickerson SS, Kemeny ME. 2004. Acute Stressors and Cortisol Responses: A Theoretical Integration and Synthesis of Laboratory Research. *Psychological Bulletin* **130**:355-391.

- Duran MC, Janz DM, Waldner CL, Campbell JR, Marques FJ. 2017. Hair Cortisol Concentration as a Stress Biomarker in Horses: Associations With Body Location and Surgical Castration. *Journal of Equine Veterinary Science* **55**:27-33.
- Edwards NE, Beck AM. 2002. Patients respond to aquariums. *Provider* **28**:47-48.
- Eggiman J. 2006. Cognitive-Behavioral Therapy: A Case Report - Animal-Assisted Therapy. *Topics in Advanced Practice Nursing eJournal* **6**.
- Etim NN, Williams ME, Evans EI, Offiong EEA. 2013. Physiological and Behavioural Responses of Farm Animals to Stress: Implications to Animal Productivity. *American Journal of Advanced Agricultural Reserch* **1**:53-61.
- Fazio E, Ferlazzo A. 2003. Evaluation of Stress During Transport. *Veterinary Research Communications* **27**:519-524.
- Fazio E, Medica P, Aronica V, Grasso L, Ferlazzo A. 2008. Circulating β -endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels of stallions before and after short road transport: stress effect of different distances. *Acta Veterinaria Scandinavica* **50**.
- Fazio E, Medica P, Cravana C, Ferlazzo A. 2013. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses of horses to therapeutic riding program: Effects of different riders. *Physiology & Behavior* **118**:138-143.
- Filan SL, Llewellyn-Jones RH. 2006. Animal-assisted therapy for dementia: a review of the literature. *International Psychogeriatrics* **18**:597-611.
- Frewin K, Gardiner B. 2005. A New Age or Old Sage? A review of Equine Assisted Psychotherapy. *The Australian Journal of Counseling Psychology* **6**:13-17.
- Fries E, Hesse J, Hellhammer J, Hellhammer DH. 2005. A new view on hypocortisolism. *Psychoneuroendocrinology* **30**:1010-1016.
- Froeschle J. 2009. Empowering Abused Women Through Equine Assisted Career Therapy. *Journal of Creativity in Mental Health* **4**:180-190.
- Fureix C, Beaulieu C, Argaud S, Rochais C, Quinton M, Henry S, Hausberger M, Mason G. 2015. Investigating anhedonia in a non-conventional species: Do some riding horses *Equus caballus* display symptoms of depression? *Applied Animal Behaviour Science* **162**:26-36.
- Fureix C, Jégo P, Henry S, Lansade L, Hausberger M, Chapouthier G. 2012. Towards an Ethological Animal Model of Depression? A Study on Horses. *PLoS ONE* **7**.
- Gaab J, Baumann S, Budnoik A, Gmünder H, Hottinger N, Ehlert U. 2005. Reduced reactivity and enhanced negative feedback sensitivity of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis in chronic whiplash-associated disorder. *Pain* **119**:219-224.
- Garcia DM. 2010. Of Equines and Humans: Toward a New Ecology. *Ecopsychology* **2**:85-89.
- Gold PW, Chrousos GP. 2002. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Molecular Psychiatry* **7**:254-275.

- González-de-la-Vara M del R, Valdez RA, Lemus-Ramirez V, Vázquez-Chagoyán JC, Villa-Godoy A, Romano MC. 2011. Effects of adrenocorticotrophic hormone challenge and age on hair cortisol concentrations in dairy cattle. *Can J Vet Res.* **75**:216–221.
- Goodwin D. 2007. Horse Behaviour: Evolution, Domestication and Feralisation. Pages 1-18 in Waran NK, editor. *The Welfare of Horses*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Goodwin D. 2010. The importance of ethology in understanding the behaviour of the horse. *Equine Veterinary Journal* **31**:15-19.
- Gow R, Thomson S, Rieder M, Van Uum S, Koren G. 2010. An assessment of cortisol analysis in hair and its clinical applications. *Forensic Science International* **196**:32-37.
- Gruenewald TL, Kemeny ME, Aziz N, Fahey JL. 2004. Acute Threat to the Social Self: Shame, Social Self-esteem, and Cortisol Activity. *Psychosomatic Medicine* **66**:915-924.
