

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Sekrece kortizolu u koní a jeho měření v rámci zapojení
koní v zoorehabilitaci**

Bakalářská práce

Tereza Hadži Nikolová

Zoorehabilitace a asistenční aktivity se zvířaty

doc. Ing. Kristýna Machová, Ph.D.

© 2022/23 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Sekrece kortizolu u koní a jeho měření v rámci zapojení koní v zoorehabilitaci" 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 23.4. 2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní doc. Ing. Kristýně Machové, Ph.D., za její ochotu, trpělivost a aktivní vedení při tvorbě mé práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině a přátelům, za podporu, kterou mi věnovali v průběhu studia.

Sekrece kortizolu u koní a jeho měření v rámci zapojení koní v zoorehabilitaci

Souhrn

Původ intervencí se zapojením koní sahá hluboko do historie, avšak s rostoucími požadavky na etický přístup ke zvířatům je třeba přihlídnout k tomu, zda provádění takovýchto intervencí svým způsobem neohrožuje welfare těchto zvířat. Mezi ně patří hipoterapie ve fyzioterapii a ergoterapii, hipoterapie v psychiatrii a psychologii, hiporehabilitace v pedagogické a sociální praxi a paravoltiž. Efekt těchto intervencí vykazuje pozitivní výsledky, mezi které můžeme zařadit zvýšení mobility kloubů a svalové funkce, dále pak pozitivní behaviorální změny u pacientů s demencí a celkové zvýšení kvality života pacientů, které přispívá ke zlepšení duševního stavu.

Kortizol je nejvýznamnějším stresovým hormonem, který ovlivňuje velkou řadu tělesných pochodů a pojí se zejména s dlouhotrvajícím stresem. Jeho hladinu lze změřit několika způsoby. Využití metody ELISA ke stanovení hodnoty kortizolu spočívá ve využití biologického materiálu, jako je krev, sliny, exkrementy nebo chlupy. Dbá se však na zkreslení výsledků zkříženě reaktivními látkami, a dokonce na fakt, že ne vždy musí zvýšená hladina kortizolu korespondovat se stresem, proto by se měly souběžně s kortizolem pozorovat také jiné parametry například behaviorální projevy, oxytocin, tepová či dechová frekvence, adrenokortikotropin a jiné. Vlivem stresu může dojít k vyvinutí hypokortizolémie v návaznosti na vysoké hladiny stresu v těle, ta sníží citlivost receptorů regulujících produkci adrenokortikotropního hormonu.

Studie zabývající se vyšetřením kortizolu v zoorehabilitaci se zapojením koní se dělí dle vyšetření specifického biologického materiálu, kdy nejčastějším materiálem bývá krevní plazma či slin. Inovativní možnost, jako toto vyšetření provést je pomocí chlupů. Tato metoda nabízí neinvazivní způsob odběru a dlouhodobý monitoring stresu. Ohled je brán také na cirkadiánní a cirkanuální vylučování kortizolu. Kolísání kortizolu je pro koně specifické díky jejich způsobu života adaptovaného na dlouhé přesuny a způsob rozmnožování, jelikož se jedná o sezónně polyestrická zvířata řízená ročním cyklem. Síla práce nezvyšuje hladinu kortizolu tak jako emoční excitace. Možné zvýšení hladiny stresových hormonů tak přisuzujeme negativní pocitové odezvě na prováděné aktivity.

Během hodnocení hladin kortizolu za účasti koní v zoorehabilitacích se používaly metody dvou skupin, kdy jedna zahrnovala lidi bez postižení a jiná skupinu lidí s formou tělesného či psychického znevýhodnění. Posouzení probíhalo skrze monitoring hladiny kortizolu a behaviorálních projevů. Výsledky následně stanovily, že hiporehabilitace pro koně není stresující záležitostí. Přestože výsledky povětšinou prokázaly pouze mírný stres, tak existují důkazy o tom, že tyto aktivity mohou koním poskytovat také pozitivní stimuly, které neprožívali při kontaktu s lidmi bez zdravotního znevýhodnění.

Klíčová slova: zoorehabilitace, koně, kortizol, stres, fyziologie

Cortisol secretion and measuring in horses in terms of equine assisted therapy

Summary

Origin of equine-assisted therapies reaches deep into the history, although with the rise of animal rights, it is necessary to consider whether the implementation of such interventions does not in some way threaten the welfare of these animals. Part of this work is a superficial description of the planning and progress of such interventions. These include hippotherapy in physiotherapy and occupational therapy, hippotherapy in psychiatry and psychology, hipporehabilitation in pedagogical and social practice, and para vaulting. The effect of these interventions shows positive results, among which we can include an increase of joint mobility and muscle strength, positive behavioral changes in patients with dementia and the induction of calm and well-being, which contributes to an improvement of mental state.

Cortisol is the most important stress hormone, which affects many bodily processes and is especially associated with long-lasting stress. Its level can be measured in several ways. Measurement using the ELISA method to determine the value of cortisol consists in the use of biological material such as blood, saliva, excrement, or hair. However, attention is paid to the distortion of the results by cross-reactive substances and even to the fact that an increased level of stress does not always have to correspond to stress, therefore other parameters should also be observed in parallel with cortisol, for example behavioral manifestations, oxytocin, pulse or breathing rate, adrenocorticotropin and other. As a result of stress, hypocortisolemia may develop because of high levels of stress in the body, which will reduce the sensitivity of receptors regulating the production of adrenocorticotrophic hormone.

Studies dedicated to examination of cortisol in animal-assisted therapy involving horses are divided according to the analysis of specific biological material. The most common material is blood plasma or saliva. An innovative option to perform this examination is by using hair. This method offers a non-invasive sampling method and long-term stress monitoring. Circadian and circadian secretion of cortisol is also considered. Cortisol fluctuations is specific to horses due to their way of living adapted to long movements and reproduction, since they are seasonally polyestrous animals driven by an annual cycle. The intensity of work does not increase cortisol levels as much as emotional arousal. We thus attribute a possible increase in the level of stress hormones to a negative emotional response linked to performed activities.

During the evaluation of cortisol levels in equine-assisted therapy, the methods of two groups was used, first one included people without disabilities and another group of people with a form of physical or psychological handicap. The assessment was made by monitoring the level of cortisol and behavioral manifestations. Results established that equine-assisted therapy is not a stressful matter for horses. Although the results mostly showed only mild stress, there is evidence that these activities can also provide the horses with positive stimuli that they did not experience in contact with humans without a medical handicap.

Keywords: animal-assisted therapy, horses, cortisol, stress, physiology

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Úvod do zoorehabilitace	3
3.1.1	Jednotlivé druhy zoorehabilitace	5
3.1.2	Zoorehabilitace se zapojením koní.....	6
3.1.3	Přínos hiporehabilitace.....	7
3.2	Projevy stresu u koní	10
3.2.1	Fyziologie stresu	10
3.2.2	Nejčastější příčiny stresu u koní.....	11
3.2.3	Metabolické projevy stresu u koní.....	13
3.2.4	Behaviorální projevy stresu u koní.....	14
3.3	Kortizol	18
3.3.1	Funkce a metabolismus kortizolu	18
3.3.2	Měření kortizolu.....	19
3.3.3	Poruchy ve funkci kortizolu.....	21
3.4	Hladina kortizolu u koní v hiporehabilitaci	23
3.4.1	Cirkadiánní vylučování kortizolu u koní.....	23
3.4.2	Hodnocení kortizolu u koní v hiporehabilitaci	24
3.4.3	Behaviorální projevy koní během hiporehabilitací	29
3.4.4	Hodnocení vlivu hiporehabilitace na hladinu kortizolu.....	30
3.4.5	Návrh studie hodnocení kortizolu u koní v zoorehabilitaci	32
4	Závěr	33
5	Použitá literatura	34
6	Seznam použitých obrázků a tabulek	41
7	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	42

1 Úvod

Zoorehabilitace zahrnují zapojení zvířat do terapeutického prostředí a od svého vzniku došlo k rozšíření zvířecích druhů, které do rehabilitací zapojujeme. Podobně i výsledky čím dál častěji mluví ve prospěch těchto intervencí. Zvířata poskytují lidem útěchu v terapeutickém prostředí, kde jsou schopna uvolnit napětí, a dokonce ulevit od bolesti.

Koně zapojování do zoorehabilitací prochází náročným výcvikem, aby mohli pomáhat lidem. Pomocí jedinečného pohybu jejich zad jsou schopni rozvíjet mobilitu u lidí, kteří by jí jiným způsobem mohli dosáhnout jen obtížně, a proto jsou nenahraditelnou součástí terapeutického prostředí. Podobně důležití jsou však i pro lidi s různými psychickými znevýhodněními. Práce s nimi má pozitivní účinky na celkovou pohodu a zlepšuje samostatnosti a sebedůvěru.

Příklady využití můžeme pozorovat třeba u kontaktu koní s lidmi trpící diagnózami jako je mozková obrna, kde pohyb koňského hřbetu pozitivně stimuluje svalový systém. Výsledky, kterých pacienti dosahují jsou navíc rychlejší než v případě klasických rehabilitací, jak uvádí studie. Zlepšení v rámci psychického stavu je patrné například u lidí s diagnózou posttraumatické stresové poruchy. Při práci s koněm se mu musí člověk plně věnovat, za dohledu handlera s ním interaguje, což ho navrácí zpět do reality a pomáhá zvrátit proces disociace.

V současné době se při práci se zvířaty zaměřujeme ne jejich prožívání a různé možnosti, jak co nejvíce eticky zabezpečit jejich chov. Snaha nevystavovat zvířata stresujícím situacím by měla být nejvyšší prioritou každého správného chovatele. Společně s etickým chovem se dohlíží také na dodržování zásad welfare. Pohoda zvířat zapojovaných do intervencí je hlavním předpokladem vedoucím k pozitivním výsledkům. Vedlejším produktem tohoto snažení je bezpečnost, jež se s dohledem na zdravotní a duševní stav zvířat zvyšuje.

Koně se od psů značně liší, jde totiž o stádová zvířata, která ve volné přírodě sloužila jako kořist. Někteří jedinci tohoto druhu bývají náchylnější ke stresovým situacím, proto je důležité vyvarovat se u nich nepříjemným situacím. Někteří vědci dokonce předpokládali, že přítomnost koně v zoorehabilitaci je stresující v důsledku kontaktu s vysoce nepředvídatelnými lidmi.

I z těchto důvodů je nutné pečlivě každému klientovi přiřadit specifické zvíře, které bude odpovídat jeho individuálním potřebám a požadavkům, v případě dodržení těchto postupů tak můžeme maximalizovat účinky intervencí na zdravotní stav klienta, stejně tak jako udržet spokojenost zúčastněného zvířete.

2 Cíl práce

Cílem práce je vytvořit literární přehled na téma Sekrece kortizolu u koní a jeho měření v rámci zapojení koní v zoorehabilitaci za použití vědeckých databází. Dílčími cíli je popsat vylučování kortizolu, jeho rytmus a faktory, které sekreci ovlivňují. Dále je cílem popsat studie zaměřené na hodnocení hladiny kortizolu u koní v rámci zoorehabilitace a v neposlední řadě je cílem popsat nejkvalitnější postup měření hladiny kortizolu u koní a navrhnout design studie na základě literární rešerše.

3 Literární rešerše

3.1 Úvod do zoorehabilitace

Zvířata se v okolí člověka nachází již od nepaměti, existují o tom důkazy v podobě domestikace, která se datuje do období 14 000 let před naším letopočtem, kdy probíhala domestikace psa domácího (Grandgeorge & Hausberger 2011). Dle Galeta et al. (2021) bylo potvrzeno, že k domestikaci došlo zhruba v období svrchního paleolitu mezi lety 34 000 – 14 000 let před naším letopočtem. Jejich práce mnoha analýzami potvrdila významné morfologické změny paleolitických psů, které se přičítají domestikaci. Dochází totiž ke zkrácení lebky a zmenšení tělesného rámce, který je typické i pro další domestikovaná zvířata, například prasata.

Údaje o domestikaci koní pochází z oblasti Botaje na území Kazachstánu a datují se přibližně k roku 3500 před naším letopočtem, poskytují paleontologické nálezy, které naznačují, že koně byli pravděpodobně užděni a dokonce se na nich jezdilo. Analýza organických reziduí na keramice potvrdila zbytky koňského masa a výrobků zpracovaných z kobyliho mléka (Outram et al. 2009).

V současné době domácí mazlíčci často figurují jako “náhražka sociálního kontaktu“ skrze pouto, které mají s člověkem. Existují důkazy, že přítomnost zvířete v domácím prostředí navozuje spokojenost u lidí a rozvíjí sociální dovednosti u dětí. Zoorehabilitace mimo jiné cílí přesně na rozvíjení těchto dovedností u pacientů na základě interakcí lidí se zvířaty (Grandgeorge & Hausberger 2011).

V dávných dobách a kulturách po celém světě byla zvířata respektována jako zásadní partneři pro lidské přežití, zdraví a léčení. Mnoho duchovních tradic ctilo vztahy lidí se zvířaty, jako součást vzájemného propojení přírody se světem duchů. Příklad tohoto můžeme nalézt v rozličných šamanských rituálech, v nichž jsou zvířata průvodci duchovního světa (Serpell 2010). Podle Mezinárodní asociace organizací pro interakci mezi lidmi a zvířaty (anglicky International Association of Human-Animal Interaction Organizations – IAHAIO) existuje začlenění zvířat do terapeutického prostředí od konce 17. století. Tato americká organizace dohlíží na interakce mezi zvířaty a lidmi prováděné ve formě praxe, odborného výzkumu či vzdělávání a školení zvířat v nejrůznějších variantách (Mandrá et al. 2019). Dle Grandgeorge & Hausberger (2011) se však první záměrné zapojení zvířete formou terapeutické pomoci objevilo již v 11. století, kdy se pacienti z Belgické nemocnice starali o ptáky. Teprve poté se toto začleňování zvířat začalo rozšiřovat. Společně s tím také došlo k zapojování dalších zvířecích druhů do intervencí, jako jsou králíci, psi, kočky a koně.

Intervence se zapojením zvířete (anglicky animal – assisted interventions – AAI) jsou založené na předpokladu toho, že zvíře se stává klíčovou součástí zajišťující jejich efektivitu. Bylo doloženo, že zvíře přidává něco navíc k obohacení terapeutického prostředí, a je elementem, který nemůže být zastoupen člověkem či jiným stimulem (Wagner et al. 2022). Jedná se o podpůrnou terapii, jež lze rozdělit na několik poddruhů, jako jsou terapie se zapojením zvířat (anglicky animal – assisted therapy – AAT). V tomto druhu terapie zvíře působí jako motivační prvek a pomáhá pacientovi plnit předem nastavený terapeutický plán individuálně stanovený pro potřeby jednotlivých klientů. Postup probíhá pod dohledem

zdravotních specialistů a je pečlivě zaznamenáván s tím, jak se klientovy možnosti posouvají a cíle mění. Aktivity se zapojením zvířat (anglicky animal – assisted activities – AAA) jsou definované jako neformální, rekreační či motivační, v nichž je zvíře začleněno pod vedením handlera, jež může nebo nemusí být licencovaný. Taktéž se může jednat o dobrovolníka, který prostřednictvím aktivit napomáhá zlepšit kvalitu a spokojenost dalšího člověka (Yakimicki et al. 2019). Výuka se zapojením zvířat (anglicky animal-assisted education – AAE) je intervence, v níž se široce využívá podpora správného rozvoje emocionálních schopností, dále pak mezilidské komunikace a kognitivních dovedností. Ty typicky pomáhají s rozvojem u dětí, které jsou mentálně znevýhodněné, jako je tomu u poruch autistického spektra (Scandurra et al. 2021). Poslední jsou krizové intervence se zapojením zvířat (anglicky animal-assisted crisis response – AACR). Krizové intervence probíhají za dohledu certifikovaného asistenta. Ten poskytuje psychologickou pomoc a zajišťuje fyziologické potřeby během krizových situací, živelních pohromách a podobných nepředstavitelně nepříjemných situacích (Lackey & Haberstock 2019).

Programy AAI však mohou být zdrojem rizik, pokud intervence nejsou prováděné pečlivě. Jedná se o alergické reakce na přítomnost zvířete, strach z něj, v neposlední řadě jde o možnost poranění zvířetem jako je poškrábání nebo pokousání, a dokonce přenos zoonotických onemocnění (DiSalvo et al. 2005). Americká společnost pro epidemiologii ve zdravotnictví (anglicky The Society for Healthcare Epidemiology of America – SHEA) vytvořila pokyny pro zvířata ve zdravotnických zařízeních, jež zahrnují důležité kroky, jako je vytvoření písemných zásad, určených kontaktním osobám navštěvujícím AAI a formální školicí programy pro zvířata i pro ošetřovatele. Neexistuje však žádný právní závazek ke stanovení takových pokynů ve zdravotnických zařízeních. Kromě toho jsou organizace terapeutických zvířat samoregulované, a proto nemají žádné povinné školení o chování nebo zdravotní požadavky. Například 70 % organizací povolující zoorehabilitace potenciálně vystavuje pacienty riziku tím, že umožňuje navštěvovat zařízení terapeutickým zvířatům, která konzumují syrovou masitou stravu (Linder et al. 2017).

Při zapojení zvířat do terapeutického prostředí je třeba soustředit se také na etické aspekty důležité pro ochranu všech zúčastněných, ať už se jedná o lidi či zvířata. Zajištění přijatelných podmínek snižuje četnost stresorů ovlivňujících zvířata účastníci se intervencí (Fine & Griffin 2022). Hodnocení stresorů, jež mohou negativně ovlivňovat psy zapojované do AAI, se zúčastnilo 18 psů. Pohlaví byla zastoupena v obdobném množství a převážně se lišila v plemenech, přičemž majoritním plemenem byli labradoři. Intervence trvaly v průměru 15-30 minut a jejich výsledné posouzení odhalilo, že prostředí se jevílo jako nedostatečné. U více než čtvrtiny intervencí došlo k vyrušení (26,5 %), teploty byly příliš vysoké (16,2 %) a prostor nedostatečný (5,4 %). Významným faktorem, který vyvolával stresové chování u psů, byl věk klienta. Projevy byly sice mírné, ale častěji se objevovaly při interakci psů s dětmi mladšími 12 let (Marinelli et al. 2009). Dle Haubenhofér & Kirchengast (2007) docházelo u handlerů k signifikantnímu zvýšení hladiny kortizolu před započítím AAI a tato hladina se snížila po proběhlé práci. Dle předpokladů by se mohlo jednat o stres spojený s vykonáváním pracovní činnosti čili fyziologický stres. Psi takto signifikantního zvýšení nedosahovali, avšak jejich testování prokázalo, že salivární kortizol byl v jejich případě zvýšený po proběhlé intervenci. Nejvyšší hladinu kortizolu měli psi, kteří absolvovali zoorehabilitace trvající 3 hodiny. Předpokladem studie bylo, že by se mohlo jednat o zvýšení v důsledku

nedostatečných pauz mezi jednotlivými sezeními. Ve studii d'Angelo et al. (2021), jejichž výsledky jsou s předchozími v rozporu, bylo zjištěno, že u psů z útulku došlo ke signifikantnímu poklesu kortizolu po proběhlé intervenci. Tento rozdíl by mohl být způsoben interakcí s lidmi, ale také změnou prostředí.

