

# Promjene biokemijskih pokazatelja u krvi tijekom treninga potražnih pasa uključenih u različite hranidbene režime: obrok na osnovi sirovog mesa i termički obrađena prešana hrana

---

**Bureš, Tomislav**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:107239>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-29**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

Tomislav Bureš

Promjene biokemijskih pokazatelja u krvi tijekom treninga potražnih pasa  
uključenih u različite hranidbene režime: obrok na osnovi sirovog mesa i termički  
obrađena prešana hrana

Diplomski rad

Zagreb, 2019.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za rendgenologiju, ultrazvučnu dijagnostiku i fizikalnu terapiju i na Zavodu za prehranu i dijetetiku životinja Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Predstojnik:

prof. dr. sc. Damir Stanin

izv. prof. dr. sc. Hrvoje Valpotić

Mentori:

doc. dr. sc. Zoran Vrbanac

doc. dr. sc. Diana Brozić

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Damir Stanin
2. doc. dr. sc. Diana Brozić
3. doc. dr. sc. Zoran Vrbanac
4. doc. dr. sc. Nika Brkljača Bottegaro (zamjena)

## **Zahvale**

*Ovom prilikom zahvalio bih se doc.dr.sc. Zoranu Vrbancu i doc.dr.sc. Diani Brozić na pomoći i vodstvu pri prikupljanju uzoraka i analizi rezultata uzorkovanja. Velika zahvala i Hrvatskoj gorskoj službi spašavanja na gostoprimstvu i pružanju mogućnosti provođenja ovoga istraživanja u sklopu projekta “Utjecaj rada na metabolički i oksidacijski status pasa Hrvatske gorske službe spašavanja”.*

*Ovom prilikom bih se zahvalio cjelokupnoj obitelji, djedovima, bakama, ocu, majci, sestri, ujaku, ujni i prijateljima na svesrdnoj podršci i pomoći tijekom moga dugog školovanja. Jedino što mogu u ovom trenutku reći je veliko hvala i nadam se da vas sve nisam iznevjerio i da ću vas učiniti ponosnima.*

*Veliko hvala ide i mojoj djevojci Mariji jer je bila tu, bodrila me i davala mi snage da ustrajem i ne odustanem od cilja kojeg sam si zacrtao.*

## **POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA**

**ALP** - alkalna fosfataza (engl. *alkaline phosphatase*)

**ALT** - alanin-aminotransferaza (engl. *alanine aminotransferase*)

**AST** - aspartat-aminotransferaza (engl. *aspartate aminotransferase*)

**ATP** – adenzin-trifosfat

**BARF** - biološki usklađena sirova hrana (engl. *Biologically Appropriate Raw Food*)

**CK** - kreatin kinaza (engl. *creatine kinase*)

**CP** - kreatin-fosfat (engl. *creatine phosphate*)

**GGT** - gama-glutamiltransferaza (engl. *gamma-glutamyl transferase*)

**HGSS** - Hrvatska gorska služba spašavanja

**K**- kalij

**LDH** - laktat-dehidrogenaza (engl. *lactate dehydrogenase*)

**Mg** - magnezij

**Na** - natrij

**NET** - nedušične ekstraktivne tvari

**TAG** – triacilgliceroli (engl. *triacylglycerols*)

## Popis priloga

1. **Tablica 1.** Analitički sastav hrane u pokusnim skupinama hranjenim prešanom hranom (PRESS) i obrokom na osnovi sirovog mesa (BARF): udio na bazi suhe tvari (%).
2. **Tablica 2.** Biokemijski pokazatelji: usporedba između skupina pasa PRESS i BARF prije i nakon treninga.
3. **Slika 1.** Grafički prikaz usporedbe odabranih biokemijskih pokazatelja unutar skupina pasa hranjenih prešanom hranom (PRESS) prije i nakon treninga i hranom na osnovi sirovog mesa (BARF) prije i nakon treninga.

## Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja .....	3
3. Materijali i metode .....	6
3.1. Psi.....	6
3.2. Hranidbeni protokol .....	6
3.3. Prikupljanje i analiza uzoraka .....	6
3.4. Statistička analiza.....	8
4. Rezultati .....	9
5. Rasprava.....	14
6. Zaključci .....	20
7. Literatura.....	21
8. Sažetak .....	27
9. <i>Summary</i> .....	29
10. Životopis .....	31

## 1. Uvod

U sportskih i radnih pasa, fizička aktivnost izaziva različit fiziološki odgovor organizma, ovisno o trajanju i intenzitetu. Takva aktivnost može biti kraćeg trajanja i visokog intenziteta poput primjerice utrka hrtova, ili duljeg trajanja i nižeg intenziteta, poput utrka pasa za vuču saonica (ROVIRA i sur., 2008.; PICCIONE i sur., 2012.). Od potražnih pasa koji se koriste u službi i radu Hrvatske gorske službe spašavanja (HGSS) osim poslušnosti i detekcije njuhom, očekuje se fizička spremnost za terenski rad na većem području koji može potrajati nekoliko sati dnevno, stoga njihova aktivnost uključuje intervale visokog i niskog intenziteta rada kroz dulji vremenski period.