- Gunnar MR, Vazquez DM. 2001. Low cortisol and a flattening of expected daytime rhythm: Potential indices of risk in human development. *Development and Psychopathology* **13**:515-538.
- Hall C, Goodwin D, Heleski C, Randle H, Waran N. 2008. Is There Evidence of Learned Helplessness in Horses? *Journal of Applied Animal Welfare Science* **11**:249-266.
- Hall C, Heleski C. 2017. The role of the ethogram in equitation science. *Applied Animal Behaviour Science* **190**:102-110.
- Hall C, Kay R, Yarnell K. 2014. Assessing ridden horse behavior: Professional judgment and physiological measures. *Journal of Veterinary Behavior* **9**:22-29.
- Hart LA. 2000. Methods, Standards, Guidelines, and Considerations in Selecting Animals for Animal-Assisted Therapy. Pages 81-97 in Fine AH, editor. *Handbook on Animal-Assisted Therapy*. Academic Press, San Diego.
- Hartley SL, Sikora DM, McCoy R. 2008. Prevalence and risk factors of maladaptive behaviour in young children with Autistic Disorder. *Journal of Intellectual Disability Research* **52**:819-829.
- Hausberger M, Gautier E, Biquand V, Lunel CH, Jégo P, Soares D. 2009. Could Work Be a Source of Behavioural Disorders? A Study in Horses. *PLoS ONE* **4**.
- Hausberger M, Roche H, Henry S, Visser EK. 2008. A review of the human–horse relationship. *Applied Animal Behaviour Science* **109**:1-24.
- Hay M, Orgeur P, Lévy F, Le Dividich J, Concordet D, Nowak R, Schaal B, Mormède P. 2001. Neuroendocrine consequences of very early weaning in swine. *Physiology & Behavior* **72**:263-269.
- Heim C, Newport DJ, Heit S, Graham YP, Wilcox M, Bonsall R, Miller AH, Nemeroff CB. 2000. Pituitary-Adrenal and Autonomic Responses to Stress in Women After Sexual and Physical Abuse in Childhood. *JAMA* **284**:592-597.
- Heimbürge S, Kanitz E, Otten W. 2019. The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *General and Comparative Endocrinology* **270**:10-17.

- Hellhammer DH, Wüst S, Kudielka BM. 2009. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* **34**:163-171.
- Hemsworth PH, Mellor DJ, Cronin GM, Tilbrook AJ. 2015. Scientific assessment of animal welfare. *New Zealand Veterinary Journal* **63**:24-30.
- Hodges K, Boonstra R, Krebs CJ. 2006. Overwinter mass loss of snowshoe hares in the Yukon: starvation, stress, adaptation or artefact? *Journal of Animal Ecology* **75**:1-13.
- Haupt KA, Eggleston A, Kunkle K, Haupt TR. 2000. Effect of water restriction on equine behaviour and physiology. *Equine Veterinary Journal* **32**:341-344.
- Hovey MR, Davis A, Chen S, Godwin P, Porr CAS. 2020. Evaluating Stress in Riding Horses: Part One—Behavior Assessment and Serum Cortisol. *Journal of Equine Veterinary Science* **96**.
- Chandler CK. 2012. *Animal Assisted Therapy in Counseling*. Routledge, New York.
- Christian JE. 2005. All Creatures Great and Small: Utilizing Equine-Assisted Therapy to Treat Eating Disorders. *Journal of Psychology and Christianity* **24**:65–67.
- Johnson RA, Johnson PJ, Megarani DV, Patel SD, Yaglom HD, Osterlind S, Grindler K, Vogelweid CM, Parker TM., Pascua CK, Crowder SM. 2017. Horses Working in Therapeutic Riding Programs: Cortisol, Adrenocorticotrophic Hormone, Glucose, and Behavior Stress Indicators. *Journal of Equine Veterinary Science* **57**:77-85.
- Jolivald A, Ijichi C, Hall C, Yarnell K. 2023. The mane factor: Compliance is associated with increased hair cortisol in the horse. *Applied Animal Behaviour Science* **258**.
- Kaiser L, Spence LJ, Lavergne AG, Bosch KLV. 2004. Can a week of therapeutic riding make a difference?—A pilot study. *Anthrozoos* **17**:63-72.