Psovod je důležitou součástí týmu, který se účastní zoorehabilitací a v rámci propojení se svým psem významně přispívá ke zlepšení welfare. Dohlíží na prevenci a průběh intervence, bere ohled na požadavky svého psa a dohlíží, aby nedošlo k překročení jeho limitů. Psovod samotný není zodpovědný pouze za plánování průběhu prováděné terapie či aktivit, ale také za správu prostoru, kde se nachází. Ten je uspořádán takovým způsobem, aby pes v případě diskomfortu mohl bezpečně prostor opustit a vystoupit tak z interakce s člověkem, ať už z důvodu stresu či únavy (Mignot et al. 2022).

3.1.1 Jednotlivé druhy zoorehabilitace

AAT je formou podpůrné terapie, jež zapojuje trénované psy, kteří pomáhají lidem k dosažení cílů zlepšením jejich psychického a fyzického zdraví navozením klidu a pohody. Navíc také pomáhají snížit hladinu prožívané bolesti (Marcus 2013). Prováděné terapie fungují na principu podpory klienta přítomným zvířetem. Na samotné provedení vždy dohlíží odborně školení zdravotníci a působí jako rozšíření léčebného plánu, kdy za použití aktivit, například hlazení či česání, dochází ke zvýšení svalové síly a zlepšení kontroly společně s jemnou motorikou. Přítomná zvířata jsou silným motivačním prvkem a pomáhají tak pacientům dosáhnout lepších výsledků. U dětí dochází například k učení adekvátních doteků, snižují úzkost, podporují kontakt a významně napomáhají propojit se s dalším živoucím tvorem. (Nimer & Lundahl 2007; López-Cepero 2020). V důsledku vyplavování oxytocinu během kontaktu se zvířaty je pro některé pacienty, snazší účastnit se bolestivějších procedur. Tento hormon je mimo jiné zodpovědný za posouvání prahu bolesti (Marcus 2013; Wagner et al. 2023).

AAA zahrnují neformální interakce mezi lidmi a zvířaty. Jedná se o plánované intervence s cílem poskytnout útěchu, snížit stres a podpořit jednotlivé klienty. Cíle obvykle nejsou dokumentovány ani speciálně měřeny, probíhají totiž mimo výzkumné prostředí. Nejčastěji se aktivit účastní psi, ale mohou se jich účastnit také miniaturní koně, kočky, králíci a ostatní zvířata (Kowalski et al. 2021). Dle O'Haire et al. (2014) lze provozovat aktivity i bez odborného proškolení či předem stanoveného programu, který se dá tvořit spontánně dle potřeby a situace.

AAE je plánovanou řízenou intervencí, která je vhodná zejména pro děti trpící vývojovými poruchami nebo dalšími znevýhodněními. Zvíře zapojené do intervence klientovi poskytuje množství nepřetržitých stimulů, které vyústí v množství rozdílných fyzických, kognitivních a emočních odpovědí. Postupně dochází ke zlepšení sociálních dovedností a verbální komunikace. Mezi další pozitiva můžeme zařadit také zlepšení čtení, empatie či komunikace. Ideální použití intervence tohoto typu je u dětí s poruchou autistického spektra (PAS), poruchou pozornosti s hyperaktivitou (anglicky attention deficit hyperactivity disorder – ADHD), mozkovou obrnou (MO) nebo dokonce v nápravných zařízeních. Pokrok bývá zaznamenáván a vede k lepší integraci jedince do společnosti (Lobato Ricón et al. 2021).

AACR je úzce podobá AAT, jelikož se jí účastní odborně proškolení specialisté a poradci. Princip intervence je založen na budování terapeutických mostů. Společně poskytují emocionální podporu a útěchu jedincům, kteří se stali oběťmi traumatu nebo krize. Zvíře je schopné získat si klientovu důvěru a nechá oběť zpracovat prožitý zážitek či ztrátu a nalézt kompenzační mechanismus, jak se se ztrátou vyrovnat, což ji posouvá a stabilizuje (Greenbaum 2006; Lackey & Haberstock 2019).

3.1.2 Zoorehabilitace se zapojením koní

První z komunit, která začala tvořit vztah mezi lidmi a koňmi, bylo antické Řecko. Dochované záznamy z období před více než 2000 lety před naším letopočtem, pojednávají o terapii za přítomnosti koní, kteří pomocí svého hřbetu pomáhali nemocným. V roce 600 před naším letopočtem o těchto praktikách pojednával řecký lékař Orbasis z Lydie. Ve svých spisech zmínil, že koně nejsou dobří pouze k přepravě na dlouhé vzdálenosti, ale také významně zlepšují zdravotní stav a spokojenost u lidí trpících různými psychickými a fyzickými znevýhodněními (Steiger & Steiger 2008). V pátém století před Kristem se k tomuto tvrzení přidal také Hippokrates, který zdokumentoval "životodárný" rytmus koně (Rigby & Grandjean 2015). Sociální služby začleňující koně se za posledních 30 let značně diverzifikovaly a rozšířily. Je tedy dobře zdokumentováno, že mnoho různých typů intervencí, které zahrnují koně (nebo jiné koňovité), bylo poskytováno lidem od batolat po seniory, s širokou škálou postižení, zdravotních problémů a dalších životních obtíží (Wood et al. 2021). Celkově lze hiporehabilitaci (anglicky equine-assisted interventions – EAI) rozdělit na čtyři běžně praktikované obory (Fine & Andersen 2021). Mezi nimi můžeme nalézt intervence napomáhající léčit psychické a fyzické obtíže či patologie. Jedná se o hipoterapii ve fyzioterapii a ergoterapii (HTFE), hipoterapii v pedagogické a sociální praxi (HPSP), hipoterapii v psychiatrii a psychologii (HTP) a para jezdeckví (Ferlazzo et al. 2022).

Hipoterapie ve fyzioterapii a ergoterapii je formou fyzické, pracovní a logopedické terapie, při které trénovaný terapeut využívá charakteristicky rytmické a střídavé pohyby koně k poskytování multisenzorické aferentní stimulace působící na centrální nervovou soustavu (CNS). Vytvoří se základ pro zlepšení smyslového zpracování a funkcí neurofyzilogických, psychomotorických či sociálních. Pohyb koňského hřbetu poskytuje jak senzorické, tak i motorické podněty. Děje se tak během přirozených pohybů koně, jenž se houpe dopředu a dozadu. Tento pohyb pomáhá klienta stimulovat k udržení rovnováhy, tím dojde ke zlepšení vyrovnávacího systému postoje a celkovému zpevnění (Koca & Ataseven 2016; Ferlazzo et al. 2022).

Hipoterapie v pedagogické a sociální praxi kombinuje učení společně s interakcí s koňmi. Podporuje rozvíjení týkající se regulace afektivních, fyziologických a behaviorálních schopností. Tyto intervence zaznamenaly od roku 2016 téměř dvojnásobný nárůst v popularitě (Pendry et al. 2018). Dle studie Pendry & Roeter (2013) byly během prováděných intervencí HPSP pozorovány pozitivní změny u dětí ve věkovém rozmezí od 5-8 třídy základní školy. Mezi ně můžeme zařadit různé formy sociálních schopností, jako je zlepšení sebevědomí, samostatnost, zodpovědnost, cílevědomost a schopnost navazovat vztahy.

Hipoterapie v psychologii a psychiatrii je experimentálním a inovativním přístupem určeným k psychoterapiím, k vedení poradenství a zlepšení psychického zdraví. Jeho

všestranné použití dokáže pomoci klientům všech věkových skupin. Během terapie je kůň vnímán jako zprostředkovatel proměny, která napomáhá procesu učení a osobního rozvoje. V čase stráveném v přítomnosti koně klient navazuje se zvířetem silnou citovou vazbu a toto propojení pomáhá klientovi zkoumat vlastní pocity a prožívání skrze reflexi na koně. Díky tomu se tyto pochody mohou snáze klinicky interpretovat. Jedná se o poskytnutí bezpečného prostoru, kde při kontaktu s koněm klient vnímá svou osobní zkušenost ve vztahu. Jde o budování povědomí o svém chování a negativních vzorcích jedinečných pro daného klienta. Intervence postupně směřují k rozvoji psychologických a sociálních dovedností, lepšímu žití a pozitivním změnám psychického zdraví (Shelby & Smith-Osborne 2013; Bachi 2013). Přisuzování lidských vlastností koním nebo jiným zvířatům se nazývá antropomorfismus a pomáhá především dětským pacientům lépe navazovat vztahy s koňmi za účelem kognitivně behaviorální terapie (Rothe et al. 2005).

Parajezdeckví je sport, pod který v současné době spadá například pararezdúra, jež je jediným jezdeckým sportem zahrnujícím koně, a v němž mohou tělesně znevýhodnění lidé soutěžit na paralympijských hrách. Celkem mohou být rozřazeni do šesti skupin dle svého znevýhodnění. Jednotlivé skupiny zahrnují osoby po amputaci, lidi s diagnózou MO, paraplegiky, sportovce se zrakovým znevýhodněním, intelektuálním znevýhodněním a poslední skupina zahrnuje osoby, které nelze zařadit do předchozích skupin. Dále je zde pět stupňů, které se dělí podle stupně znevýhodnění. První stupeň zahrnuje osoby s nejzávažnějším znevýhodněním (De Haan 2015). Mezi parajezdecké sporty zařazujeme také paravoltiž. Jedná se o gymnastické pohyby prováděné na hřbetu koně. Tyto intervence posilují vztah mezi člověkem a koněm. Prováděné cviky pomáhají budovat důvěru a pohyb zlepšuje u klientů problémy týkající se emočních a behaviorálních problémů (Meregillano 2004)

3.1.3 Přínos hiporehabilitace

Přínosem hiporehabilitace je unikátní pohyb koňského hřbetu, který ovlivňuje hybnost kloubů jezdce, zvyšuje pohyblivost, zpevňuje svalstvo a celkově zvyšuje kvalitu života pomocí dosažení lepšího držení rovnováhy, síly a uvolnění spasticity (White-Lewis et al. 2019 a). Po psychické stránce dochází ke zlepšení samostatnosti, sebedůvěry, spokojenosti a pocitu úspěchu (White-Lewis 2019 b)

Mezi indikace, pro něž je hiporehabilitace vhodná, patří například mozková obrna, traumatické poškození mozku, Downův syndrom, poruchy autistického spektra, svalová dystrofie, amputace končetin, cerebrovaskulární onemocnění, skleróza, psychiatrická onemocnění, revma a poruchy týkající se míchy (Koca & Ataseven 2016).

Dle studie zaměřené na hiporehabilitace prováděné u dětí s mozkovou obrnou byly nalezeny důkazy, které potvrzují pozitivní vliv terapie se zapojením koní na vylepšení hodnocení měření hrubé motorické funkce (anglicky gross motor function measure – GMFM). Ta se specificky zaměřovala na hodnocení mobility chůze u těchto dětí (Heussen & Häusler 2022). GMFM je test využívaný fyzioterapeuty k měření změn v hrubé motorice u postižených dětí. Tento test je schopný zaznamenat jak pozitivní pokrok, tak i negativní změny (Brunton & Bartlett 2011). V případě, kdy bylo pozorováno, zda hiporehabilitace ovlivňuje souměrnost svalové síly, byly použity zhruba osmiminutové intervence. Účastnilo

se jich celkem 15 dětí od věku 4 do 12 let s diagnózou mozkové obrny a pomocí elektromyografie se monitorovala jejich svalová aktivita v pohybu na koňském hřbetě. V návaznosti na to byla měřena také svalová aktivita v sedě obkročmo na nepohyblivém barelu. V případě sedu na barelu nebyla aktivita svalů ničím ovlivněna. Výsledky hipoterapie tedy prokazatelně působily na spasticitu u dětí (Benda et al. 2004).

Terapie HTFE byly prováděné od délky jednoho dne po dobu až jednoho roku, kdy se nejčastěji jednalo o terapii trvající od dvou do tří měsíců a přesně v tomto rozhraní jsou patrné první terapeutické výsledky (Heussen & Häusler 2022). S těmito zjištěními však nesouhlasí Davis et al. (2009), kdy se hipoterapií účastnilo celkem 72 rodin s dětmi od 4 do 12 let. Programy měly celkové trvání od 6 do 26 týdnů, přičemž se děti účastnily hiporehabilitací jednou či dvakrát týdně po dobu od 40 do 120 minut. Závěrem bylo vyhodnoceno, že 10týdenní program hipoterapie neměl signifikantní vliv na GMFM, kvalitu života či zdraví účastníků studie.

Hiporehabilitace praktikovaná u Downova syndromu také zaznamenala pozitivní zlepšení GMFM a zlepšení postoje. Posouzení bylo provedeno dvěma fyzioterapeuty, v případě dvou dětí se jednalo o signifikantní posturální a také pohybové změny, kterých bylo možné dosáhnout v návaznosti na proběhlé terapie (Champagne & Dugas 2010). Obdobných výsledků bylo dosaženo u dvaceti dětí s Downovým syndromem, které se účastnily hiporehabilitací. Pro srovnání se dalších dvacet dětí stejného věku a podobných fyzických parametrů účastnilo běžných fyzioterapií. Závěrem celé studie bylo prokázáno, že fyzioterapeutické cvičení vykazovalo pouze malé pozitivní zlepšení, na rozdíl od hipoterapií, které dosahovaly středně dobrých výsledků, přestože se jednalo o poměrně krátkou dobu 3 měsíců (Voznesenskiy et al. 2016).

Další přínos hiporehabilitace můžeme pozorovat u terapií prováděných u dětí z Bosny a Hercegoviny, jež byly diagnostikovány s poruchami autistického spektra. Hiporehabilitací se účastnily čtyři děti ve věku od osmi do deseti let a celková terapie trvala 10 týdnů a pozorovala zlepšení psychosociálního vývoje dětí. Plně ji dokončily pouze tři z dětí, u jednoho z nich se projevila agresivita vůči koni, a proto musely být intervence přerušeny. Všechny ostatní děti prokazovaly nějakou míru pozitivního zlepšení. Osmiletá holčička diagnostikovaná s poruchou autistického spektra a lehkou mentální retardací po prodělaných intervencích dosáhla zlepšení o 20 % v oblasti smyslové a kognitivní a až 25% zlepšení v komunikaci, navíc si uvědomovala, ve který den se terapie konaly a užívala si jejich průběh. Další dítě účastnící se intervence byl desetiletý chlapec s těžkým poškozením intelektu a těžkým autismem, nakonec došlo ke malým změnám v socializaci, smyslové a kognitivní oblasti, avšak lehce se také zhoršilo jeho chování. Devítiletá holčička s autismem a lehkou mentální retardací taktéž dosáhla zlepšení. Výsledky se pohybovaly od 11-30 % v různých oblastech (Memishevikiy & Hodzhikj 2010).

Terapeutické programy zahrnující ježdění na koních pomáhají mladým lidem, kteří se potýkají s úzkostí. 39 mladistvých od věku od 6 do 17 let se účastnilo jezdeckých lekcí po dobu 10 týdnů a během této doby byla měřena hladina jejich salivárního kortizolu, jež dával najevo stres a mimo to také hladina oxytocinu, která naopak poukazovala na jedincem prožívanou relaxaci. Měření probíhalo v první, čtvrtém, sedmém a desátém týdnu. Celkové výsledky měření poukázaly na to, že v průběhu deseti týdnů se hladina kortizolu ve slinách postupně snižovala, ale hladina oxytocinu začala růst až od měření v 7. týdnu a nadále rostla

až do desátého týdne. Tímto můžeme prokazatelně poukázat na kladný vliv hiporehabilitace na mládež. Pozitivní změnou byla také lepší emoční regulace, čímž potvrzujeme kladný dopad na účastníky intervencí (Hoagwood et al. 2022). Studie Dabelko-Schoeny et al. (2015) posuzovala, jaký vliv mají intervence se zapojením koní na zlepšení fyziologického stavu a chování u osob s diagnózou Alzheimerovy choroby. Bylo tak učiněno prostřednictvím péče o koně, malování a vodění. Třetina dotazovaných pocítovala zájem a uspokojení během aktivit, které zahrnovaly malování a péči o koně. Velká část účastníků trávil čas interakcí s předměty, koněm nebo přítomným personálem. Jako hodnocení stresu byly použity analýzy hladiny kortizolu ve slinách. Dle předpokladu autora u lidí s vysokým hodnocením v krátkém testu hodnotícím mentální stav (anglicky mini mental state exam – MMSE) došlo během intervencí k signifikantnímu zvýšení hladiny kortizolu na rozdíl od doby, kdy pobývali v denním stacionáři, tudíž pro ně mohl být pobyt u koní více stresující. Na druhou stranu, když se jednalo o lidi s nízkým skóre MMSE, byla hladina kortizolu nižší, přestože nebyla statisticky signifikantní. Vliv intervencí je pokládán za pozitivní, jelikož kladně přispěl k redukci problematického chování. Například došlo ke snížení agresivity nebo četnosti útěků.

V případě studie Ewing et al. (2007) zaměřené na učení se zapojením koní byly použity různé kvalitativní a kvantitativní metody v případě působení hiporehabilitací na děti s těžkými emočními poruchami. Průměrné IQ účastníků dosahovalo okolo 80 a věk se pohyboval od deseti do třinácti let. Děti se starali o koně po dobu devíti týdnů a na konci bylo zjištěno, že program nezpůsobil signifikantní změnu ani v jedné z 5 hypotéz. Přesto však výsledků bylo dosaženo, a to v případě kvalitativních změn. Desetiletá holčička se dokázala ‘napojit’ na přítomného koně, který jí byl přiřazen a s touto pomocí se dokázala otevřít a mluvit o svých pocitech. Nakonec se i přes vše dokázala opět smát. Taktéž u třináctiletého chlapce s ADHD, jež byl skutečně velmi živý, navíc se s možnými problémy vypořádával pomocí útěků, nastal pozitivní vývoj. Na ranči se naučil pracovat s koňmi a získal sebejistotu a kontrolu. Navíc měl k dispozici velmi klidnou dobrovolnici, které se naučil důvěřovat a zjistil, že se na ni s každým problémem bude moci obrátit, proto již neměl potřebu utíkat.