- Kaiser L, Heleski CR, Siegford J, Smith KA. 2006. Stress-related behaviors among horses used in a therapeutic riding program. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **228**:39-45.
- Kaminski M, Pellino T, Wish J. 2002. Play and Pets: The Physical and Emotional Impact of Child-Life and Pet Therapy on Hospitalized Children. *Children's Health Care* **31**:321-335.
- Kannan G, Terrill TH, Kouakou B, Gazal OS, Gelaye S, Amoah EA, Samaké S. 2000. Transportation of goats: effects on physiological stress responses and live weight loss. *Journal of Animal Science* **78**:1450-1457.
- Karol J. 2007. Applying a Traditional Individual Psychotherapy Model to Equine-facilitated Psychotherapy (EFP): Theory and Method. *Clinical Child Psychology and Psychiatry* **12**:77-90.
- Keeling LJ, Jonare L, Lanneborn L. 2009. Investigating horse–human interactions: The effect of a nervous human. *The Veterinary Journal* **181**:70-71.
- Kendall E, Maujean A, Pepping CA, Wright JJ. 2014. Hypotheses about the Psychological Benefits of Horses. *EXPLORE* **10**:81-87.

- Kendler KS, Hettema JM, Butera F, Gardner CO, Prescott CA. 2003. Life Event Dimensions of Loss, Humiliation, Entrapment, and Danger in the Prediction of Onsets of Major Depression and Generalized Anxiety. *Archives of General Psychiatry* **60**:789-796.
- Klech P. 2014. Zooterapie (animoterapie). Pages 449-497 in Müller O, editor. *Terapie ve speciální pedagogice: 2., přepracované vydání*. Grada Publishing, Praha
- Koca TT, Ataseven H. 2016. What is hippotherapy? The indications and effectiveness of hippotherapy. *Northern Clinics of Istanbul* **2**:247-252.
- König von Borstel U, Visser EK, Hall C. 2017. Indicators of stress in equitation. *Applied Animal Behaviour Science* **190**:43-56.
- Korte SM, Koolhaas JM, Wingfield JC, McEwen BS. 2005. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **29**:3-38.
- Kruger KA, Serpell JA. 2006. Animal-assisted interventions in mental health: Definitions and theoretical foundations. Pages 21-38 in Fine AH, editor. *Handbook on animal-assisted therapy: Theoretical foundations and guidelines for practice*. Academic Press, New York.
- Kruger KA, Trachtenberg SW, Serpell JA. 2004. *Can animals help humans heal? Animal-assisted interventions in adolescent mental health*. Philadelphia, PA: Center for the Interaction of Animals and Society, University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine.
- Kuehl LK, Michaux GP, Richter S, Schächinger H, Anton F. 2010. Increased basal mechanical pain sensitivity but decreased perceptual wind-up in a human model of relative hypocortisolism. *Pain* **149**:539-546.
- Kwon J-Y, Chang HJ, Lee JY, Ha Y, Lee PK, Kim Y-H. 2011. Effects of Hippotherapy on Gait Parameters in Children With Bilateral Spastic Cerebral Palsy. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* **92**:774-779.
- Lelláková M, Lešková L, Florián M, Mesarčová L, Skurková L, Peřková B, Takáčová D, Kottferová J. 2022. Cortisol Concentration in Horsehair and its Relationship to Body Location, Coat Colour, and Gender. *Journal of Equine Veterinary Science* **115**.
- Levinson BM. 1978. Pets and Personality Development. *Psychological Reports* **42**:1031-1038.
- Macauley BL. 2006. Animal-assisted therapy for persons with aphasia: A pilot study. *The Journal of Rehabilitation Research and Development* **43**:357-366.
- Malinowski K, Yee C, Tevlin JM, Birks EK, Durando MM, Pournajafi-Nazarloo H, Cavaiola AA, McKeever KH. 2018. The Effects of Equine Assisted Therapy on Plasma Cortisol and Oxytocin Concentrations and Heart Rate Variability in Horses and Measures of Symptoms of Post-Traumatic Stress Disorder in Veterans. *Journal of Equine Veterinary Science* **64**:17-26.

- Mallow A, Mattel P, Broas L. 2011. "For the Love of Horses": Establishing a Protocol for Women in a Therapeutic Community to Work With Rescued Horses. *Journal of Social Work Practice in the Addictions* **11**:205-208.