3.2 Projevy stresu u koní

K pochopení toho, jakým způsobem může dojít ke zvýšení hladiny stresu u koně je třeba zaměřit se na jejich etologii. Ta má vliv na způsob, jakým kůň reaguje na možné změny welfare, které ho ovlivňují v domácím prostředí (Goodwin 2004). V dnešní době nelze výraz stres jen tak lehce definovat. Formulace hodně závisí na poli působnosti a jeho možným výkladem je, že se jedná o reakci na negativně přijímaný podnět, faktor či situaci. Popřípadě jde o přírodní faktory ovlivňující buňku, orgán nebo tělo samotné (Bienertova-Vasku et al. 2022). Na rozdíl od jiných pastevních zvířat disponujícími rohy či parohy je hlavním obranným mechanismem koňovitých útěk. Potřeba odhalit a vyhnout se potenciálnímu predátorovi tvořila jejich morfologii, smysly a chování. Do dnešního dne, je toto věc, na kterou je potřeba brát ohled, vytváří totiž vztah mezi člověkem a koněm (Goodwin 1999). Dle Riva et al. (2022) jsou koně specificky popisováni jako kořist. Jejich evoluce jim pomáhá rychle reagovat na případné nebezpečí. Reakce se projevuje pocením, třesem a pokusy o útěk.

Ve své studii Kaiser et al. (2006) popisuje celkem sedm druhově specifických projevů, jejichž přítomnost indikovala stres a podrážděnost. Jedná se o stažení uší dozadu, zvedání hlavy, otáčení hlavy do levé či pravé strany na základě akcí provedených jezdcem. Dále pak házení hlavou, kývání hlavou, držení hlavy dole a kálení.

Fyziologický tep koně má rozsah od 24 do 40 tepů za minutu v klidovém režimu (Taylor et al. 2010). Dechová frekvence dosahuje v klidovém režimu fyziologického rozpětí 12-20 dechů za minutu (Kovac et al. 2021) a průměrná teplota nabývá hodnot od 37,6 do 38,5 °C s průměrnou hodnotou 38 °C (Green et al. 2005).

3.2.1 Fyziologie stresu

Pod pojmem stres si lze představit dva druhy stresu. Sem řadíme eustres a distres (Sies 2019). Na poli biomedicínských věd je obecně přijímaným konceptem stresu obecný adaptační syndrom (anglicky general adaptation syndrome – GAS) vytvořený endokrinologem Hansem Selyem v roce 1936. Skládá se celkem ze tří fází. V případě, kdy se v blízkosti organismu objeví potencionální hrozba, tak organismus přejde do poplachové fáze. V případě savců dochází k odpovědi v podobě produkce adrenalinu. Pokud hrozba přetrvá, tak organismus přejde do fáze rezistence, kdy se svépomocí pokouší vlivům stresu odolat a takto se s ním vyrovnává, dokud nenastane poslední fáze a tou je vyčerpání. Tělo již přichází o všechny zásoby a není v jeho silách si udržet normální funkci (Kranner et al. 2010). Pokud je hladina stresu pro organismus příliš vysoká, tak může působit okamžité poškození molekul vedoucí ke ztrátě funkce a v návaznosti na to až k buněčné smrti (Burton & Jauniaux 2011).

Eustres je hodnocen jako pozitivní kognitivní reakce na hodnocení situace, která se může během přítomnosti stresoru změnit. Lze jej také popsat jako pozitivní rozpor mezi vnímáním a očekáváním, čehož lze využít jako motivaci. Je vysoce variabilní a závisí na citlivosti a subjektivním prožívání jedince. Distres na druhou stranu naznačuje, že jedinec bude čelit negativním emocím a lze u něj prokázat fyziologicky měřitelné nepříznivé účinky ovlivňující funkce v organismu (Bienertova-Vasku et al. 2020).

V první poplachové fázi, kdy se organismus dostává do kontaktu se stresorem, se aktivuje autonomní nervový systém a tělo produkuje katecholaminy a glukokortikoidy. V řádu minut

vzniká první důležité rychlé potlačení stresu na bázi produkce kortikoliberinu (anglicky Corticotropin-Releasing Hormone – CRH). Jedná se o hormon, který následně stimuluje sekreci adrenokortikotropního hormonu (anglicky adrenocorticotropic hormone – ACTH), jež pak působí na tvorbu hormonů v kůře nadledvin ovlivňující další orgány. Jsou to katecholaminy jako adrenalin a noradrenalin nebo glukokortikoidy kupříkladu kortizol, kortikosteron a testosteron (Conn & Freeman 1999; Reece 2011). S úzkostí souvisí dva tělesné regulační mechanismy. V případě krátkodobého vzrušení na představený podnět dojde k aktivaci sympato-adreno-medulární osy (SAM) a s dlouhotrvajícími reakcemi souvisí osa hypotalamu-hypofýzy-nadledvin (anglicky hypothalamic–pituitary–adrenal – HPA). Tyto dvě osy představují různé (ačkoli komplementární) aspekty reakce jedince na stres a mohou být indikátory jeho celkového stavu úzkosti. V reakci na stresory působí osa SAM velmi rychle a prostřednictvím větve sympatického nervového systému (SNS) spadajícího pod vegetativní soustavu, aby vyvolala reakce v cílových orgánech (např. srdce, tepny, kůže) s podporou adrenalinu produkovaného z dřene nadledvin přímou nervovou stimulací z hypotalamu (Bitsika et al. 2014).

Glukokortikoidy jsou významné při adaptivní fázi stresu, významně ovlivňují osu HPA. Chronická aktivace stresového systému může působit na prodlužování doby, kdy organismus ovládají převážně katabolické metabolismy. Dlouhodobé vystavení stresu následně vede až k chronické kortizolémii, která se může vyznačovat například inzulinovou rezistencí, vysokým krevním tlakem, dyslipidemií, kornatěním cév, steatózou jater nebo zvýšenou srážlivostí (Kyrou & Tsigos 2009).

3.2.2 Nejčastější příčiny stresu u koní

Zvířata mohou během svého života čelit diskomfortu, jež je schopen vyvolat stresovou reakci organismu, tento diskomfort zahrnuje fyzické a emoční stavy. Mezi ty patří bolest, žízeň, hlad, onemocnění a odpovědi organismu na pobyt v nepříznivém prostředí. Emoční odpovědi je pak strach, úzkost, frustrace a deprese. V zájmu zlepšování kvality života zvířat by se vždy mělo dbát na začlenění pěti svobod, které zahrnují svobodu od hladu, žízně a podvýživy, svobodu od nepohodlí, svobodu se přirozeně projevit, svobodu od strachu a stresu a na závěr svobodu od bolesti, zranění a nemoci (Sawyer & Huertas 2018).

Velké množství zvířat je v současné době drženo v zajetí, je tedy důležité zohledňovat problémy objevující se v chovech, jako jsou teplota, hluk, přístup k vodě a jídlu (McMillan 2019). Psychologické stresory vnímané jako hrozby mohou být stejně důležité jako stresory fyzické povahy. Situace nejistoty, sociálního tlaku a strachu jsou silnými stresory významně narušující dobré životní podmínky zvířat, jež vedou k vážnému poškození konkrétních cílových orgánů a tkání nebo dokonce ke smrti citlivějších jedinců. Přeprava je považována za hlavní stresor pro hospodářská zvířata a může mít škodlivé účinky na zdraví, pohodu, užitek a v konečném důsledku na kvalitu produktů (Borell 2001).

Zvířata jsou schopna cítit bolest, stres a úzkost. Jde o součást života, která se nedá tak úplně eliminovat. V případě bolesti jde o nepříjemný sensorický a emocionální prožitek asociovaný s potencionálním či skutečným narušením tkáně. Bolest způsobuje stres, tudíž se jedná o významný stresor (Carstens & Moberg 2000).

Stres vyvolaný bolestí byl na základě studie Mair et al. (2014) u koní pozorován prostřednictvím měření hladiny kortizolu. Základ tvořily dvě skupiny koní. První kontrolní skupina netrpěla kolikovitými bolestmi, zatímco u druhé byla diagnostikována kolika. Měření probíhalo v podobě sérového kortizolu a výsledky potvrdily, že jeho hladina se v porovnání se zdravými koňmi zvýšila v důsledku probíhajícího diskomfortu. Koně, kteří trpěli kolikovitými bolestmi, zaznamenali nárůst kortizolu v krvi. Zároveň byl jejich tep rychlejší než fyziologický a vyšplhal se na průměr 45 tepů za minutu, což je hodnota značící stres. Příčiny zvýšené hladiny kortizolu u koní jsou nejspíše multifaktoriální, avšak propojené s reakcí osy HPA, jež taktéž hraje důležitou roli v případě stresové reakce.

Teplotní stres je jedním z nejvíce významných stresorů působící na živý organismus a u zvířat negativně ovlivňuje produktivitu společně s kvalitou života. Tento stres se pojí s vysokou teplotou prostředí a vlhkostí, která způsobí aktivaci autonomního nervového systému (ANS). Ten je spravován pomocí katecholaminů produkovaných z osy HPA. Na venek se tento stres projeví zrychleným dýcháním, srdečním tepem, zvýšenou celkovou teplotou organismu a aktivací termoregulačních mechanismů v podobě redistribuce krve z jadra těla k povrchu, tedy do kůže. Jak v případě akutního, tak i chronického teplotního stresu, dochází k uvolňování glukokortikoidů do krve. V případě akutního stresu však můžeme pozorovat zvýšení tělesné teploty (Gonzales-Rivas et al. 2020).

Hluk může u koní vyvolávat úzkost a ta následně významně ovlivňuje welfare koní. Porovnávány byly dotazníky celkem 1839 majitelů a bylo zjištěno, že zhruba pětina (22 %) z nich u svého koně pozoruje abnormální behaviorální odezvu na zvukový podnět. Tito koně byli rozděleni dle reaktivity na lehce a velmi úzkostné, přičemž velmi úzkostní jedinci vykazovaly vysokou frekvenci stresového chování a známek reaktivity na zvuk. Z průzkumů vyplývá, že citlivost na zvuk může mít vážné následky, například vznik gastrointestinálních problémů, anebo zranění při útěku. Možné řešení této situace by mohlo poskytnout využití léčivých přípravků potlačujících úzkost u zvláště citlivých zvířat (Riva et al. 2022).

Primárním zjištěním studie zaměřené na **omezení prostoru** výběhu u koní byl fakt, že koně v největším výběhu disponujícím 342 m² na koně zaznamenali nižší koncentraci kortizolu po 15 minutách, zatímco ve středně velkých a malých výbězích nezaznamenali změnu koncentrace kortizolu. To naznačuje, že skupinová účast ve výbězích s dostatečnou rozlohou snižuje četnost napadení dominantnějšími jedinci, jelikož poskytuje prostor k útěku. U velkých výběhů se proto snížila agresivita a stresové reakce. Vzhledem k prostoru lze lépe udržovat sociální struktury stáda a vyvarovat se tak potencionálním problémům u uměle vytvořených stád (Suagee-Bedore et al. 2021).

Transport je potencionálním stresorem u velkých hospodářských zvířat a jiných velkých savců držených v zajetí. Koně jsou druh, který byl přepravován po staletí, nejprve pomocí lodí a vlaků. V současné době funguje přeprava koní prostřednictvím aut a nyní dokonce i letadly na místo konání soutěží v jiných státech a někdy dokonce i kontinentech. Na základě sledování nárůstu hladiny kortizolu u přepravovaných zvířat můžeme konstatovat, že transport je pro koně stresovou záležitostí. K jeho měření se využívá zejména krevní sérum, jehož odběr je invazivní a předpokládá se, že metody odběru ze slin a trusu by mohly být lepší, jelikož by nedocházelo k alteraci výsledků zvýšením kortizolu v návaznosti na stres z opakovaných odběrů (Schmidt et al. 2010). Celkem čtyřicet dva zdravých anglických plnokrevníků bylo přepravováno na vzdálenost 100, 200 a 300 km. Taktéž se u nich před a po

cestě prováděly odběry krve a pozorovala se v ní hladina β -endorfinů, ACTH a kortizolu. V případě β -endorfinů se signifikantní změna projevila pouze u vzdálenosti na 100 km a došlo k jejímu zvýšení. Pro hodnoty ACTH došlo k výraznému zvýšení u přepravy na 100 km, avšak signifikantní změny byly pozorovány i u přepravy na 200 km. Poslední sledovaný hormon byl kortizol a jeho nárůst byl signifikantní u všech transportů, kde se jeho hladina zvýšila téměř dvojnásobně (Fazio et al. 2009). Stejných výsledků dosáhla také studie Tateo et al. (2012), kde došlo k porovnání dvou různě dlouhých transportů, první cesta měla délku 50 km a trvala 1 hodinu, zatímco druhá měla délku 200 km a časový úsek cesty činil 3 hodiny. U transportovaných koní se hodnotil tep, dechová frekvence, teplota a hladina kortizolu. Tato studie prokázala, že kratší cesta byla pro koně více stresující, což potvrzuje vyšší hladina plazmatického kortizolu. Dalo by se předpokládat, že v případě hodinové cesty se koně nestihli včas adaptovat na průběh cesty.

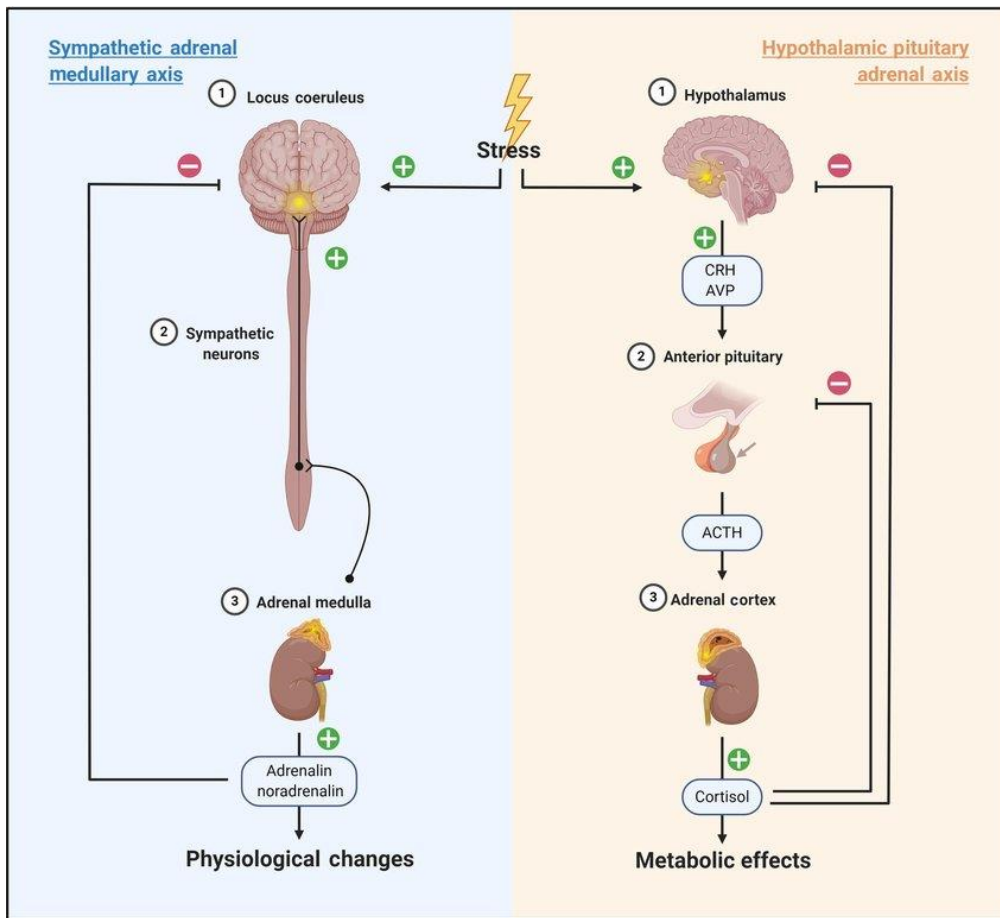
3.2.3 Metabolické projevy stresu u koní

Ve své práci Kovac et al. (2021) uvádí, že na rozdíl od hlodavců nebo lidí nejsou koně tak dobře prozkoumání, pokud jde o neuroendokrinní regulaci stresové reakce. Zejména na acelulární a molekulární úrovni v mozkových strukturách jsou výsledky hlodavců a lidí podobné, proto mohou být v tomto přehledu částečně extrapolovány na koně, jak uvádí autor.

Sympatické axony inervují periferní orgány a tkáně v celém těle a řídí různé fyziologické procesy, včetně srdečního výdeje, tělesné teploty, hladiny glukózy v krvi a imunitních funkcí za bazálních podmínek (Scott-Solomon 2021). Sympatická homeostáza poskytuje neuronům informace potřebné k udržení stabilní funkce. V případě, že se objeví nějaké narušení nebo nějaký problém, vychýlí se homeostáza organismu. Dojde k vytvoření negativní zpětné vazby, která zachytí určitý aspekt aktivity a v případě, že neodpovídá tělu nastaveným normám, tak sympatická aktivita těla bude pracovat tak, aby došlo k nápravě a nastavení se vrátilo zpět do těla přirozených norem (Turrigiano 2007).

Stresová reakce je řízena SNS a osou HPA. Celý proces zpracování začíná v hypotalamu a mozkovém kmeni, produkcí CRH a argininu-vazopresinu (AVP). Tyto hormony jsou vyplaveny do krevního řečiště a CRH následně ovlivňují sekreci ACTH a kortizolu. ACTH dále působí na kůru nadledvin a stimuluje produkci glukokortikoidů a katecholaminů (Kyrrou & Tsigos 2009). Glukokortikoidy, konečné produkty osy HPA, hrají zásadní roli při udržování klidové i stresové homeostázy a nepochybně ovlivňují fyziologickou adaptační reakci organismu na stresory a jejich sekrece je stimulována ACTH. Hlavní funkce glukokortikoidů je udržování metabolismu sacharidů, kde spouští proces glukoneogeneze, což je produkce glukózy z nebílkovinných složek, tedy tuků a bílkovin. Navíc mají glukokortikoidy také protizánětlivý účinek (Nicolaidis et al. 2015; Reece 2011). Paralelně s osou HPA se v organismu zapojuje také dráha SAM, jedná se o fyziologickou dráhu, která zprostředkovává reakci na stresor v podobě uvolnění adrenalinu a noradrenalinu (viz obrázek 1) (Chmelíková et al. 2020; Carlton et al. 2021).

Obrázek 1: Srovnání drah SAM A HPA (Carlton et al. 2021)



Vasopresin hraje hlavní roli v regulaci homeostázy vody a sodíku svým antidiuretickým působením na ledviny. AVP může také hrát roli v některých metabolických drahách, včetně glukoneogeneze, prostřednictvím svého působení na receptory exprimované v játrech (Bankir et al. 2017).