- Manteuffel G. 2002. Central nervous regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and its impact on fertility, immunity, metabolism and animal welfare – a review. *Archives Animal Breeding* **45**:575-595.
- Martin F, Farnum J. 2002. Animal-Assisted Therapy for Children with Pervasive Developmental Disorders. *Western Journal of Nursing Research* **24**:657-670.
- Mason JW, Wang S, Yehuda R, Riney S, Charney DS, Southwick SM. 2001. Psychogenic Lowering of Urinary Cortisol Levels Linked to Increased Emotional Numbing and a Shame-Depressive Syndrome in Combat-Related Posttraumatic Stress Disorder. *Psychosomatic Medicine* **63**:387-401.
- Matteri RL, Carol JA, Dyer CJ. 2000. Neuroendocrine Responses to Stress. Pages 43-76 in Moberg GP, Mench JA, editors. *The Biology of animal stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. Cabi Publishing, New York.
- Mazzola SM, Colombani C, Pizzamiglio G, Cannas S, Palestrini C, Costa ED, Gazzonis AL, Bionda A, Crepaldi P. 2021. Do You Think I Am Living Well? A Four-Season Hair Cortisol Analysis on Leisure Horses in Different Housing and Management Conditions. *Animals* **11**.
- McDonnell SM. 2003. *The equid ethogram: a practical field guide to horse behavior*. Eclipse press, Lexington.
- McDuffee L, Carr L, Montelpare W. 2022. An observational evaluation of stress in horses during therapeutic riding sessions. *Journal of Veterinary Behavior* **49**:53-64.
- McGreevy PD, Oddie C, Burton FL, McLean AN. 2009. The horse–human dyad: Can we align horse training and handling activities with the equid social ethogram? *The Veterinary Journal* **181**:12-18.
- McGreevy P, McLean A. 2010. Fight and flight responses and manifestations. Pages 225-257 in *Equitation Science*. Blackwell Publishing, Oxford.
- McGreevy P. 2012. *Equine Behavior: A Guide for Veterinarians and Equine Scientists*. Elsevier, Toronto.
- McKinney C, Mueller MK, Frank N. 2015. Effects of Therapeutic Riding on Measures of Stress in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science* **35**:922-928.
- Meinersmann KM, Bradberry J, Roberts FB. 2008. Equine-Facilitated Psychotherapy with Adult Female Survivors of Abuse. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services* **46**:36-42.
- Meinlschmidt G, Heim C. 2005. Decreased cortisol awakening response after early loss experience. *Psychoneuroendocrinology* **30**:568-576.

- Mellor DJ, Beausoleil NJ, Littlewood KE, McLean AN, McGreevy PD, Jones B, Wilkins C. 2020. The 2020 Five Domains Model: Including Human–Animal Interactions in Assessments of Animal Welfare. *Animals* **10**.
- Meregillano G. 2004. Hippotherapy. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America* **15**:843-854.
- Merkies K, Sievers A, Zakrajsek E, MacGregor H, Bergeron R, König von Borstel U. 2014. Preliminary results suggest an influence of psychological and physiological stress in humans on horse heart rate and behavior. *Journal of Veterinary Behavior* **9**:242-247.
- Merkies K, McKechnie MJ, Zakrajsek E. 2018. Behavioural and physiological responses of therapy horses to mentally traumatized humans. *Applied Animal Behaviour Science* **205**:61-67.
- Merkies K, Franzin O. 2021. Enhanced Understanding of Horse–Human Interactions to Optimize Welfare. *Animals* **11**.
- Meyer JS, Novak MA. 2012. Minireview: Hair Cortisol. *Endocrinology* **153**:4120-4127.
- Miller DB, O'Callaghan JP. 2002. Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism* **51**:5-10.
- Miller GE, Chen E, Zhou ES. 2007. If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychological Bulletin* **133**:25-45.
- Miller LJ, Chinnadurai SK. 2023. Beyond the Five Freedoms: Animal Welfare at Modern Zoological Facilities. *Animals* **13**.
- Moberg GP. 1987a. Influence of the adrenal axis upon the gonads. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*. **9**:458-496.
- Moberg GP. 1987b. Problems in defining stress and distress in animals. *Journal of American Veterinary Medical Association*. **191**:1207-1211.
- Moberg GP. 2000. Biological Response to Stress: Implications for Animal Welfare. Pages 1-21 in Moberg GP, Mench JA, editors. *The Biology of animal stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. Cabi Publishing, New York.
- Montillo M, Comin A, Corazzin M, Peric T, Faustini M, Veronesi MC, Valentini S, Bustaffa M, Prandi A. 2014. The Effect of Temperature, Rainfall, and Light Conditions on Hair Cortisol Concentrations in Newborn Foals. *Journal of Equine Veterinary Science* **34**:774-778.
- Mormède P, Andanson S, Aupérin B, Beerda B, Guémené D, Malmkvist J, Manteca X, Manteuffel G, Prunet P, van Reenen CG, Richard S, Veissier I. 2007. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & Behavior* **92**:317-339.
- Morrison ML. 2007. Health Benefits of Animal-Assisted Interventions. *Complementary health practice review* **12**:51-62.

- Möstl E, Palme R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology* **23**:67-74.
- Muhtz CH, Rodriguez-Raecke R, Hinkelmann K, Moeller-Bertram T, Kiefer F, Wiedemann K, May A, Otte CH. 2013. Cortisol Response to Experimental Pain in Patients with Chronic Low Back Pain and Patients with Major Depression. *Pain Medicine* **14**:498-503.
- Murphy BA, Martin A-M, Furney P, Elliott JA. 2011. Absence of a serum melatonin rhythm under acutely extended darkness in the horse. *Journal of Circadian Rhythms* **9**.
- Nicolson NA. 2004. Childhood parental loss and cortisol levels in adult men. *Psychoneuroendocrinology* **29**:1012-1018.
- Novak MA, Hamel AF, Kelly BJ, Dettmer AM, Meyer JS. 2013. Stress, the HPA axis, and nonhuman primate well-being: A review. *Applied Animal Behaviour Science* **143**:135-149.
- Nuchprayoon N, Arya N, Ritruetchai P. 2017. Stress cortisol and muscle stiffness in horses used for equine-assisted therapy. *Journal of Applied Animal Science* **10**:35-46.
- Otovic P, Hutchinson E. 2015. Limits to using HPA axis activity as an indication of animal welfare. *ALTEX* **32**:41-50.
- Otte C, Hart S, Neylan TC, Marmar CR, Yaffe K, Mohr DC. 2005. A meta-analysis of cortisol response to challenge in human aging: importance of gender. *Psychoneuroendocrinology* **30**:80-91.
- Outram AK, Stear NA, Bendrey R, Olsen S, Kasparov A, Zaibert V, Thorpe N, Evershed RP. 2009. The Earliest Horse Harnessing and Milking. *Science* **323**:1332-1335.
- Papadopoulos AS, Cleare AJ. 2011. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis dysfunction in chronic fatigue syndrome. *Nature Reviews Endocrinology* **8**:22-32.
- Pawluski J, Jegou P, Henry S, Bruchet A, Palme R, Coste C, Hausberger M, van den Bos R. 2017. Low plasma cortisol and fecal cortisol metabolite measures as indicators of compromised welfare in domestic horses (*Equus caballus*). *PLOS ONE* **12**.
- Peeters M, Sulon J, Beckers J-F, Ledoux D, Vandenhede M. 2011. Comparison between blood serum and salivary cortisol concentrations in horses using an adrenocorticotropic hormone challenge. *Equine Veterinary Journal* **43**:487-493.
- Pérez-Tris J, Díaz JA, Tellería JL. 2004. Loss of body mass under predation risk: cost of antipredatory behaviour or adaptive fit-for-escape? *Animal Behaviour* **67**:511-521.
- Perogamvros I, Ray DW, Trainer PJ. 2012. Regulation of cortisol bioavailability—effects on hormone measurement and action. *Nature Reviews Endocrinology* **8**:717-727.
- Picard-Hagen N, Gayrard V, Alvinerie M, Laroute V, Touron C, Andreoletti O, Toutain PL. 2000. Naturally occurring scrapie is associated with a lower CBG binding capacity in ewes. *Journal of Endocrinology* **165**:527-532.

- Pol F, Courboulay V, Cotte JP, Martrenchar A, Hay M, Mormède P. 2002. Urinary cortisol as an additional tool to assess the welfare of pregnant sows kept in two types of housing. *Veterinary Research* **33**:13-22.