Dle Kovac et al. (2021) mají katecholaminy u koní zásadní roli, jelikož ovlivňují srdeční činnost a ta je v případě stresu u tohoto druhu skutečně enormní. V případě akutní poplachové reakce se tep může zvýšit 7-8krát. Významný rozdíl se nachází také ve slezině, jež slouží jako zásobárna krve. Ta u koně zadržuje 50-60% krve, kterou je v případě akutní reakce na stresovou situaci schopna rychle vypudit, vzhledem k velkému množství adrenergických receptorů, což můžeme fyziologicky pozorovat na zvýšeném hematokritu. Koně jsou tedy na stresové faktory citlivější než jiné druhy.

Výše uvedený autor také popisuje, že lze pozorovat zvýšenou dechovou frekvenci, dochází k mydriáze, která u koní způsobí tunelové vidění, zvýší se tělesná teplota a může dojít k pocení, potlačí se tvorba slin a sníží se mobilita gastrointestinálního traktu, závěrem se také zrychlí funkce srážlivosti krve a to, aby se zabránilo masivní ztrátě v případě poranění.

3.2.4 Behaviorální projevy stresu u koní

V posledních letech roste zájem a potřeba komplexního etogramu popisujícího diskomfort v chování koně, zejména pro použití při rozpoznání behaviorálních projevů nepohodlí u

chovaných koní. Jasně pochopení těchto projevů nepohodlí koní mezi ošetřovateli, trenéry a profesionálním zdravotnickým personálem je důležité pro dobré životní podmínky zvířat a bezpečnost ošetřovatelů. Cílem etogramu koňského nepohodlí bylo popsat relativně obsáhlou variabilitu reakcí spojených s nepohodlím různého stupně, s motivací zlepšit porozumění a srozumitelnost komunikace s koňmi. Výsledný seznam stresového chování koní v etogramu zahrnuje celkem 64 specifických behaviorálních projevů seskupených do osmi kategorií (viz. tabulka č.1).

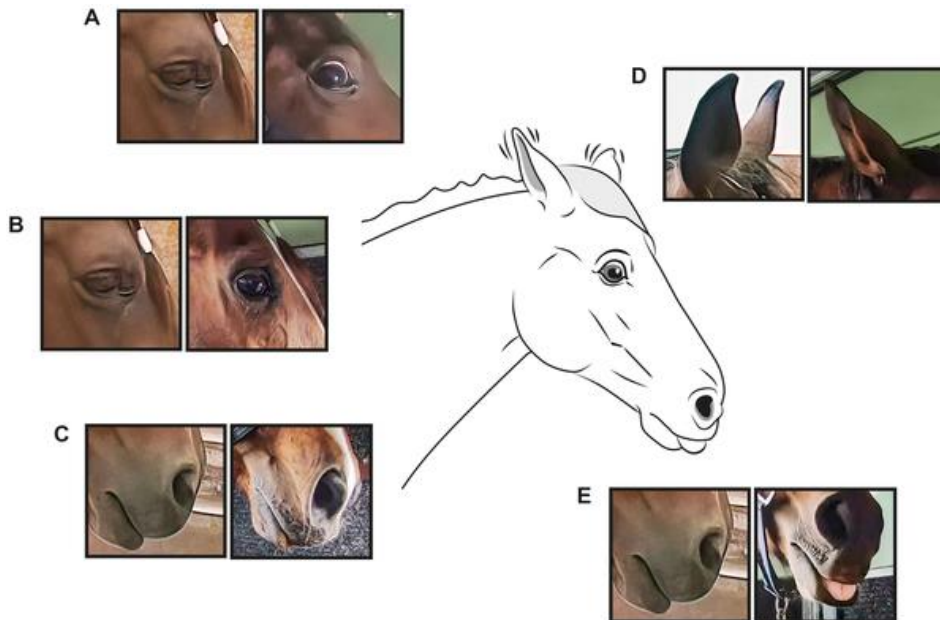
V těchto kategoriích se studie zaměřuje na změny v pohybech částí těla koně přes celkové změny v chování, v příjmu potravy, až po vokální projevy (Torcivia & McDonell 2021).

Tabulka 1: Etogram stresového chování

KATEGORIE	JEDNOTLIVÉ PŘÍKLADY
Postoj a přenášení váhy	1. nefyziologický pohyb (př. laminitida); 2. Přenášení váhy/ odpočívající končetina; 3. „ukazování“ hrudní končetinou; 4. delší odpočívání končetiny; 5. překřížené končetiny; 6. končetiny pod břichem; 7. tažení končetiny; 8. visící končetina; 9. široce rozkročený postoj; 10. nízko položená hlava; 11. stažené břicho; 12. Opírání se o objekt; 13. atypický leh; 14. obtížné vstávání; 15. močící postoj a snaha bez proudu; 16. lichoběžníkový postoj; 17. kálení s obtížemi
Kulhání a pohyby těla	1. pochodování na místě; 2. zvedání nohy; 3. hrabání; 4. dupání; 5. vykopávání směrem vzad; 6. kopání směrem k břichu; 7. dovádění s vykopáváním; 8. válení se; 9. couvání; 10. třes končetin; 11. ucuknutí; 12. protahování se
Pohyby hlavy, krku, huby a pysků	1. otáčení hlavy a otřásání těla; 2. házení hlavou; 3. kývání hlavou; 4. kývání hlavy ze strany na stranu; 5. projevy napětí, vyplazování jazyka, žvýkání; 6. časté zívání; 7. spontánní flámování; 8. chvění pysků; 9. naklánění hlavy na stranu
Pozornost věnovaná částem těla	1. ohlížení se; 2. odhánění much; 3. péče o své tělo
Pohyby uší a ocasu	1. pohyb uší dozadu; 2. švihání ocasem; 3. plácání ocasem o hrázku; 4. držení ocasu vzhůru
Celkové chování	1. tupý výraz/depresivní chování; 2. hlídání; 3. omezený pohyb; 4. neobvyklá agresivita; 5. hypersenzitivita; 6. neklid
Změna v příjmu potravy a pití	1. usrkávání vody; 2. drobení; 3. netypické pohyby čelisti; 4. nechut' k jídlu
Vokalizace	1. povzdechy; 2. frkání; 3. kňučení; 4. sténání; 5. chrochtání; 6. kvičení; 7. křičení; 8. vrzání zubů

Škály bolesti zahrnují polohu uší jako proměnnou, ale používají různé definice. Celkově jsou však uši nastražené dopředu považovány za známky bdělosti a pozitivních interakcí, zatímco uši stažené dozadu se jeví jako příznak stresu (viz obrázek č. 2) (Ashley et al. 2005; Lundblad et al. 2021).

Obrázek 2: Projevy stresovaného koně (Lundblad et al. 2021)



Poukazuje se na širokou škálu chování, které se objevuje v návaznosti na pokusy vyrovnat se podmínkám okolí, do těchto pokusů zahrnujeme nežádoucí nebo abnormální reakce. Projevy nežádoucí neboli nevíтанé jsou typem normálního chování, jež se vyskytlo v návaznosti na specifické požadavky okolí. Například u koně bez přístupu ke krmivu se vyvinula lignofagie (požírání dřeva) jakožto kompenzační mechanismus nedostatku vlákniny. Za nežádoucí považujeme reakce, které jsou pro současnou situaci nevhodné a představují potencionální nebezpečí pro koně i člověka. Abnormální chování je výsledkem adaptivních mechanismů a pojí se s problémy souvisejícími s trávicí soustavou. Do tohoto chování můžeme zařadit orální stereotypie, jež u koní pomáhají regulovat stres a fyziologii trávení při klkání (Budzyńska 2014). Vědci zabývající se oblastí welfare popsali různé stereotypie. Jejich zjištění poukazuje na fakt, že vyvinutí těchto vzorců chování svědčí o špatném chovu, jehož součástí jsou negativní emoce, jako je nuda, frustrace nebo averze ve stabilním prostředí. Zabraňování projevů těchto vzorců chování může následně vést ke zvýšenému utrpení. Mnoho stereotypií se v rámci svého rozvoje mění a rozvíjí. Postupně se opakují čím dál tím častěji a více se liší od svých původních vzorců chování. Tyto změny je následně těžší narušit jak behaviorálně, tak farmakologicky (Cooper & McGreevy 2007). Pohybové stereotypie zahrnují kopání do zdi, které se nejčastěji projevují u mladých zvířat a chůzi koně v kruzích, která je typická pro laktující klisny (Mejía et al. 2022). Tkalcování také patří do pohybových stereotypií a zahrnuje přenášení váhy z jedné nohy na druhou a kývání hlavou do strany (Cooper et al. 2000).

Široká škála behaviorálních projevů byla také fyziologicky ověřena na přítomnost stresu a může sloužit pro hodnocení welfare. Posouzení bylo vytvořeno pomocí analýzy skládající se z natočených videí, na nichž bylo pozorováno chování koně a zhodnoceno bylo zkušenými odborníky, k označení použity definice z odborné literatury a na závěr každé chování bylo fyziologicky vyšetřeno neinvazivní metodou. Došlo k odběru slin a posouzení hladiny kortizolu. V návaznosti na tato posouzení byl vytvořen fyziologicky podložený etogram, který člení zaznamenané chování dle míry stresu od žádného stresu až po stres vysoký (viz tabulka č. 2) (Young et al. 2012).

Tabulka 2: Hodnocení míry stresu dle chování

ÚROVEŇ STRESU	ÚROVEŇ	INDIKÁTORY CHOVÁNÍ
Žádný stres	1.	Kůň klidný, lhostejný, uvolněný, tichý, naslouchající
	2.	Kůň v pozoru a pozoruje okolí
Nízký stres	3.	Kůň je v pozoru, naslouchá okolí a jeví zájem o okolí
	4.	Zvědavý neklidný a bouřlivý
Střední stres	5.	Neklidný, projevující napětí v těle, vrtí se v klidném postoji
	6.	Nervózní, snadno se lekne
	7.	Nervózní, snadno se lekne
Vysoký stres	8.	Velmi neklidný a ostražitý
	9.	Rozrušený, neklidný, úzkostný, aktivní, agresivní, viditelně pociťuje nepohodlí
10.		

3.3 Kortizol

Kortizol je jedním z hlavních glukokortikoidů syntetizovaných v kůře nadledvin. Jeho sekrece je regulována hormonem hypotalamu, CRH, a hormonem hypofýzy, ACTH, v ose HPA. Je známý jako stresový hormon zapojený do reakce na fyzický a/nebo emoční stres. Podílí se také na různých homeostatických udržovacích mechanismech, například vyrovnávání krevního tlaku, ovládním imunitního systému, protizánětlivému působení a metabolismu bílkovin, sacharidů a tuků (Katsu & Baker 2021).

Je také široce používaným ukazatelem akutního stresu, avšak tento výklad představuje jisté nevýhody, které by mohly vést ke špatnému zhodnocení výsledků. Klíčovým aspektem je standardizovaná metoda odběrů vzorků a následné správné uchování vzorku před provedením imunologického testu. V dalších krocích je potřeba věnovat pozornost fyziologickým faktorům, které by mohly vést ke kolísání hladiny kortizolu, jako je cirkadiánní rytmus zvířete. Použití kortizolu jako markeru stresu je vhodné zaznamenávat s přidruženými behaviorálními projevy, jelikož chování nemusí vždy ovlivňovat produkci glukokortikoidů (Chmelíková et al. 2020).

3.3.1 Funkce a metabolismus kortizolu

Mezi hlavní funkce kortizolu je reakce na stresové podněty, avšak mimo tuto funkci působí také na homeostázu glukózy a bílkovin. Jeho přítomnost v krvi zvyšuje dostupnost krevní glukózy pro mozek. Glukokortikoidové receptory se nachází dokonce skoro na všech tkáních v organismu a díky tomu dokáží působit téměř na každý orgánový systém. Má vliv na nervový, imunitní, kardiovaskulární, respirační, reprodukční, muskuloskeletální a orgánový systém kůže. V játrech zvyšují vysoké hladiny kortizolu glukoneogenezi a snižují syntézu glykogenu. Glukoneogeneze je metabolická dráha, jejíž produktem je glukóza vyrobená z necukerných složek. Svaly mají vlastní vnitřní zásobu glykogenu, která jim umožňuje rychle reagovat na změny požadavků na adenosintrifosfát (ATP). V přítomnosti kortizolu svalové buňky snižují příjem a spotřebu glukózy a zvyšují degradaci proteinů; to dodává glukoneogenezi glukogenní aminokyseliny. Kortizol dále zvyšuje aktivitu glukagonu, epinefrinu a dalších katecholaminů (Thau et al. 2022). Kromě toho mají glukokortikoidy protizánětlivé a imunopresivní účinky, jež mohou ovlivnit náladu a kognitivní funkce (Spiga et al. 2014).

Glukokortikoidy jsou efektorové hormony neuroendokrinního systému osy HPA, je to systémový mezibuněčný signál, jehož úroveň se v průběhu cirkadiánního rytmu mění a dynamicky se zvyšuje v případě přítomnosti psychologického či environmentálního stresu. Osa HPA se skrze ACTH podílí na produkci glukokortikoidů, které zároveň vytváří negativní zpětnou vazbu a inhibuje kortikotropin a CRH v hypofýze (Spencer & Deak 2017).

Fyziologické faktory, které ovlivňují hladiny vylučovaného kortizolu u zvířat, závisí na více ukazatelích, mezi které řadíme druhovou příslušnost, plemeno a věk. Cirkadiánní rytmus, sezónnost, krmení, zátěž a další pak řadíme mezi vnější vlivy ovlivňující vylučování kortizolu. U koní není prokázáno, že by plemenná příslušnost nějak alterovala hladiny kortizolu. Plazmatický kortizol se však mění v průběhu stárnutí koní a u hříbat, která byla narozena předčasně byly naměřeny nižší koncentrace kortizolu. Sezónnost je také u koní

výrazně patrná a hladina dosahuje maxima mezi květnem a červnem. Pojí se také s krmením, může za to management chovu a jejich často omezený přístup ke krmivu, proto zhruba 30 minut před krmením dochází ke zvýšení hladiny kortizolu spíše než po konzumaci krmiva (Ambrojo et al. 2017).

Cirkadiánní rytmus můžeme vnímat jako periodicky se opakující 24hodinový cyklus, jež synchronizuje tělo s okolním prostředím. Cirkadiánní rytmy jsou charakteristické pro řadu biochemických, fyziologických, endokrinních a behaviorálních funkcí, což umožňuje organismu předvídat a připravit se na předvídatelné změny prostředí.

Kortizol má zvláštní cirkadiánní rytmus, který je ovlivněn spánkem. Na základě normální fyziologie jsou nižší hladiny kortizolu přítomny v počáteční fázi spánku, zatímco na jeho konci dochází k jeho zvýšení, které dosahuje svého vrcholu jen několik minut před probuzením. U koní nejvyšší denní hodnoty dosahuje krátce po ranním probuzení, před krmením a minimální hladiny jsou dodržovány mezi 18:00 a 21:00 (Spiga et al. 2014; Mohd Azmi et al. 2021; Kovac et al. 2021).

Fyzická aktivita, trénink a zátěž taktéž ovlivňují nárůst koncentrace kortizolu, ta výrazně vzrostla. Její růst však nebyl vyvolán intenzitou práce, ale spíše délkou tréningu (Hyypä 2005). To potvrzuje také Ferlazzo et al. (2020) kteří měřili nárůst kortizolu u koní v zátěži a potvrdili, že vylučování kortizolu je ovlivněno spíše délkou prováděných aktivit, avšak může se zvednout, pokud aktivita v koni vyvolává emocionální reakci. S intenzitou tréningu souvisí vyplavování hormonu β -endorfin.

Během cvičení vyplavený kortizol ovlivňuje metabolismus inzulínu, čímž maximalizuje poskytovanou energii organismu přítomností glukózy v krevním řečišti (de Graaf-Roelfsema et al. 2010).

3.3.2 Měření kortizolu

Stanovení hladiny kortizolu probíhá pomocí enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) je to test určený k detekci a stanovení koncentrace kortizolu imunologickou reakcí a po provedení všech kroků se množství hodnotí dle absorbance ve spektrofotometrii na vlnové délce s frekvencí 450nm. Toto měření disponuje vysokou přesností ve vzorcích z plazmy, moči a slin. Měření kortizolu z krevního séra je velmi přesná a obsahuje minimální odchylky, zatímco měření kortizolu z moči a slin je neinvazivní a nezpůsobuje tak stres při odběru (Turpeinen & Hämäläinen 2013; Geurtsen et al. 2015).

Více než 90 % kortizolu je v krvi v neaktivním stavu, jedná se o kortizol navázaný na bílkovinu jako jsou globuliny a albumin. V případě testování se zjistí celkové množství kortizolu a pomocí výpočtů pak dojde ke členění na volný a vázaný. Kromě své přesnosti však trpí tento způsob odběru mnoha nevýhodami, jimiž jsou například nutnost zdravotnického personálu a speciálního sterilního vybavení, dále pak možný přenos infekcí. Kortizol je nestabilní molekula a při pokojové teplotě degraduje. Odebraná plazma tak vyžaduje zvláštní zacházení a podmínky skladování. Možný stres a strach z odběru krve může také ovlivnit množství kortizolu v krvi, proto se v takovém případě doporučuje použít jednu z neinvazivních metod (Kaushik et al. 2014).

Slinný kortizol je ultrafiltrát plazmatického kortizolu a odráží hladiny biologicky aktivního kortizolu nevázaného na proteiny v séru. Sleduje cirkadiánní variace sérového kortizolu s nejvyššími hladinami ráno a nejnižšími o půlnoci. Pozdní noční slinný kortizol se běžně používá jako screeningový test na Cushingův syndrom. Výhodou testování slinného kortizolu je snadný, nebolestivý způsob odběru vzorků. Odběr lze provádět bez odborného zdravotnického dohledu a lze se tak vyvarovat stresu. Vzorky slin mohou být přeneseny do laboratoře během následujícího dne. Slinný kortizol je stabilní při pokojové teplotě po dobu 1–2 dnů a při teplotě v chladničce po dobu jednoho týdne. Odběry by měly být provedeny 2 hodiny po konzumaci potravy a důvod pro vyřazení může být, dochází-li ke krvácení v dutině ústní, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku (Turpeinen & Hämäläinen 2013).

Stanovení koncentrace kortizolu ve slinách lze využít pro zkoumání aktivity osy HPA u koní. Tato možnost, podobně jako u plazmatického vyšetření, prokázala denní cirkadiánní rytmus. Vzhledem k tomu, že odběr slin může být pro některé koně méně stresující procedurou, a že tento postup měří volný kortizol ve vzorku, je přesnějším ukazatelem aktivity HPA než celková koncentrace kortizolu, může být lepší volbou u jedinců citlivějších na stres (Bohák et al. 2013).