- Qian X, Droste SK, Gutiérrez-Mecinas M, Collins A, Kersanté F, Reul JM, Linthorst ACE. 2011. A Rapid Release of Corticosteroid-Binding Globulin from the Liver Restrains the Glucocorticoid Hormone Response to Acute Stress. *Endocrinology* **152**:3738-3748.
- Raison CL, Miller AH. 2003. When Not Enough Is Too Much: The Role of Insufficient Glucocorticoid Signaling in the Pathophysiology of Stress-Related Disorders. *American Journal of Psychiatry* **160**:1554-1565.
- Ralph CR, Tilbrook AJ. 2016. Invited review: The usefulness of measuring glucocorticoids for assessing animal welfare. *Journal of Animal Science* **94**:457-470.
- Randall D, Burggren W, French K. 2002. Physiological effects of hormones. Pages 333–341 in *Eckert Animal Physiology*. W. H. Freeman and Company, New York.
- Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada, Praha.
- Rietmann TR, Stuart AEA, Bernasconi P, Stauffacher M, Auer JA, Weishaupt MA. 2004. Assessment of mental stress in warmblood horses: heart rate variability in comparison to heart rate and selected behavioural parameters. *Applied Animal Behaviour Science* **88**:121-136.
- Richeson NE. 2003. Effects of animal-assisted therapy on agitated behaviors and social interactions of older adults with dementia. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias* **18**:353-358.
- Riva R, Mork PJ, Westgaard RH, Rø M, Lundberg U. 2010. Fibromyalgia Syndrome is Associated with Hypocortisolism. *International Journal of Behavioral Medicine* **17**:223-233.
- Rushen J. 2003. Changing concepts of farm animal welfare: bridging the gap between applied and basic research. *Applied Animal Behaviour Science* **81**:199-214.
- Russell E, Koren G, Rieder M, Van Uum S. 2012. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: Current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology* **37**:589-601.
- Sams MJ, Fortney EV, Willenbring S. 2006. Occupational Therapy Incorporating Animals for Children With Autism: A Pilot Investigation. *The American Journal of Occupational Therapy* **60**:268-274.
- Sánchez MM, Noble PM, Lyon CK, Plotsky PM, Davis M, Nemeroff CB, Winslow JT. 2005. Alterations in diurnal cortisol rhythm and acoustic startle response in nonhuman primates with adverse rearing. *Biological Psychiatry* **57**:373-381.
- Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions*. *Endocrine Reviews* **21**:55-89.

- Sawchenko PE, Li H-Y, Ericsson A. 2000. Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. *Progress in Brain Research* **122**:61-78.
- Seaman SC, Davidson HPB, Waran NK. 2002. How reliable is temperament assessment in the domestic horse (*Equus caballus*)? *Applied Animal Behaviour Science* **78**:175-191.
- Selye H. 1936. A Syndrome Produced by Diverse Nocuous Agents. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* **10**:230a-231.
- Selye H. 1956. *The stress of life*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Selye H. 1973. The Evolution of the Stress Concept. *American Scientist* **61**:692-699.
- Serpell JA. 2000. Historical exploration of the value of human-animal relationships. In Fine AH, editor. *Handbook on animal-assisted therapy: Theoretical foundations and guidelines for practice*. Academic Press, San Diego.
- Serpell JA. 2006. Animal-assisted interventions in historical perspective. In Fine AH, editor. *Handbook on animal-assisted therapy: Theoretical foundations and guidelines for practice*. Academic Press, New York.
- Shanahan S. 2003. Trailer Loading Stress in Horses: Behavioral and Physiological Effects of Nonaversive Training (TTEAM). *Journal of Applied Animal Welfare Science* **6**:263-274.
- Sheriff MJ, Krebs CJ, Boonstra R. 2009. The sensitive hare: sublethal effects of predator stress on reproduction in snowshoe hares. *Journal of Animal Ecology* **78**:1249-1258.
- Sheriff MJ, Krebs CJ, Boonstra R. 2010. The ghosts of predators past: population cycles and the role of maternal programming under fluctuating predation risk. *Ecology* **91**:2983-2994.
- Scheuerlein A, Van't Hof T, Gwinner E. 2001. Predators as stressors? Physiological and reproductive consequences of predation risk in tropical stonechats (*Saxicola torquata axillaris*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **268**:1575-1582.
- Schmidt A, Biau S, Möstl E, Becker-Birck M, Morillon B, Aurich J, Faure J-M, Aurich C. 2010a. Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. *Domestic Animal Endocrinology* **38**:179-189.
- Schmidt A, Möstl E, Wehnert C, Aurich J, Müller J, Aurich C. 2010b. Cortisol release and heart rate variability in horses during road transport. *Hormones and Behavior* **57**:209-215.
- Schwinn A-C, Sauer FJ, Gerber V, Bruckmaier RM, Gross JJ. 2018. Free and bound cortisol in plasma and saliva during ACTH challenge in dairy cows and horses. *Journal of Animal Science* **96**:76-84
- Silkwood-Sherer DJ, Killian CB, Long TM, Martin KS. 2012. Hippotherapy—An Intervention to Habilitate Balance Deficits in Children With Movement Disorders: A Clinical Trial. *Physical Therapy* **92**:707-717.

- Smith-Osborne A, Selby A. 2010. Implications of the Literature on Equine-Assisted Activities for Use as a Complementary Intervention in Social Work Practice with Children and Adolescents. *Child and Adolescent Social Work Journal* **27**:291-307.
- Smith SM, Vale WW. 2006. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in Clinical Neuroscience* **8**:383-395.
- Snider L, Korner-Bitensky N, Kammann C, Warner S, Saleh M. 2007. Horseback Riding as Therapy for Children with Cerebral Palsy. *Physical & Occupational Therapy In Pediatrics* **27**:5-23.
- Sobo EJ, Eng B, Kassity-Krich N. 2006. Canine Visitation (Pet) Therapy. *Journal of Holistic Nursing* **24**:51-57.
- Souter MA, Miller MD. 2007. Do Animal-Assisted Activities Effectively Treat Depression? A Meta-Analysis. *Anthrozoös* **20**:167-180.
- Spencer RL, Deak T. 2017. A users guide to HPA axis research. *Physiology & Behavior* **178**:43-65.
- Spiga F, Walker JJ, Terry JR, Lightman SL. 2014. HPA axis-rhythms. *Comprehensive Physiology* **4**:1273-98.
- Stasi MF, Amati D, Costa C, Resta D, Senepa G, Scarafioiti C, Aimonino N, Molaschi M. 2004. Pet-therapy: a trial for institutionalized frail elderly patients. *Archives of Gerontology and Geriatrics* **38**:407-412.
- St. George L, Thetford C, Clayton HM, Hobbs SJ. 2022. An exploration of stakeholder perceptions to inform the development of an evidence-based classification system in para dressage. *Journal of Sports Sciences* **40**:459-469.
- Sunwoo H, Chang WH, Kwon J-Y, Kim T-W, Lee J-Y, Kim Y-H. 2012. Hippotherapy in Adult Patients with Chronic Brain Disorders: A Pilot Study. *Annals of Rehabilitation Medicine* **36**.
- Tilbrook AJ. 2007. Neuropeptides, Stress-Related. Pages 903-908 in Fink G., editor. *Encyclopedia of Stress*. Academic Press, London.
- Touma C, Palme R. 2005. Measuring Fecal Glucocorticoid Metabolites in Mammals and Birds: The Importance of Validation. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1046**:54-74.
- Trotter KS, Chandler CK, Goodwin-Bond D, Casey J. 2008. A Comparative Study of the Efficacy of Group Equine Assisted Counseling With At-Risk Children and Adolescents. *Journal of Creativity in Mental Health* **3**:254-284.
- Tsigos C, Chrousos GP. 2002. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research* **53**:865-871.
- Turner AI, Keating CL, Tilbrook AJ. 2012. Sex Differences and the Role of Sex Steroids in Sympatho-Adrenal Medullary System and Hypothalamo-Pituitary Adrenal Axis Responses to Stress. Pages 115-136 in Kahn SM, editor. *Sex Steroids*. InTech, Rijeka.

- van der Kolk JH, Nachreiner RF, Schott HC, Refsal KR, Zanella AJ. 2001. Salivary and plasma concentration of cortisol in normal horses and horses with Cushing's disease. *Equine Veterinary Journal* **33**:211-213.