Stanovení kortizolu v moči vykazuje nižší přesnost, než jakou udává hladina v krevní plazmě, představuje totiž množství vyprodukované za určitý časový interval (tedy od poslední mikce). Stanovení hladiny kortizolu se využívá v diagnostice Cushingova syndromu souvisejícího s hyperprodukcí tohoto hormonu v těle. Volný kortizol v moči vykazuje dobrou shodu s výsledky hladiny kortizolu v krevní plazmě. Použité metody pro stanovení hladiny v moči byly vysokoúčinná tekutá chromatografie (anglicky High-performance liquid chromatography – HPLC) a radioimunoanalýza (RIA) (Gatti et al. 2009).

Stanovení kortizolu z trusu je neinvazivní a poskytuje důležité informace o endokrinním stavu zvířete. Ačkoli je však vzorkování relativně snadné a bez zpětné vazby, k dosažení správných výsledků ke stanovení závěru, je nutné pečlivě zvážení různých faktorů. Dbá se na citlivost, přesnost a je třeba se vyvarovat zkříženě reagujícím látkám. Preferovanou formou imunologického testu je HPLC. Jelikož v této formě není kortizol stabilní doporučuje se vzorky ihned po odběru zmrazit (Palme 2009).

Měření koncentrace kortizolu v srsti se stává novým přístupem k monitorování středně/dlouhodobého stresu u zvířat, takže je stále důležitější vyvinout přesné a spolehlivé metody. K této analýze se využívá metoda HPLC spojená s hybridní hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením. Tento způsob by mohl přispět ke stanovení prahových hodnot expozice na úrovni stresu, jelikož poskytuje spolehlivý a platný odraz dlouhodobé sekrece kortizolu u mnoha druhů. Výrazně tak zvyšuje znalosti o dobrých životních podmínkách zvířat a vytváří zpětnou vazbu pro chovatele s cílem řešit problémy s welfare (Saluti et al. 2022; Heimbürge et al. 2019).

Kortizol ve vlasech či chlupcích časem podléhá stupni degradace, avšak analýza je ovlivněna pouze na jejich délkou. Obecně lze u lidí stanovit kortizol za období jednoho či dvou měsíců v úseku 1 až dvou centimetrů. Podobně jako u etnických skupin je i u zvířat nutné zvážít rychlost růstu ochlupení. Dle tohoto faktoru se dále chlupy segmentují a sleduje se zde určený časový úsek (Greff et al. 2019).

Využití této metody a hodnocení její spolehlivosti potvrzuje studie Mazzola et al. (2021) sledující hladinu kortizolu u 47 koní, která byla provedena v každém ze čtyř ročních období.

Výsledky ukázaly, že nejvyšší hodnoty chlupového kortizolu byly zjištěny na podzim a v létě nezávisle na strategiích managementu a byly také významně vyšší u jedinců starších 15 let. Koncentrace kortizolu v srsti nebyla ovlivněna pohlavím koní ani barvou srsti. Srovnání různých strategií ukázalo, že v létě, na podzim a v zimě byly hladiny chlupového kortizolu významně nižší u koní, kteří strávili noc ve stájích, což naznačuje, že tito jedinci měli nejlepší homeostázu. Dle studie se jedná o spolehlivé a neinvazivní vyšetření kortizolu odhalující chronicky probíhající stres u koní a mohlo by v budoucnosti vést ke zlepšení životních podmínek chovaných zvířat.

Chlupy z oblasti hřívky a ocasu byly segmentovány na více částí v rozsahu 2 cm, toto členění měří pokaždé měsíc života. Toto segmentování se provádí směrem od chlupového folikulu, zde se nachází informace z posledního měsíce života zvířete (Duran et al. 2017).

I tento způsob odběru by měl být standardizovaný a probíhat pokaždé ze stejného místa, protože se na různých místech těla jeho hladina podstatně liší. V porovnání s hladinami ve střední části krku byl kortizol v srsti významně vyšší v týlu a měl tendenci být vyšší v kohoutku (Jolivald et al. 2023). Dle Greff et al. (2019) kortizol v chlupu nepoukazuje na cirkadiánní rytmus, jelikož zaznamenává delší časový úsek, denní fluktuace hladiny kortizolu z tohoto vyšetření stanovit nelze. Chlupy zaznamenávají pouze hladinu v rámci týdnů až měsíců v závislosti na délce chlupu. Spolehlivě s pomocí této metody lze stanovit hladinu kortizolu za určitý časový úsek, avšak nevýhodou tohoto odběru může být expozice slunečnímu svitu může snižovat hladinu kortizolu o 32 až 50%.

3.3.3 Poruchy ve funkci kortizolu

Kortizol/kortikosteron jsou zodpovědní za homeostázu soli a vody a kontrolu krevního tlaku. Ovlivňují metabolismus sacharidů, bílkovin, lipidů a kostí. Jsou také důležitými regulátory imunitních a zánětlivých procesů a jsou vyžadovány pro řadu procesů spojených s obranou hostitele. Na druhé straně prodloužená nebo vysoko dávková terapie glukokortikoidy, stejně jako nadbytek endogenní produkce glukokortikoidů, vyvolává široké spektrum škodlivých účinků v celém těle (Castro et al. 2010).

Klinické a preklinické studie shromáždily podstatné důkazy, že změny systému stresových hormonů hrají hlavní příčinnou roli ve vývoji deprese. Prokazují, že deprese je spojena s poruchou funkce kortikosteroidních receptorů, jež vede k nadměrnému uvolňování neurohormonů, ke němuž dochází u řady příznaků a symptomů charakteristických pro depresi. Toto postižení může být primární, tj. geneticky odvozené, nebo sekundární, tj. způsobené zvýšenou sekrecí ACTH a kortizolu, což vede k desenzibilizaci glukokortikoidních receptorů (Holsboer 2001). Stresující zážitky, které trvale zvyšují hladiny kortizolu, navíc mění expresi stovek genů v prefrontálních limbických oblastech mozku (Karssen et al. 2007). V praxi toto značí epigenetické změny na složení deoxyribonukleové kyseliny (DNA) její metylací. Nejnáchylnější k těmto změnám je vyvíjející se mozek mláďat a adolescentů. Metylace DNA je forma adaptace na životní prostředí, ne vždy se však může jednat o pozitivní změnu. Stres může tímto způsobem ovlivňovat také budoucí generace zvířat (Demaili et al. 2023).

Hyperkortizolémie je stav zahrnující prodloužený nadbytek sérových hladin kortizolu, jenž se může vyvinout v důsledku poruch regulace abnormalit v ose hypotalamus-hypofýza-

nadledviny nebo z exogenních steroidů. Hyperkortizolémie navozuje stav imunosuprese, který pacienta predisponuje k různým bakteriálním, virovým, plísňovým a parazitárním infekcím (Fareau & Vassilopoulou-Sellin 2007). Chronický endogenní hyperkortizolismus je zodpovědný za vzácné a závažné endokrinní onemocnění zvané Cushingův syndrom, vyvolaný může být ale také nádorovým onemocněním hypofýzy. Hlavní systémové komplikace a hlavní příčinu úmrtí představují kardiovaskulární onemocnění a tromboembolie (Pivonello et al. 2008; Pivonello et al. 2019).

Cushingova choroba je u koní komplexní neuroendokrinní onemocnění zahrnující více orgánů a endokrinní dráhy. Nedostatek regulace dopaminu má za následek zvýšenou sekreci peptidových hormonů z postižené intermediální hypofýzy, což vyvolává dysfunkci kůry nadledvin. U velkého procenta koní s Cushingovou chorobou se rozvine hypertrofie a hyperplazie kůry nadledvin, to má za následek zvýšení produkce kortikosteroidů a ztrátu normálního cirkadiálního vzorce sekrece kortikosteroidů. Průměrný věk koně postiženého touto chorobou je 20 let, ale onemocnění bylo hlášeno u koní ve věku od 7 do 42 let. Charakterizováno je klasickými klinickými příznaky, které mohou zahrnovat vývoj nadměrně dlouhé a kudrnaté srsti, nadměrné močení, nadměrnou žízeň a nadměrné pocení. Další klinické příznaky jsou astenie, laminitida, zpomalené hojení ran, chronické infekce, parazitismus, ztráta hmotnosti, nadměrný tělesný tuk, slepota, záchvaty, pseudolaktace, cukrovka, změny chování a reprodukční problémy (McCue 2002).

Studie, jež představuje výzvu pro současné koncepce výzkumu stresu, nyní poskytla přesvědčivé důkazy, že nadledvinka je hypoaktivní také při některých stavech souvisejících se stresem. Specificky jde o chronický stres vyvolávající změny ve vylučování kortizolu. Fenomén hypokortizolismu byl popsán především u pacientů, kteří prodělali traumatickou událost a následně se rozvinula posttraumatická stresová porucha (PTSD) (Heim 2000). Hypokortizolismus/hyporeaktivní osa HPA se může vyvinout po delším období stresu spolu s hyperaktivitou osy HPA a nadměrným uvolňováním glukokortikoidů. Seberegulaci osy HPA od hyperkortizolismu k hypokortizolismu by bylo možné považovat schopnosti těla se samostatně přizpůsobit faktorům, jež jej ovlivňují. Schopnost těla samostatně regulovat sekreci hraje významnou roli v přežití organismu tím, že působí proti přetrvávajícím zvýšeným hladinám glukokortikoidů a chrání organismus před jejich možnými škodlivými účinky. V případě rozvoje hypokortizolismu lze předpokládat selhání seberegulačních schopností. Mezi ně můžeme zařadit snížení citlivosti receptorů na různých stupních HPA a sníženou syntézu vlastních hormonů HPA, tedy CRH a ACTH (Fries et al. 2005).

Addisonova choroba vykazuje hypokortizolismus, který způsobuje příznaky jako únava, svalová slabost, změny nálady a ztráta hmotnosti. U zvířat může dokonce zabránit genetické i dietické formě obezity (Nieuwenhuizen & Rutters 2008). Přirozeně se vyskytující primární hypoadrenokorticismus je obvykle způsoben imunitně zprostředkovanou destrukcí kůry nadledvin a sekundární hypoadrenokorticismus, při němž hypofýza produkuje neadekvátní množství ACTH. Může být způsoben chronickou steroidní terapií nebo méně často nádory, traumatem nebo vrozenými vadami hypofýzy. Terciární adrenální insuficience je způsobena nedostatečným uvolňováním CRH z hypotalamu. Mezi příznaky adrenální insuficience patří únava, úbytek hmotnosti, hypotenze a hyperpigmentace pokožky. (Greco 2007; Thau et al. 2022).

3.4 Hladina kortizolu u koní v hiporehabilitaci

Velké množství článků analyzuje a doporučuje terapeutické účinky intervencí se zapojením koní. Důležité však je zaměřit se také ne welfare koní u probíhajících intervencí. V případě stresu lze u koní pozorovat jasné negativní behaviorální změny a ty se dají ověřit objektivními kvantitativními metodami v podobě měření kortizolu. Pro odběry lze použít například invazivní odběr sérového nebo neinvazivní odběr salivárního kortizolu (Fazio et al. 2013; McKinney et al. 2015; Merckies et al. 2018; Malinowski et al. 2018; Hovey et al. 2021; Cravana et al. 2021).

U koní je možné využít také vyšetření chlupového kortizolu, které by mohlo poukázat na dlouhodobý stres u koní, ten se může pojit s chovem či tréninkem, do kterého je kůň zapojován (Duran et al. 2017).

3.4.1 Cirkadiánní vylučování kortizolu u koní

Cirkadiánní systém pomáhá koním adaptovat se na podmínky prostředí převážně stimuly světla a tepla. Přes několik tisíc let trvalo, aby se koně dokázali na tyto změny adaptovat. Ve volné přírodě mají díky tomuto systému výhody ve vyhledávání potravy, reprodukci a vyrovnávání se se sezónními změnami. Souvisí se schopností předvídat aktivitu a díky tomu například naplánovat březost pro optimální přežití svých potomků (Davies 2017). U savců není neobvyklé, že prostředí, ve kterém žijí, není statické, ale pravidelně se mění. Zvířata se těmito předvídatelným situacím přizpůsobila fyziologickými, morfologickými a behaviorálními modifikacemi. Časová adaptace je zásadní pro přežití druhů, jež podřizují svou fyziologii a chování vnějším podnětům. Na všech úrovních biologické organizace umožňují cirkadiánní hodiny předvídatelné přizpůsobení fyziologické potřeby denní době. Nepředvídatelné složky života vyvolávají stresovou reakci, která má za následek změny endokrinního a metabolického stavu organismu. Některé experimenty však poukazují na fakt, že cirkadiánní rytmus by mohl být narušen, pokud by se změnil denní režim koní. Zejména nepříznivé situace spouštějí reakce nadledvin, které vedou ke zvýšení sekrece glukokortikoidů a/nebo katecholaminů. Cirkadiánní variace adrenokortikální funkce byla pozorována u mnoha savců, včetně potkanů, myší, psů, koní, opic a lidí. U všech denních druhů savců začínají denní změny kortizolu časnou ranní akrofází, během dne hladiny klesají, aby večer dosáhly minimálních hladin. Změny nastávají i v průběhu sezóny. U koní jsou nejvyšší koncentrace kortizolu pozorované na podzim a vyšší koncentrací disponují také na jaře.

Odběr vzorků u koní (stejně jako u jiných zvířat) obvykle znamená pro zvíře zvýšený stres. Při vyšetření stresového hormonu je rozumné použít nejméně zatěžující postup odběru vzorků. U některých koní vyvolává odběr vzorku slin menší stres než u odběru krve (Giannetto et al. 2012; Bohák et al. 2013; Cordero et al. 2012).

U koní byly provedeny odběry za účelem zjištění cirkadiánního kortizolu pomocí dvou metod. Dle slinného kortizolu byly potvrzeny výsledky, jež byly ovlivněny sezónou, v níž se vzorky odebíraly. Během měření prováděného na jaře se vrcholy produkce kortizolu pohybovaly mezi šestou a desátou hodinou ranní, kdy dosahovala maximálních hodnot. V průběhu dne byla koncentrace kortizolu ve slinách již nižší (Contreras-Aguilar et al. 2020). Dle Cordero et al. (2012) se akrofáze plazmatického kortizolu pohybovala v 6:40 během

měření v květnu a v 6:27 během měření v září. Měřený kortizol se vyznačoval nízkou amplitudou, která může být výsledkem otupělosti na cirkadiánní rytmus.

Pro srovnání bylo provedeno testování, při kterém se porovnal odběr plazmatického kortizolu se salivárním kortizolem. Akrofáze dosáhl plazmatický kortizol v 10:50 a slinný kortizol jí dosáhl v 10:00. Výsledky této studie potvrdily existenci kortizolového cirkadiánního rytmu u koní. V souladu s předchozími zprávami se maximální koncentrace vyskytovaly ráno a minimální hodnoty byly naměřeny večer. Rozdílné výsledky jednotlivých způsobů měření se objevily v důsledku rozdílu v hladinách volného kortizolu měřeného salivárním kortizolem a celkového kortizolu, jak je tomu u plazmatického kortizolu (Bohák et al. 2013).

3.4.2 Hodnocení kortizolu u koní v hiporehabilitaci

Vzhledem k pokračujícímu růstu počtu koní používaných k terapeutickému ježdění je nezbytné zvážit úroveň stresu u koní, aby bylo zajištěno jak zdraví, tak dobré životní podmínky zvířat zařazených do programů (Johnson et al. 2017). Kortizol je zvolen jako parametr umožňující vyhodnotit výskyt a míru stresu u koní účastnících se terapie, protože silně koreluje se stresem, reaktivitou a welfarem zvířat (McKinney et al. 2015).

Vyšetření plazmatického kortizolu

Odběry krve byly prováděny se zohledněním na cirkadiánní rytmus ve stejném časovém intervalu, aby se co možná nejvíce snížila variabilita. Množství odebraných vzorků a časový sled, v jakém byly odebrány, a sezonní variabilita, však jednotlivé práce rozděluje (viz tabulka č. 3). Z těchto důvodů budou jednotlivá měření zapsána zvlášť a posouzení bude provedeno s ohledem na individuální podmínky (Fazio et al. 2013; Malinowski et al. 2018; Contalbrigo et al. 2021; Hovey et al. 2021; Cravana et al. 2021).

Vzorky se u každé studie odebíraly v rozdílných časových intervalech, během různých časových stop a neshodovaly se ani v sezónním průběhu, proto je zde rozbor individuálně členěný. Pro účely jednotného hodnocení bylo vybráno laboratorní referenční rozmezí koncentrace kortizolu, jež bylo 1,49-6,45 µg/dl (Stewart et al. 2019).

Odběry z níže uvedených studií se u koní shodně prováděly dle rutinního odběru z v. jugularis. U odebraných vzorků došlo k vyšetření imunoanalýzou (Fazio et al. 2013; Johnson et al. 2017; Hovey et al. 2021; Contalbrigo et al. 2021).

Dle Fazio et al. (2013) se u 6 klisen sledovala hladina plazmatického kortizolu v závislosti na terapeutickém ježdění. Intervencí se účastnily dvě skupiny, A a B. Skupina A se skládala z šesti dětí s psychomotorickým postižením a skupinu B tvořilo šest zdravých dětí. Po dobu 6 týdnů se koně účastnili dvou lekcí týdně, pokaždé s jiným jezdcem. Celkové intervence trvaly 60 minut. Vzorky se odebíraly vždy v 9 hodin ráno a pak 5 a 30 minut po proběhlé intervenci.

Další studie s obdobnou strategií také hodnotily koncentrace plazmatického kortizolu mezi dvěma skupinami jezdců, kdy první skupina zahrnovala nějakým způsobem znevýhodněné osoby a druhá zkušenější jezdce bez postižení (Johnson et al. 2017; Contalbrigo et al. 2021; Hovey et al. 2021).

Tabulka 3: Shrnutí studií na vyšetření kortizolu u koní v zoorehabilitaci

Publikace	Zpracovaný materiál	Počet koní	Počet jezdců	Počet jezdců s handicapem	Hladina kortizolu u koní	Splňuje fyz. rozmezí	Čas	Období	Celková doba trvání	Chování
Fazio et al. (2013)	Krev	6	6	6	Snížená u hendikep.	ANO	9:00 - 10:00	Nebýlo uvedeno	6 týdnů	Beze změn
McKinney et al. (2015)	Sliny	6	6	6	Beze změn	NE	15:00	Nebýlo uvedeno	6 týdnů	Beze změn
Johnson et al. (2017)	Krev	5	5	5	Mírné zvýšení u hendikep.	ANO	Od 13:00	Březen - srpen	2x 6 týdnů	Beze změn
Nuchprayoon et al. (2017)	Sliny	3	/	1	Beze změn	Ano u 2 koní	Nebýlo uvedeno	Nebýlo uvedeno	Nebýlo uvedeno	/
Malinowski et al. (2018)	Krev	9	/	7	Beze změn	ANO	Nebýlo uvedeno	Duben - červen	5 dní + kontrola	/
Merkes et al. (2018)	Sliny	17	/	4	Beze změn	ANO	Nebýlo uvedeno	Nebýlo uvedeno	2 dny	Beze změn
Contalbrigo et al. (2021)	Krev	19	19	19	Beze změn	ANO	14:00 – 16:00	Listopad - leden	Nebýlo uvedeno	Nervozita
Hovey et al. (2021)	Krev	25	10	Není uvedeno	Snížení u hendikep.	NE	Nebýlo uvedeno	Leden - květen	8 týdnů	Beze změn
Cravana et al. (2021)	Krev	6	6	6	Snížení u hendikep.	ANO	10:00 – 12:00	Nebýlo uvedeno	6 týdnů	Beze změn

Johnson et al. (2017) měli k dispozici užší základní skupinu, celkem se do ní řadilo pět koní a jezdci se dělili na veterány s PTSD a zkušené jezdce z jezdeckých center. Lekce taktéž trvaly okolo 60 minut a probíhaly dvakrát každý týden po dobu 6 týdnů. Účastnilo se jich 5 handicapovaných jezdců. Veteráni se jí účastnili v rozmezí od března do dubna a zkušení jezdci v rozpětí červen až srpen. Zásadní rozdíl v této studii je zejména v počátečních hodnotách kortizolu, který se sezónně měnil dle cirkanuálního rytmu u koně. Z toho důvodu lze pro účely této studie zahrnout pouze rozdíly mezi jednotlivými odběry a nelze brát v potaz hodnoty samotné. Vzorky byly členěny na kontrolní, které byly odebrány v den, kdy se koně neúčastnili intervencí. Dále pak v den intervence na T1, T2 a T3, přičemž první označoval čas před intervencí, T2 se odebíral po nastrojení koně a konečný T3 po proběhlém ježdění.

Hovey et al. (2021) na druhou stranu disponovala širší základnou koní, kterých bylo celkem dvacet pět, ale také širokou základnou fyzických, psychických či mentálních znevýhodnění. Lekce měly také delšího trvání, intervence trvaly hodinu a půl po dobu 8 týdnů od ledna do května. Jako v předchozí studii lze pohlížet pouze na rozdíly mezi měřeními, jelikož jsou výsledky ovlivněné cirkanuálním rytmem koně. Krev byla u koní odebírána před intervencí, ihned po sesednutí jezdce a pak 30 minut po proběhlém terapeutickém ježdění.

Podobně i v případě Contalbrigo et al. (2021) byly sledovány rozdíly mezi interakcí celkem 38 dětí, kdy se skupiny dělily na 19 dětí s PAS, 19 normálně se vyvíjejících dětí a intervencí se účastnilo 19 koní. Aby se předešlo sezónnímu zkreslení, tak tyto intervence probíhaly v zimní sezóně od listopadu do ledna a jednotlivé intervence trvaly půl hodiny. Odběry krve u koní probíhaly pokaždé v časovém úseku od dvou do čtyř hodin odpoledne a to 10 minut před započítáním lekce a dále pak 10 minut po skočení.

Malinowski et al. (2018) ve své studii stanovuje hladinu kortizolu u koní v hiporehabilitaci. Zapojeno zde bylo 9 valachů a intervence se účastnilo 7 veteránů s diagnostikovaným PTSD. Terapie probíhaly po dobu pěti dní. Zahrnovaly seznamování se s etologií koní, česání, hlazení nebo vedení koně. Vzorky byly odebírány vždy 30 minut před zahájením intervence, dále pak těsně před zahájením, 10 a 30 minut po ukončení intervence.

Studie Cravana et al. (2021) ve své studii zapojují do zoorehabilitace šest klisen, na kterých jezdilo šest zdravých jezdců a šest jezdců s mentálním znevýhodněním. Terapie probíhaly dvakrát týdně po dobu 6 týdnů v měsících duben a květen. Odebíraly se 4 vzorky T0 ve dny kdy se koně neúčastnili zoorehabilitací, T1 před započítáním intervence, T2 5 minut po ukončení a T3 30 minut po ukončení intervence.

Výsledky se nacházely v referenčním rozmezí stanoveného pro hladinu kortizolu. V čem se obě studie lišily, byl vývoj křivky kortizolu na časové křivce pro obě skupiny dětí. V případě dětí s psychomotorickým postižením se po proběhlých intervencích hladina kortizolu u koní signifikantně snížila pro obě hodnoty, tedy vývoj zůstal signifikantní oproti bazálním hodnotám jak pro 5 minut, tak i pro 30 minut po proběhlých intervencích. Signifikantní změny byly také oproti skupině B, tedy kontrolní skupině dětí bez handicapu. Hodnoty skupiny B se signifikantně nelišily od bazálních hodnot, avšak hodnoty 5 minut po intervenci byly mírně zvýšené a hodnoty 30 minut po intervenci naopak mírně snížené oproti bazálním hodnotám (Fazio et al. 2013).

Hladiny odebraného kortizolu byly všechny v referenčním rozmezí a nezaznamenalo se, že by došlo k podstatnému výkyvu od fyziologické hladiny u koní. Od bazálních hodnot došlo v případě skupiny s veterány k mírnému zvýšení před započítím intervence, ale po nasedlání se naopak o pár desetin snížily. K mírnému zvýšení došlo také po skončení intervence. Vývoj u zkušených jezdců vyvolal opačný vliv na hladiny kortizolu. V porovnání s bazální hodnotou se v období před intervencí hladina kortizolu průměrně nižší, po nasedlání se pak zvýšila a podobně o něco málo vzrostla ještě po jízdách (Johnson et al. 2017).

Hladiny kortizolu byly nižší než je fyziologické rozmezí, avšak naměřené výsledky korespondují s fyziologickou hodnotou stanovenou dle Stewart et al. (2019). Podle naměřených hladin kortizolu je patrné, že pouze jedna ze skupin vykazovala signifikantní změny v závislosti na hladině kortizolu v krvi. Šlo o skupinu, která se účastnila zoorehabilitací a skládala se z účastníků, jež byli diagnostikováni s nějakou formou tělesného, psychického či mentálního znevýhodnění. U této skupiny došlo k signifikantnímu snížení hladiny kortizolu v době konce intervence. Tyto hodnoty se pak nadále snižovaly a signifikantně nižší byly od předchozího měření také v době 30 minut po intervenci. Skupina se znevýhodněnými klienty se však také členila na tři skupiny podle skupiny typů postižení. U všech tří skupin se signifikantně snížila hladina kortizolu u koní po proběhlé intervenci. U druhé skupiny, kde se nacházeli jedinci s autismem, Aspergovou chorobou, mentálními postiženími a poruchami smyslového zpracování, byla naměřena zvýšená koncentrace kortizolu u koní (Hovey et al. 2021).

Studie Contalbrigo et al. (2021) sice nebyla primárně zaměřena na stanovení kortizolu u koní, avšak její poznatky zjistily, že hladina kortizolu se u koní v hiporehabilitaci nacházela ve fyziologickém rozmezí. Rozdíly v měření kortizolu mezi dětmi s PAS a zdravými dětmi nevykazovaly žádné signifikantní změny.

Hodnoty kortizolu v krvi se pohybovaly v referenčním rozmezí a výsledky těchto pozorování nezaznamenaly žádné signifikantní změny. Tato zjištění naznačují, že u koní se zkušenostmi s HTFE nezpůsobovala interakce s veterány PTSD stresovou reakci (Malinowski et al. 2018).

Naměřený kortizol se u klisen nacházel v referenčním rozmezí. V průběhu měření bylo pozorováno, že došlo k jeho signifikantnímu zvýšení vždy před začátkem intervence. Tento jev byl stejný pro obě skupiny, avšak v případě handicapovaných jezdců se hladina kortizolu u koní signifikantně snížila. Naměřené hodnoty pak odpovídaly hodnotám naměřeným v den mimo terapie. U kontrolní skupiny zdravých jezdců se hladina kortizolu signifikantně zvýšila a její hodnoty T2 a T3 i nadále zůstávaly vysoké (Cravana et al. 2021).

Vyšetření salivárního kortizolu

Vyšetření stanovené metodou odběrů salivárního kortizolu se u studií používalo hlavně pro účel vyvarování se možnému neklidu vyvolaného odběry krve, který by mohl alterovat výsledky v důsledku akutního stresu. Metoda je závislá na měření koncentrace volného kortizolu, jež ve slinách představuje 5-10% celkové hladiny (McKinney et al. 2015; Nuchprayoon et al. 2017; Merckies et al. 2018).

Odběry slinného kortizolu byly u koní provedeny vložением bavlněného tampónu Salivette do ústní dutiny, jež je přiložen ke sliznici a po dobu jedné minuty do sebe nasává

produkované sliny. Ty jsou pak vloženy do zkumavek a udržovány v chladu. V laboratoři byla provedena imunologická analýza (Merkies et al. 2018).

U Merkies et al. (2018) byla studie koncipována jako stanovení hladiny kortizolu v závislosti na přítomnosti koně v okolí osoby s diagnózou s PTSD za doprovodu psychoterapeuta. Celkem se studie účastnilo 17 koní a ti reagovali na přítomnost 4 žen s PTSD. Vzorky byly u koní odebírány 30 minut před začátkem testu a 30 minut po proběhlém testu a byly odebírány vždy před a po kontaktu. Test probíhal ve výběhu, kde všechny ženy byly postupně s každým koněm v kontaktu po dobu 2 minut.

Dle McKinney et al. (2015) se stanovovala hladina kortizolu v závislosti na probíhající hiporehabilitaci. Po dobu celkem šesti týdnů docházelo k odebírání slinných vzorků. Studie se účastnilo 6 koní a dvě skupiny jezdců, které zahrnovaly skupinu složenou z táborníků využívajících tzv. lehkého sedu ve věku 8-14 let a skupiny 6 dětí účastnících se terapeutického ježdění v rámci léčby různých diagnóz. Vzorky zde byly odebírány zhruba ve tři hodiny odpoledne a poté po třiceti minutách jízdy a hodinu poté, což znamenalo ukončení jízdy. Vzorky se odebíraly při klidovém režimu, v lehkém sedu a během terapeutického ježdění.

U dvou poníků a jednoho koně se účastnil hiporehabilitací pětiletý chlapec s diagnózou PAS. Jeho účast zahrnovala celkem 5 intervencí. Rehabilitace měly trvání půl hodiny a vzorky se odebíraly před začátkem intervence a bezprostředně po jejím ukončení (Nuchprayoon et al. 2017).

Hladina kortizolu spadala do referenčního rozmezí a dle výsledků bylo prokázáno, že koně nerozlišovali lidi s PTSD a kontrolního zdravého člověka, jelikož testování neprojevalo signifikantní změny v naměřeném kortizolu (Merkies et al. 2018).

Výsledné hodnoty měření nespádaly do referenčního rozmezí a nacházely se pod spodní hranicí. Výsledné hodnoty naměřené v hladině kortizolu nevykazovaly žádné signifikantní změny mezi klidovým režimem a jízdě v lehkém sedu, klidovém režimu a terapeutickému ježdění ani při lehkém sedu a terapeutickém ježdění (McKinney et al. 2015).

Průměrné výsledky vyšetření kortizolu spadaly do referenčního rozmezí, avšak jeden z poníků vykazoval nižší než referenční množství kortizolu. Výsledky po provedených terapiích neprokázaly signifikantní změny v hladinách kortizolu, ale v případě ponyho č. 2 a koně došlo k mírnému zvýšení hladiny kortizolu po zapojení do hiporehabilitace (Nuchprayoon et al. 2017).

Akutní stres může způsobit zvýšení hodnot kortizolu, zatímco chronický stres může být spojen se sníženým kortizolem souvisejícím s mechanismem adaptace a vyrovnáváním se s dlouhotrvající stresovou situací (Pawluski et al. 2017).

Vyšetření chlupového kortizolu

Vyšetření chlupového kortizolu v zoorehabilitacích je v současné době metoda, jak spolehlivě zhodnotit hladinu dlouhodobého kortizolu, v průběhu delšího časového intervalu. V současné době se tento druh vyšetření provádí zejména u psů zapojovaných do

zoorehabilitací (van Houtert et al. 2022). Použití u koní v zoorehabilitaci nebylo k současnému datu ve vědecké literatuře pozorováno.

3.4.3 Behaviorální projevy koní během hiporehabilitací

Hodnocení chování koní a odvozování přítomnosti negativních projevů lze provádět dvěma způsoby. Lze použít hodnocení pozorováním přímo na místě a zaznamenávání jednotlivých četností. Lepším způsobem se však v současné době zdá být natáčení tohoto chování na video a následné zhodnocení, které brání tomu, aby byly některé behaviorální projevy opomenuty nebo zůstaly nepovšimnuté (Hovey et al. 2021).

Změny v chování mezi skupinami se nejevily jako statisticky významné, přestože u handicapovaných jezdců bylo toto chování koní častější (Fazio et al. 2013).

Behaviorální hodnocení probíhalo na stupnici od 1 do 10 a posuzováno bylo na základě pozorovaného chování dvěma na sobě nezávislými hodnotiteli. Posouzení koně dosahovali nejvýše 2. stupně stresové reakce, které dle etogramu Young et al. (2012) znamenají minimální stres. Koně byli popisováni během sezení jako klidní, lhostejní, uvolnění, tiší, pozorní a poddajní. V průběhu času nebyl žádný rozdíl v chování koní. Skóre chování koní však bylo výrazně nižší, když je jezdili veteráni než zkušení jezdci (Johnson et al 2017).

Hodnocení chování bylo provedeno na základě stupnice 1-4, stupeň jedna představovalo chování s nízkou mírou závažnosti a v případě 4. stupně je popsáno chování negativní až abnormální. Během celého průběhu studie bylo v nejvyšší četnosti zaznamenáno chování na stupni jedna a četnost se postupně snižovala, chování 2. stupně se vyskytovalo ve přibližně čtvrtinové četnosti oproti stupni jedna. Pro třetí stupeň existovala již jen minimální četnost a k výskytu 4. stupně ani nedošlo. Průměrné hodnocení chování dosahovalo nejčastěji hodnot 1,3 a 1,2. V porovnání obou skupin se negativní chování častěji vyskytovalo u terapeutických programů, ale v těchto programech postupem času četnost negativního chování klesá (Hovey et al. 2021).

Studie Contalbrigo et al. (2021) hodnotila sledovala behaviorální projevy stresu a jejich hodnocení bylo provedeno v podobě frekvence tohoto chování v průběhu fází intervence. Výsledky prokázaly, že nejvyšší frekvence stresového chování se objevila během nasedání a sesedání z koně, nejnižších frekvencí dosahovalo stresové chování během práce ze země a na konci, kdy byli odměněni. Změny ve frekvencích chování mezi dětmi s PAS a zdravými dětmi nebylo pozorováno.

Behaviorální analýza probíhala hodnocením z videozáznamů dvěma odborníky na chování koní. Analýza jednotlivých typů chování byla provedena dle bodového ohodnocení, kdy se číslo zvedalo s indikací stresu, se kterým chování korelovalo. Tato studie nezaznamenala, že by koně upřednostňovali zdravého člověka před člověkem s PTSD, spíše však preferovali lidi, kteří již měli nějaké předchozí zkušenosti s koňmi (Merkies et al. 2018).

Pro účely hodnocení koní ve studii G byl použit etogram diskomfortu koní, podle kterého odborník posuzoval stresové behaviorální změny zaznamenané na videozáznamech. Jako významné typy projevu se počítalo stažení uší dozadu, zvedání hlavy, otáčení hlavou do stran nezávisle na pobídce jezdce, házení hlavou, vrtění hlavou, držení hlavy nízko a kálení (Kaiser et al. 2006). Každý projev těchto sedmi typů chování byl zapsán a na konci se podle nich

stanovilo skóre stresového chování. Hodnocení stresového chování bylo v průměru 1,33 pro jízdu v lehkém sedu, během terapeutického ježdění toto skóre dosahovalo hodnoty 0,83. Toto hodnocení sice bylo nižší, avšak nedosahovalo statistického významu. Mezi koňmi se projevila vysoká variabilita a bylo potvrzeno, že někteří jedinci projevovali stres mnohem častěji než jiní.

3.4.4 Hodnocení vlivu hiporehabilitace na hladinu kortizolu

Kortizol je sice silným ukazatelem stresu u zvířat, avšak při stanovování výsledků je třeba dodržet všechny zásady, mezi které patří standardizovaný postup při odběru vzorků, jako je dodržovaný čas a způsob odběrů. Dále se doporučuje spojovat výsledky s behaviorálními projevy, přestože chování vždy nemusí odpovídat naměřené hladině kortizolu. Jeho hladina tak může být zvýšená přestože chování zvířete nejeví známky stresu (Chmelíková et al. 2020).

Výsledky stanovené měřením kortizolu naznačovaly že rozdíl mezi skupinami jezdců a významný pokles hladiny kortizolu po terapeutickém ježdění, který se objevuje v souvislosti s jezdcí s psychomotorickým postižením. Protože zátěžový stres byl srovnatelný, lze předpokládat, že změny tedy vycházely z odlišných interakcí koně s jezdcem. Je pravděpodobné, že terapeutická činnost a vztahový přístup těchto pacientů, tedy dětí s psychomotorickým postižením, je příčinou možných pozitivních podnětů pro koně. Zvýšených hodnot však také nabývá srdeční tep, který by mohl souviset se stresem spojeným s odebíráním vzorků (Fazio et al. 2013).

Na základě vyšetření kortizolu bylo stanoveno, že účast koní v hiporehabilitacích pro ně nepředstavuje příliš stresující záležitost. Toto tvrzení potvrdila souběžná vyšetření hladiny ACTH a koncentrace glukózy z vyšetřených krevních vzorků. Podobného hodnocení dosáhla také souběžná behaviorální analýza, jež se posuzoval vnější projev stresu koní. Změny v naměřených hodnotách kortizolu mezi jednotlivými obdobími jsou charakterizovány různými typy jezdců nebo vlivem sezónních změn na cirkadiální rytmus kortizolu. Kolísání hladin kortizolu, ACTH a glukózy jako biomarkerů stresu u koní by se dalo vysvětlit také strachem a stresem v důsledku opakovaného napíchnutí krční žíly během odběru krve (Johnson et al. 2017).