- van der Kolk JH, Fouché N, Gross JJ, Gerber V, Bruckmaier RM. 2016. A comparison between the equine and bovine hypothalamus-pituitary-adrenocortical axis. *Domestic Animal Endocrinology* **56**:S101-S111.
- Van Uum SHM, Sauvé B, Fraser LA, Morley-Forster P, Paul TL, Koren G. 2008. Elevated content of cortisol in hair of patients with severe chronic pain: A novel biomarker for stress. *Stress* **11**:483-488.
- Vidrine M, Owen-Smith P, Faulkner P. 2002. Equine-facilitated group psychotherapy: applications for therapeutic vaulting. *Issues in Mental Health Nursing* **23**:587-603.
- Visser EK, van Reenen CG, Hopster H, Schilder MBH, Knaap JH, Barneveld A, Blokhuis HJ. 2001. Quantifying aspects of young horses' temperament: consistency of behavioural variables. *Applied Animal Behaviour Science* **74**:241-258.
- Visser E, Vanreenen C, Vanderwerf J, Schilder M, Knaap J, Barneveld A, Blokhuis H. 2002. Heart rate and heart rate variability during a novel object test and a handling test in young horses. *Physiology & Behavior* **76**:289-296.
- Visser EK, Van Reenen CG, Rundgren M, Zetterqvist M, Morgan K, Blokhuis HJ. 2003. Responses of horses in behavioural tests correlate with temperament assessed by riders. *Equine Veterinary Journal* **35**:176-183.
- Visser EK, Van Dierendonck M, Ellis AD, Rijksen CH, Van Reenen CG. 2009. A comparison of sympathetic and conventional training methods on responses to initial horse training. *The Veterinary Journal* **181**:48-52.
- von Borell E, Langbein J, Després G, Hansen S, Leterrier CH, Marchant 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 & Behavior* **92**:293-316.
- von Borstel UU, Duncan IJH, Shoveller AK, Merckies K, Keeling LJ, Millman ST. 2009. Impact of riding in a coercively obtained Rollkur posture on welfare and fear of performance horses. *Applied Animal Behaviour Science* **116**:228-236.
- Waring GH. 2003. *Horse Behavior*. William Andrew Publishing, Norwich.
- Webster AJF. 2001. Farm Animal Welfare: the Five Freedoms and the Free Market. *The Veterinary Journal* **161**:229-237.
- Weibel L, Brandenberger G. 2002. The start of the quiescent period of cortisol remains phase locked to the melatonin onset despite circadian phase alterations in humans working the night schedule. *Neuroscience Letters* **318**:89-92.
- Williams RJ, Marlin DJ, Smith N, Harris RC, Haresign W, Davies Morel MC. 2002. Effects of Cool and Hot Humid Environmental Conditions on Neuroendocrine Responses of Horses to Treadmill Exercise. *The Veterinary Journal* **164**:54-63.

- Wingenfeld K, Heim C, Schmidt I, Wagner D, Meinschmidt G, Hellhammer DH. 2008. HPA Axis Reactivity and Lymphocyte Glucocorticoid Sensitivity in Fibromyalgia Syndrome and Chronic Pelvic Pain. *Psychosomatic Medicine* **70**:65-72.
- Wingenfeld K, Hellhammer DH, Schmidt I, Wagner D, Meinschmidt G, Heim C. 2009. HPA axis reactivity in chronic pelvic pain: association with depression. *Journal of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology* **30**:282-286.
- Yorke J, Adams C, Coady N. 2008. Therapeutic Value of Equine-Human Bonding in Recovery from Trauma. *Anthrozoös* **21**:17-30.
- Young T, Creighton E, Smith T, Hosie CH. 2012. A novel scale of behavioural indicators of stress for use with domestic horses. *Applied Animal Behaviour Science* **140**:33-43.
- Zanette LY, White AF, Allen MC, Clinchy M. 2011. Perceived Predation Risk Reduces the Number of Offspring Songbirds Produce per Year. *Science* **334**:1398-1401.
- Zhao Z-Y, Lu F-H, Xie Y, Fu Y-R, Bogdan A, Touitou Y. 2003. Cortisol secretion in the elderly. Influence of age, sex and cardiovascular disease in a Chinese population. *Steroids* **68**:551-555.