Rozdíly v koncentracích pozorované během provedených lekcí s univerzitními studenty nedosahovaly signifikantních změn, avšak po proběhlé jízdě byly nižší, což naznačuje možnou přítomnost příjemných stimulů pro koně v průběhu ježdění. Statisticky vyšší koncentrace kortizolu při měření před intervencí mohla být způsobena tím, že koně očekávali cvičení nebo byli odvedeni ze stáje či pastviny, zatímco koncentrace kortizolu po intervenci mohly souviset s jízdou. Data naznačují, že univerzitní koně nebyli ve stresu, protože negativní chování nebylo vyjádřeno častěji, s postupem studie. Tento výsledek potvrdily také koncentrace kortizolu, které se postupně snižovaly. Ukázalo se, že koncentrace kortizolu se cvičením zvyšují, tyto změny lze interpretovat jako formu pracovního stresu neboli eustresu. Vliv předchozích zkušeností s jízdou na koni nebyl v souvislosti této studie na koncentraci kortizolu pozorován (Hovey et al 2021).

Přestože byla studie Contalbrigo et al. (2021) převážně zaměřena na behaviorální projevy koní zapojených do zoorehabilitací, tak lze konstatovat, že vliv kortizolu ani behaviorální

změny neovlivňovaly psychický stav koní negativním způsobem. Výsledky byly indiferentní, jelikož změny v pozorování nevykazovaly signifikantní změny. Změny v hladině kortizolu proto korelují s behaviorálními změnami, které taktéž nevykazovaly známky středního či vysokého stresu. Podle behaviorální analýzy však bylo zjištěno, jaké části intervence se jevily jako problematické, v případě této studie se jako nejproblematictější součástí stalo nasedání a sesedání, opačné hodnoty, kdy došlo nejnížší incidenci stresového chování, bylo možné sledovat v případě, podávání pamlsků koním a u práce ze země.

Cílem bylo ověřit znalosti ohledně úrovně stresu a pohody koní po interakci s lidmi zapojených do hiporehabilitací. Plazmatický kortizol u všech koní vykazoval normální fyziologickou koncentraci kortizolu v průběhu experimentu a jednohodinová sezení nevedla k žádné změně od výchozí koncentrace. V této studii vedly intervence ke snížení tepové frekvence u koní v obou dnech sezení, což naznačuje, že účast v terapiích vedla ke snížení aktivity sympato-adrenálního systému (SAS) u těchto koní. Účast koní v terapiích v této studii nevedla k aktivaci osy HPA, která by se projevila změnou plazmatických koncentrací kortizolu. Limitujícím faktorem v této studii byl malý počet zvířat a velká variabilita mezi zvířaty. V této práci navíc dochází k porovnávání hladiny oxytocinu, jež má antistresové účinky. Jeho hladina v krvi však nevykazovala signifikantní změny, což by však mohlo být ovlivněno způsobem odběru, který vytváří dvacetiminutové okno, v němž díky vysoké proměnlivosti hladiny oxytocinu nemusela být jeho přítomnost zaznamenána (Malinowski et al. 2018).

Výsledky poukazují na různé skupiny jezdců liší pouze změny kortizolu, což ukazuje, že takové změny jsou ovlivněny chováním jezdce. Přestože byl stres z pracovní zátěže stejný, tak došlo k významnému snížení hladiny kortizolu po proběhlé intervenci u postižených osob. Pro potvrzení těchto poznatků je však potřeba rozšířit celkovou základnu zvířat (Cravana et al. 2021).

Studie Merckies et al. (2018) vystavila koně jednotlivě párům lidí, kteří se fyzicky podobali a pohybovali se podobným způsobem, avšak jeden z těchto lidí trpěl PTSD, zatímco druhý ne. Behaviorální měření ukázala určité rozdíly v reakcích koní na osobu s diagnózou PTSD, během intervencí se koním zvedala tepová frekvence, a to i když lidé opustili výběh. Koně navíc reagovali pozitivněji na lidi, kteří měli zkušenosti s prací s koňmi, k těmto lidem se koně přibližovali rychleji a stáli blíže u nich. I v tomto případě byla jejich tepová frekvence vyšší. Během této studie nebyly zaznamenány žádné významné rozdíly v koňském slinném kortizolu. V behaviorálním pozorování nebyly zjištěny žádné velké rozdíly v chování k osobám s PTSD a vůči osobám zdravým. Koně byli méně vystresovaní, když s nimi byl přítomen jakýkoliv člověk, a byli více pozorní vůči lidem, kteří měli s koňmi více zkušeností. Zdá se proto, že koně reagují více na fyzické podněty od člověka než na implikované emocionální potřeby.

Rozdíly ve srovnání s jízdou v lehkém sedu, terapeutickém ježdění nebo klidovými podmínkami neprokázaly signifikantní změny. Podobně hodnocené chování koní během těchto různých aktivit neodhalilo rozdíly v úrovních stresu. Tato zjištění naznačují, že terapeutická jízda na koni nevyvolává u zúčastněných koní větší stres než jízda v lehkém sedu. Předpokládalo se, že terapeutické aktivity vystaví koně většímu psychickému stresu, protože na nich jezdí jezdci s mentálními a/nebo fyzickými problémy, kteří mohou být během sezení více stresováni. Absence zvýšeného stresového chování u těchto koní naznačuje,

že průběh terapeutického ježdění je v souladu s dalšími zjištěními, která naznačují, že koně účastníci se těchto aktivit nezažívají zvýšený stres (McKinney et al. 2015).

Sledovaný kortizol ve studii Nuchprayoon et al. (2017) nedosahoval signifikantních změn, i když po proběhlých intervencích zaznamenal slabý nárůst. Patrná byla také přítomnost poníka č. 1, který vykazoval nižší hodnoty, než jaké spadaly do referenčního rozhraní. Také variabilita byla u tohoto jedince výrazně nižší než u druhých dvou koní, kteří se účastnili hiporehabilitace. Mimo koncentrace kortizolu byla zaznamenávána i srdeční činnost nikterak se lišící od kontrolních hodnot, avšak dosáhla dvou peaků, které se objevují v době začátku a konce intervence, což souvisí s nasedáním a sesedáním z koně. Pravděpodobně jde o pro koně stresující situace, stejné poznatky lze také pozorovat ve studii Contalbrigo et al. (2021).

3.4.5 Návrh studie hodnocení kortizolu u koní v zoorehabilitaci

Základním předpokladem pro výzkum kortizolu u koní v zoorehabilitaci je široká základní skupina lidí, dle studie Cravana et al. (2021) by bylo dobré rozšířit základnu koní. V této studii základnu tvořilo šest klisen a dle autora by bylo vhodné základnu rozšířit. Jak uvádí Chmelíková et al. (2020) je nutné zajistit opakovatelnost, tudíž by odběry měly probíhat stejným způsobem, vždy v přesně stanovenou hodinu, jako je tomu u studií McKinney et al. (2015); Johnson et al. (2017) a Cravana et al. (2021). Pro účely studie velmi dobře funguje porovnání zoorehabilitací se skupinou lidí, kteří se účastní jezdeckých lekcí. Dochází pak ke snazšímu porovnání změn, které jsou způsobeny druhem práce. Ideální je tvořit skupiny homogenní, které se skládají z jedinců, kteří si navzájem odpovídají věkem, váhou či pohlavím. (Fazio et al. 2013). Pokud používáme dvě skupiny lidí, je třeba vzít v potaz časové možnosti. Kvůli cirkunálnímu rytmu koně, který je proměnlivý a mění se s nástupem různých sezón by tak mohlo dojít ke zkreslení výsledků (Giannetto et al. 2012). U studie Fazio et al. (2013) probíhaly lekce dvakrát týdně, což by vyřešilo problém se sezónní proměnností hladiny kortizolu. Lekce pro obě skupiny tak probíhají téměř souběžně. Koně, účastníci se studie, by měli mít zkušenosti v oblasti zoorehabilitací, tyto zkušenosti by měly být v rozsahu okolo 5 let (Hovey et al. 2021; Cravana et al. 2021).

Hladina kortizolu u koní by měla spadat do fyziologického rozmezí, jelikož pokud by byla hladina kortizolu v krvi nižší, mohlo by se jednat o hypokortizolémii, která může nastat v závislosti na patologii probíhající v organismu či v důsledku dlouhotrvajícího pobytu ve stresovém prostředí. Jedná se o adaptaci organismu (Fries et al. 2005). Odběr kortizolu může být stresující procedurou, proto je vhodnější využít neinvazivních metod, jako je odběr slin jako ukazatele krátkodobého stresu. Tento způsob dokonce přesněji zachycuje aktivitu osy HPA, jelikož měří pouze koncentraci volného kortizolu nevázaného na bílkoviny jako je tomu u plazmatického kortizolu (Bohák et al. 2013).

Zvýšená hladina kortizolu nemusí vždy znamenat stresovou reakci, z těchto důvodů je dobré sledovat také jiné parametry, jako je tepová a dechová frekvence nebo záznam chování, které by vykazovalo známky stresu (Chmelíková et al. 2020).

Důvod pro vyřazení lidských účastníků ze studie mohou být alergie, strach ze zvířat, nezájem či dokonce agresivita (Schuurmans et al. 2016).

4 Závěr

Závěrem literární rešerše je možné zkonstatovat pozitivní účinky zoorehabilitaci se zapojením koní, jejich širokospektré využití v rámci podpůrné léčby. Tento druh aktivity se zapojením koní poskytuje mnohé benefity, mezi které zařazujeme zlepšení jak fyzického tak i psychického stavu.

Možnost zajistit bezpečnost během intervencí lze správným handlingem, kdy se dohlíží primárně na potřeby zvířete. Zajištění bezpečného prostředí je důležitým faktorem úspěšného provedení intervence k dosažení uspokojivých výsledků. Posouzení, zda je pro koně situace stresová či ne lze provést skrze analýzu prostřednictvím různých vyšetření. Jako parametr umožňující vyhodnotit výskyt stresové situace se běžně používá kortizol a společně s ním lze využít vyšetření koncentrací oxytocinu či β -endorfinů.

Studie zaměřené na vyšetření koní v zoorehabilitaci se lišily ve svém provedení, počtech koní, účastníků, ale také způsobem, jak byla vedena metodika. Mnoho studií zakládalo svou metodiku na vytvoření dvou skupin jezdců. Do základní skupiny byli zařazeni jezdci bez jakékoliv formy tělesného či psychického znevýhodnění. Druhu skupinu tvořili lidé s různými znevýhodněními jak tělesného, tak i psychického rázu.

Vyšetření kortizolu bylo pro účely rešerše rozděleno na tři typy, dle biologického materiálu. Vyšetření plazmatického kortizolu by dle odhadů mohlo být nepříjemnější a představovat problém pro jedince citlivější na stres problém a ovlivňovat naměřené výsledky. Dle dohledaných zdrojů je pro vyšetření koncentrace kortizolu vhodnější salivární odběr, přestože disponuje volným kortizolem, který není navázán na bílkovinu.

Výsledky byly u studií rozličné, avšak vliv zoorehabilitace na stres u koní nebyl prokázán, pokud došlo k jeho zvýšení, spadal do rozmezí, které odpovídá normálnímu pracovnímu zatížení. Pozitivní vliv intervencí byl zaznamenán u tří studií, které zaznamenaly snížení kortizolu u koní, jenž byli do zoorehabilitací zapojováni. Předpokládá se, že za snížení stresu u koní by mohly pozitivní stimuly, které vychází z práce se znevýhodněnými lidmi. V porovnání s kontrolní skupinou zdravých jezdců byly hladiny kortizolu nižší.

Výsledky dlouhodobého stresu u koní lze prokázat pomocí odběru vzorků z chlupů. Podobně jako v jiných materiálech se zde kortizolu ukládá a poskytuje stabilní informaci o pohodě jedince. Jeho vyšetření v zoorehabilitaci se zatím praktikuje u jiných druhů zvířat, v případě koní tyto informace se ve vědecké literatuře stále neobjevily.

Výsledky naměřené prostřednictvím koncentrace kortizolu byly navíc podloženy také behaviorálním posudkem, který u koní nepozoroval silnou stresovou reakci, nanejvýš se u koní objevoval mírný stres, který postupně u koní klesal.

Koně upřednostňovali lidi se zkušenostmi s koňmi a nejsilnější stresové reakce se u nich objevovaly během nasedání a sesedání. Závěrem lze shrnout, že zapojení koní do zoorehabilitací představuje pro většinu koní pouze mírnou psychickou zátěž a způsobuje minimální stres.

5 Použitá literatura

- 1) Ambrojo KS, Corzano MM, Poggi CG. 2018. Action Mechanisms and Pathophysiological Characteristics of Cortisol in Horses. Pages 185-209 in Al-kaf AG, editor. Corticosteroids. IntechOpen.
- 2) Ashley FH, Waterman-Pearson AE, Whay HR. 2005. Behavioural assessment of pain in horses and donkeys: application to clinical practice and future studies. EQUINE VETERINARY JOURNAL **37**: 565-575.
- 3) Bachi K. 2013. Application of Attachment Theory to Equine-Facilitated Psychotherapy. Journal of Contemporary Psychotherapy **43**: 187–196.
- 4) Bankir L, Bichet DG, Morgenthaler NG. 2017. Vasopressin: physiology, assessment and osmosensation. JOURNAL OF INTERNAL MEDICINE **282**: 284-297.
- 5) Benda W, McGibbon NH, Grant KL. 2004. Improvements in Muscle Symmetry in Children with Cerebral Palsy After Equine-Assisted Therapy (Hippotherapy). The Journal of Alternative and Complementary Medicine **9**: 817-825.
- 6) Bienertova-Vasku J, Lenart P, Scheringer M. 2020. Eustress and Distress: Neither Good Nor Bad, but Rather the Same?. BioEssays **42**.
- 7) Bitsika V, Sharpley CF, Sweeney JA. 2014. HPA and SAM axis responses as correlates of self-vs parental ratings of anxiety in boys with an Autistic Disorder. Physiology & behavior **127**: 1-7.
- 8) Bohák Z, Szabó F, Beckers JF. 2013. Monitoring the circadian rhythm of serum and salivary cortisol concentrations in the horse. Domestic Animal Endocrinology **45**: 38-42.
- 9) Brunton LK, Bartlett DJ. 2011. Validity and reliability of two abbreviated versions of the Gross Motor Function Measure. Physical therapy **91**: 577-588.
- 10) Budzyńska M. 2014. Stress Reactivity and Coping in Horse Adaptation to Environment. Journal of Equine Veterinary Science **34**: 935-941.
- 11) Burton GJ, Jauniaux EJ. 2011. Oxidative stress. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology **25**: 287-299.
- 12) Carlton M, Voisey J, Parker TJ. 2021. A review of potential biomarkers for assessing physical and psychological trauma in paediatric burns. Burns & trauma **9**.
- 13) Carstens E, Moberg GP. 2000. Recognizing Pain and Distress in Laboratory Animals. ILAR Journal **41**: 62–71.
- 14) Castro M, Elias LL, Elias PCL. 2011. Physiology and Pathophysiology of the HPA Axis. Pages 1-20 in Bronstein MD, editor. Cushing's Syndrome. Humana Press.
- 15) Conn PM, Freeman ME. 1999. Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Humana, New York.
- 16) Contalbrigo L, Borgi M, De Santis M. 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**.
- 17) Contreras-Aguilar MD, Lamy E, Escribano D. 2020. Changes in Salivary Analytes of Horses Due to Circadian Rhythm and Season: A Pilot Study. Animals **10**.
- 18) Cooper J, & McGreevy P. 2007. Stereotypic behaviour in the stabled horse: causes, effects and prevention without compromising horse welfare. The welfare of horses 99-124.
- 19) Cooper JJ, McDonald L, Mills DS. 2000. The effect of increasing visual horizons on stereotypic weaving: implications for the social housing of stabled horses. Applied Animal Behaviour Science **69**: 67-83.

- 20) 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.
- 21) Cravana C, Fazio E, Ferlazzo A. 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.
- 22) Dabelko-Schoeny H, Phillips G, Darrough E. 2014. Equine-Assisted Intervention for People with Dementia. *ANTHROZOOS* **24**: 141-155.
- 23) d'Angelo D, d'Ingeo S, Ciani F. 2021. Cortisol Levels of Shelter Dogs in Animal Assisted Interventions in a Prison: An Exploratory Study. *Animals* **11**.
- 24) Davies Z. 2017. *Equine Science*. Wiley-Blackwell, Oxford.
- 25) Davis E, Davies B, Wolfe R. 2009. 'Dog Handlers' and Dogs' Emotional and Cortisol Secretion Responses Associated with Animal-Assisted Therapy Sessions. *Developmental Medicine & Child Neurology* **51**: 87-163.
- 26) de Graaf-Roelfsema E, van Ginneken ME, van Breda E. 2006. The effect of long-term exercise on glucose metabolism and peripheral insulin sensitivity in Standardbred horses. *Equine veterinary journal* **38**: 221-225.
- 27) 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.
- 28) Demaili A, Portugalov A, Dudai M. (2023). Epigenetic (re) programming of gene expression changes of CB1R and FAAH in the medial prefrontal cortex in response to early life and adolescence stress exposure. *Frontiers in Cellular Neuroscience*.
- 29) DiSalvo H, Haiduven D, Johnson N. 2006. Who let the dogs out? Infection control did: utility of dogs in health care settings and infection control aspects. *American Journal of Infection Control* **34**: 301-307.
- 30) Ewing CA, MacDonald PM, Taylor M. 2007. Equine-Facilitated Learning for Youths with Severe Emotional Disorders: A Quantitative and Qualitative Study. *Child and Youth Care Forum* **36**: 59-72.
- 31) Fareau GG, Vassilopoulou-Sellin R. 2007. Hypercortisolemia and Infection. *Infectious Disease Clinics of North America* **21**: 639-657.
- 32) Fazio E, Medica P, Cravana C. 2013. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses of horses to therapeutic riding program: Effects of different riders. *Physiology & Behavior* **118**: 138-143.
- 33) Fazio EG, Medica P, Cravana C. 2009. Physiological variables of horses after road transport. *Animals* **3**: 1313-1318.
- 34) Ferlazzo A, Fazio E, Cravana C. 2023. Equine-assisted services: An overview of current scientific contributions on efficacy and outcomes on humans and horses. *Journal of Veterinary Behavior* **59**: 15-24.
- 35) Fine AH, Griffin TC. 2022. Protecting Animal Welfare in Animal-Assisted Intervention: Our Ethical Obligation. *SEMINARS IN SPEECH AND LANGUAGE* **43**: 8-23.
- 36) Fries E, Hesse J, Hellhammer DH. 2005. A new view on hypocortisolism. *Psychoneuroendocrinology* **30**: 1010-1016.
- 37) Galeta P, Lázníčková-Galetová M, Sablin M. 2021. Morphological evidence for early dog domestication in the European Pleistocene: New evidence from a randomization approach to group differences. *The Anatomical Record* **304**: 42-62.
- 38) Gatti R, Antonelli G, Prearo M. 2009. Cortisol assays and diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. *Clinical biochemistry* **42**: 1205-1217.

- 39) Geurtsen A, Lamers MH, Shaaf MJM. 2015. Interactive Digital Gameplay Can Lower Stress Hormone Levels in Home Alone Dogs — A Case for Animal Welfare Informatics. Pages 238–251 in Chorianoopoulos K, Divitini M, Hauge JB, editors. International Conference on Entertainment Computing. Springer, London.
- 40) Giannetto C, Fazio F, Vazzana I. 2012. Comparison of cortisol and rectal temperature circadian rhythms in horses: the role of light/dark cycle and constant darkness. *Biological Rhythm Research* **43**: 681-687.
- 41) Gonzalez-Rivas PA, Chauhan SS, Ha M. 2020. Effects of heat stress on animal physiology, metabolism, and meat quality: A review. *Meat Science* **162**.
- 42) Goodwin D. 1999. The importance of ethology in understanding the behaviour of the horse. *Equine veterinary journal* **28**: 15-19.
- 43) Goodwin D. 2007. Learning Behaviour: What we know, what we don't and future research priorities. *BEHAVIOURAL PROCESSES* **76**: 17-19.
- 44) Grandgeorge M, Hausberger M. 2011. Human-animal relationships: from daily life to animal-assisted therapies. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità* **47**: 397-408.
- 45) Greco DS. 2007. Hypoadrenocorticism in Small Animals. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* **22**: 32-35.
- 46) Green AR, Gates RS., Lawrence LM. 2005. Measurement of horse core body temperature. *Journal of Thermal Biology* **30**: 370-377.
- 47) Greenbaum SD. 2006. Introduction to working with Animal Assisted Crisis Response animal handler teams. *International Journal of Emergency Mental Health* **8**: 49-63.
- 48) Greff MJ, Levine JM, Abuzgaia AM. 2019. Hair cortisol analysis: An update on methodological considerations and clinical applications. *Clinical biochemistry* **63**: 1-9.
- 49) Haubelhofer DK, Kirchengast S. 2007. 'Dog Handlers' and Dogs' Emotional and Cortisol Secretion Responses Associated with Animal-Assisted Therapy Sessions. *Society and Animals* **15**: 127-150.
- 50) Heim C, Ehlert U, Hellhammer DH. 2000. The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders. *Psychoneuroendocrinology* **25**: 1-35.
- 51) 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.
- 52) Heussen N, Häusler M. 2022. Equine-Assisted Therapies for Children With Cerebral Palsy: A Meta-analysis. *Pediatrics* **150**.
- 53) Hoagwood K, Vincent A, Acri M. 2022. Reducing Anxiety and Stress among Youth in a CBT-Based Equine-Assisted Adaptive Riding Program. *Animals* **12**.
- 54) Hovey MR, Davis A, Chen S. 2021. Evaluating Stress in Riding Horses: Part One— Behavior Assessment and Serum Cortisol. *Journal of Equine Veterinary Science* **96**.
- 55) Hyyppä S. 2005. Endocrinal responses in exercising horses. *Livestock Production Science* **92**: 113-121.
- 56) Champagne D, Dugas C. 2010. Improving gross motor function and postural control with hippotherapy in children with Down syndrome: Case reports. *Physiotherapy Theory and Practice* **8**: 564-571.
- 57) Chmelíková E, Bolechová P, Chaloupková H. 2020. Salivary cortisol as a marker of acute stress in dogs: a review. *Domestic Animal Endocrinology* **72**.
- 58) Johnson RA, Johnson PJ, Megarani DV. 2017. Horses Working in Therapeutic Riding Programs: Cortisol, Adrenocorticotrophic Hormone, Glucose, and Behavior Stress Indicators. *Journal of Equine Veterinary Science* **57**: 77-85.
- 59) Jolivald A, Ijichi C, Hall C. 2023). The mane factor: Compliance is associated with increased hair cortisol in the horse. *Applied Animal Behaviour Science* **258**

- 60) Kaiser L, Heleski CR, Siegford J. 2006. Stress-related behaviors among horses used in a therapeutic riding program. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **228**: 39 - 45.
- 61) Karssen AM, Her S, Li JZ. 2007. Stress-induced changes in primate prefrontal profiles of gene expression. *Molecular Psychiatry* **12**: 1089–1102.
- 62) Katsu Y, Baker ME. 2021. Subchapter 123D - Cortisol. Pages 947-949 in Ando H, Nagata S, Ukena K, editors. *Handbook of Hormones (Second Edition)*. Academic Press.
- 63) Kaushik A, Vasudev A, Arya SK. 2014. Recent advances in cortisol sensing technologies for point-of-care application. *Biosensors and Bioelectronics* **53**: 499-512.
- 64) Koca TT, Ataseven H. 2015. What is hippotherapy? The indications and effectiveness of hippotherapy. *Northern Clinics Of Istanbul* **2**: 247-252.
- 65) Kovac, M, Ippolitova TV, Pozyabin S. 2022. Equine Stress: Neuroendocrine Physiology and Pathophysiology. in Rutland CS, El-Gendy S, Payan-Carreira R, editors. *Updates on Veterinary Anatomy and Physiology*. IntechOpen.
- 66) Kowalski MO, Smith S, Cole D. 2021. A multicenter study of animal-assisted activity and anxiety among older adults hospitalized in acute care settings. *APPLIED NURSING RESEARCH* **60**.
- 67) Kranner I, Minibayeva FV, Beckett RP. 2010. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist* **188**: 655-673.
- 68) Kyrou I, Tsigos C. 2009. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Current Opinion in Pharmacology* **9**: 787-793.
- 69) Lackey R, Haberstock G. 2019. Animal-Assisted Crisis Response: Offering Opportunity for Human Resiliency During and After Traumatic Incidents. Pages 373-394 in Tedeschi P, Jenkins MA. *Transforming Trauma: Resilience and Healing Through Our Connections With Animals*. Purdue University Press, Lafayette.
- 70) Linder DE, Siebens HC, Mueller MK. 2017. Animal-assisted interventions: A national survey of health and safety policies in hospitals, eldercare facilities, and therapy animal organizations. *American Journal of Infection Control* **45**: 883-887.
- 71) Lobato Rincon LL, Martin BR, Sanchez MAM. 2021. Effects of Dog-Assisted Education on Physical and Communicative Skills in Children with Severe and Multiple Disabilities: A Pilot Study. *Animals* **11**.
- 72) Lundblad J, Rashid M, Rhodin M. 2021. Effect of transportation and social isolation on facial expressions of healthy horses. *PLoS One* **16**.
- 73) Mair TS, Sherlock CE, Boden LA. 2014. Serum cortisol concentrations in horses with colic. *The Veterinary Journal* **201**: 370-377.
- 74) Malinowski K, Yee C, Tevlin JM. 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.
- 75) Mandrá PP, Moretti TCF, Avezum LA. 2019. Animal assisted therapy: systematic review of literature. *CODAS* **31**: 17-32.
- 76) Marcus DA. 2013. The science behind animal-assisted therapy. *CURRENT PAIN AND HEADACHE REPORTS* **17**.
- 77) Marinelli L, Normando S, Siliprandi C. 2009. Dog assisted interventions in a specialized centre and potential concerns for animal welfare. *VETERINARY RESEARCH COMMUNICATIONS* **33**: S93-S95.
- 78) Mazzola SM, Colombani C, Pizzamiglio G. 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**: 2141.

- 79) McCue PM. 2002. Equine Cushing's disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* **18**: 533-543.
- 80) 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.
- 81) McMillan FD. 2019. *Mental Health and Well-being in Animals*. CABI Publishing, Oxfordshire.
- 82) Mejía JAB, Jaramillo JAN, Corrales NU. 2022. Colombian Creole Horse: Frequency of oral and motor stereotypies. *Veterinary World* **15**: 1113.
- 83) Memishevikj H, Hodzhikj S. 2010. The effects of equine-assisted therapy in improving the psychosocial functioning of children with autism. *Journal of Special Education and Rehabilitation* **11**: 57-67.
- 84) Meregillano G. 2004. Hippotherapy. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America* **15**: 843-854.
- 85) 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.
- 86) Mignot A, Karelle L, Servais V. 2022. Handlers' Representations on Therapy Dogs' Welfare. *Animals* **12**.
- 87) Mohd Asmi NAS, Juliana N, Azmani S. 2021. Cortisol on Circadian Rhythm and Its Effect on Cardiovascular System. *Animals* **11**: 18.
- 88) Muir WW. 2015. Pain and stress: stress-induced hyperalgesia and hypoalgesia. Pages 42-60 in Gaynor JS, Muir WW, editors. *Handbook of Veterinary Pain Management*. Elsevier, St. Louis.
- 89) Nicolaides NC, Kyratzi E, Lamprokostopoulou A. 2015. Stress, the Stress System and the Role of Glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation* **22**: 6-19.
- 90) Nieuwenhuizen AG, Rutters F. 2008. The hypothalamic-pituitary-adrenal-axis in the regulation of energy balance. *Physiology & Behavior* **94**: 169-177.
- 91) Nimer J, Lundahl B. 2007. Animal-assisted therapy: A meta-analysis. *ANTHROZOOS* **20**: 225-238.
- 92) Nuchprayoon N, Arya N, Rituecha P. 2017. Stress cortisol and muscle stiffness in horses used for equine-assisted therapy. *Journal of Applied Animal Science* **10**: 35-46.
- 93) O'Haire ME, McKenzie S, McCune S. 2014. Effects of Classroom Animal-Assisted Activities on Social Functioning in Children with Autism Spectrum Disorder. *JOURNAL OF ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE* **20**: 162-168.
- 94) Outram AK, Stear NA, Bendrey R. 2009. The earliest horse harnessing and milking. *Science* **323**: 1332-1335.
- 95) Palme R. 2005. Measuring Fecal Steroids: Guidelines for Practical Application. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1046**: 75-80.
- 96) Pawluski J, Jęgo P, Henry S. 2017. Low plasma cortisol and fecal cortisol metabolite measures as indicators of compromised welfare in domestic horses (*Equus caballus*). *PLOS ONE* **12**.
- 97) Pendry P, Carr AM, Vandagriff JL. 2018. Adolescents' Affective and Physiological Regulation Shape Negative Behavior During Challenging Equine Assisted Learning Activities. *FRONTIERS IN VETERINARY SCIENCE* **5**.
- 98) Pendry P, Roeter S. 2013. Experimental Trial Demonstrates Positive Effects of Equine Facilitated Learning on Child Social Competence. *Human-Animal Interaction Bulletin* **1**: 1-19.
- 99) Pivonello R, De Martino MC, De Leo M. 2008. Cushing's Syndrome. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* **37**: 135-149.

- 100) Pivonello R, Iacuaniello D, Simeoli C. 2019. Long-Term Complications of Hypercortisolism. *Encyclopedia of Endocrine Diseases (Second Edition)* **3**: 341-359.
- 101) Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada Publishing, Praha.
- 102) Rigby BR, Grandjean PW. 2016. The Efficacy of Equine-Assisted Activities and Therapies on Improving Physical Function. *JOURNAL OF ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE* **22**: 9-24.
- 103) Riva MG, Dai F, Huhtinen M. 2022. The Impact of Noise Anxiety on Behavior and Welfare of Horses from UK and US Owner's Perspective. *Animals* **12**.
- 104) Rothe EQ, Vega BJ, Torres R. 2005. From kids and horses: Equine facilitated psychotherapy for children. *International Journal of Clinical and Health Psychology* **5**: 373-383.
- 105) Saluti G, Ricci M, Castellani F. 2022. Determination of hair cortisol in horses: comparison of immunoassay vs LC-HRMS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **414**: 8093–8105.
- 106) Sawyer J, Huertas G. 2018. *Animal management and welfare in natural disasters*. Routledge, New York.
- 107) Scandurra C, Santaniello A, Cristiano S. 2021. An Animal-Assisted Education Intervention with Dogs to Promote Emotion Comprehension in Primary School Children-The Federico II Model of Healthcare Zooanthropology. *Animals* **11**.
- 108) Scott-Solomon E, Boehm E, Kuruvilla R. 2021. The sympathetic nervous system in development and disease. *NATURE REVIEWS NEUROSCIENCE* **22**: 685-702.
- 109) Serpell JA. 2010. Animal-Assisted Interventions in Historical Perspective. Pages 17-32 in Fine AH, editor. *Handbook on Animal-Assisted Therapy*. Academic Press, London.
- 110) Shelby A, Smith-Osborne A. 2013. A systematic review of effectiveness of complementary and adjunct therapies and interventions involving equines. *Health Psychology* **32**: 418-432.
- 111) Schmidt A, Möstl E, Wehnert C. 2010. Cortisol release and heart rate variability in horses during road transport. *Hormones and Behavior* **57**: 209-215.
- 112) Schuurmans L, Enders-Slegers MJ, Verheggen T. 2016. Animal-assisted interventions in Dutch nursing homes: a survey. *Journal of the American Medical Directors Association* **17**: 647-653.
- 113) Sies H. 2019. Oxidative Stress: Eustress and Distress in Redox Homeostasis. Pages 153-163 in Fink G, editor. *Stress: Physiology, Biochemistry, and Pathology*. Academic Press, San Diego.
- 114) Spencer RL, Deak T. 2017. A users guide to HPA axis research. *Physiology & Behavior* **178**: 43-65.
- 115) Spiga F, Walker JJ, Terry JR. 2014. HPA Axis-Rhythms. *Comprehensive Physiology* **4**.
- 116) Steiger B, Steiger SH. 2008. *Horse Miracles: Inspirational True Stories of Remarkable Horses*. Miracles, Massachusetts.
- 117) Stewart AJ, Hackett E, Bertin FR. 2019. Cortisol and adrenocorticotropic hormone concentrations in horses with systemic inflammatory response syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **33**: 2257–2266.
- 118) Suagee-Bedore JK, Linden DR, Bennett-Wimbush K. 2021. Effect of Pen Size on Stress Responses of Stall-Housed Horses Receiving One Hour of Daily Turnout. *Journal of Equine Veterinary Science* **98**.
- 119) Tateo, A, Padalino B, Boccaccio M. 2012. Transport stress in horses: Effects of two different distances. *Journal of Veterinary Behavior* **7**: 33-42.

- 120) Taylor FG, Brazil T, Hillyer MH. 2010. Diagnostic Techniques in Equine Medicine. Elsevier Health Sciences.
- 121) Thau L, Gandhi J, Sharma S. 2022. Physiology, Cortisol. StatPearls Publishing.
- 122) Torcivia C, McDonnell S. 2021. Equine Discomfort Ethogram. *Animals* **11**.
- 123) Turpeinen U, Hämäläinen E. 2013. Determination of cortisol in serum, saliva and urine. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* **27**: 795-801.
- 124) Turrigiano G. 2007. Homeostatic signaling: the positive side of negative feedback. *Current Opinion in Neurobiology* **17**: 318-324.
- 125) van Houtert EA, Endenburg N, Vermetten E. 2022. Hair Cortisol in Service Dogs for Veterans with Post-traumatic Stress Disorder Compared to Companion Dogs (*Canis Familiaris*). *Journal of Applied Animal Welfare Science* 1-11.
- 126) von Borell EH 2001. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. *Journal of Animal Science* **79**: 260–267.
- 127) Voznesenskiy S, Rivera-Quinoto JA, Bonilla-Yacelga KA. 2016. Do Equine-assisted Physical Activities Help to Develop Gross Motor Skills in Children with the Down Syndrome? Short-term Results. *Procedia - Social and Behavioral Sciences* **233**: 307-312.
- 128) Wagner C, Gaab J, Hediger K. 2023. The Importance of the Treatment Rationale for Pain in Animal-Assisted Interventions: A Randomized Controlled Trial in Healthy Participants. *The Journal of Pain*.
- 129) Wagner C, Grob C, Hediger K. 2022. Specific and Non-specific Factors of Animal-Assisted Interventions Considered in Research: A Systematic Review. *Frontiers in Psychology* **13**.
- 130) White-Lewis S, Johnson R, Ye S. 2019. An equine-assisted therapy intervention to improve pain, range of motion, and quality of life in adults and older adults with arthritis: A randomized controlled trial. *Applied Nursing Research* **49**: 5-12.
- 131) White-Lewis S. 2020. Equine-assisted therapies using horses as healers: A concept analysis. *Nursing Open* **7**: 58–67.
- 132) Wood W, Alm K, Benjamin J. 2020. Optimal Terminology for Services in the United States That Incorporate Horses to Benefit People: A Consensus Document. *JOURNAL OF ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE* **27**: 88-95.
- 133) Yakimicki ML, Edwards NE, Richards E. 2019. Animal-Assisted Intervention and Dementia: A Systematic Review. *Clinical Nursing Research* **28**: 9-29.
- 134) Young T, Creighton E, Smith T. 2012. A novel scale of behavioural indicators of stress for use with domestic horses. *Applied Animal Behaviour Science* **140**: 33-43.

6 Seznam použitých obrázků a tabulek

Seznam obrázků

Obrázek 1: Srovnání drah SAM A HPA (Carlton et al. 2021)	14
Obrázek 2: Projevy stresovaného koně (Lundblad et al. 2021)	16

Seznam tabulek

Tabulka 1: Etogram stresového chování	15
Tabulka 2: Hodnocení míry stresu dle chování	17
Tabulka 3: Shrnutí studií na vyšetření kortizolu u koní v zoorehabilitaci	25

7 Seznam použitých zkratek a symbolů

AAA – Animal-assisted activities
AACR – Animal-assisted crisis response
AAE – Animal-assisted education
AAT – Animal-assisted therapy
ACTH – Adrenocorticotropic hormone
ADHD – Attention deficit hyperactivity disorder
ATP – Adenosintrifosfát
AVP – Arginin vazopresin
CNS – Centrální nervová soustava
CRH – Corticotropin-Releasing Hormone
DNA – Deoxyribonukleová kyselina
ELISA – Enzyme-linked immuno sorbent assay
GAS – General adaptation syndrome
GMFM – Gross motor function measure
HPA – Hypothalamic–pituitary–adrenal
HPLC – High-performance liquid chromatography
IAHAIO – International Association of Human-Animal Interaction Organizations
AAI – Animal-assisted intervention
MMSE – Mini mental state exam
MO – Mozková obrna
PAS – Poruchy autistického spektra
PTSD – Posttraumatická stresová porucha
RIA – Radioimunoanalýza
SAM – Sympato-adreno-medulární
SHEA – The Society for Healthcare Epidemiology of America
SNS – Sympatický nervový systém