Iako su genetika i konformacija ključne za uspjeh radnih pasa, trening i prehrana su sastavnice koje također imaju važnu ulogu (WAKSHLAG i SHMALBERG, 2014.). Radni psi imaju veće potrebe za energijom nego psi koji su isključivo držani kao kućni ljubimci, stoga njihova hrana treba biti visoko probavljiva, ukusna te im osigurati dovoljnu količinu energije (TOLL i REYNOLDS, 2000.). Prehrana radnih pasa mora pratiti specifične zahtjeve samog treninga i aktivnosti, u svrhu pripreme organizma na pojačanu fizičku aktivnost, prevencije mogućih ozljeda uzrokovanih nedostatnom prehranom te posljedičnim utjecajem na izvedbu u pogledu brzine, snage i izdržljivosti (HILL, 1998). Izvor energije je vrlo bitan u prehrani pasa korištenih za rad budući da im je potreban dugotrajan i stabilan izvor energije s minimalnim skokovima u koncentraciji glukoze. Upravo iz navedenog razloga, prehrana pasa koji se koriste u radu predmet je rasprave, sa naglaskom na udjelu pojedinih makronutrijenata: ugljikohidrata, masti i bjelančevina u obroku (HILL i sur, 2009b).

U hranidbi potražnih pasa HGSS-a zastupljeni su različiti hranidbeni režimi, obrok na osnovi sirovog mesa i termički obrađena prešana hrana. Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi metaboličke promjene koje će se očitovati kroz biokemijske pokazatelje u krvi uslijed različite zastupljenosti pojedinih makronutrijenata u obroku tijekom rada.

Specifični cilj ovog rada bio je utvrditi promjene u biokemijskim pokazateljima krvi potražnih pasa koje su proizašle iz hranidbe obrocima s različitim udjelom bjelančevina, masti i ugljikohidrata i različitog procesa termičke obrade prije i nakon treninga. Dodatno, utvrditi



utjecaj rada na biokemijske pokazatelje unutar skupina što bi ukazalo na prednosti i/ili nedostatke istraživanih hranidbenih režima u hranidbi pasa HGSS-a.

## 2. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja

Tijekom rada pasa odvijaju se složeni fiziološki procesi sinteze energije za mišićne stanice. Energija pohranjena u fosfatnom spoju adenzin-trifosfat (ATP) jedini je izvor energije za mišićnu kontrakciju. Mišićne zalihe ATP-a su vrlo ograničene, stoga, da bi se resintetizirao ATP i na taj način održavala konstantnom njegova koncentracija u mišićnoj stanici, koristi se energija iz spojeva koji zahtijevaju prisustvo kisika (aerobni energetske procesi) i iz izvora koji oslobađaju energiju bez prisustva kisika (anaerobni energetske procesi) (GUYTON i HALL, 2006.). Premda su oba energetske procesa aktivna tijekom fizičke aktivnosti, doprinos svakoga u radu pojedinog mišića ovisi o intenzitetu i trajanju aktivnosti, sastavu mišićnih vlakana, dostupnosti kisika i supstrata te koncentraciji posredničkih metabolita koji mogu aktivirati ili inhibirati enzime (MCGOWAN i HAMPSON, 2007.). Prilikom anaerobnog rada, koristi se ATP pohranjen u mišićnim vlaknima no on je dovoljan samo za nekoliko sekundi rada. Izvor ATP-a u mišiću je kreatin-fosfat (CP), on sudjeluje u procesu mišićne kontrakcije tako da daje fosfatnu molekulu adenzin-difosfatu te ga ponovo pretvara u ATP. No, zalihe CP-a u mišiću su ograničene i dostupne tek za nekoliko sekundi rada, primjerice sprint, stoga se do daljnje energije dolazi putem procesa glikolize i glikogenolize s posljedičnim stvaranjem laktata (WALLIMANN i sur., 1992.; BALSOM i sur., 1994.). Oba procesa dovode do stvaranja energije u obliku ATP-a, no, također dovoljne su tek za kraći vremenski period. Akumulacija laktata u krvi, kao produkta anaerobnog metabolizma, bilježi se netom nakon vježbe, kada njegova koncentracija u krvi može porasti i nekoliko puta ovisno o intenzitetu rada. Nakupljanje laktata povezano je s fazom umora u radu mišića, razvojem rabdomiolize i iscrpljenosti u radnih pasa (ROVIRA i sur., 2007.). Drugi izvor ATP-a potrebnih za rad je kroz aerobni metabolizam, kada se putem oksidacije ugljikohidrata, masti i bjelančevina osigurava energija za dugotrajnu tjelesnu aktivnost niskog ili srednjeg intenziteta. Kod aerobne razgradnje masti, dolazi do oksidacije masnih kiselina u procesu beta-oksidacije i potom u Krebsovom ciklusu. Osim što masti pohranjuju značajno veću količinu energije od ugljikohidrata prednost ispred ugljikohidrata je i ta što su zalihe masti gotovo neograničene za razliku od glikogenskih. Zalihe glikogena u mišićima i jetri dovoljne su tek za kraće vrijeme provođenja aerobne aktivnosti (VON DUVILLARD i sur., 2004.;

GUYTON i HALL, 2006.). Bjelančevine kao izvor energije od važnosti su u procesima glukoneogeneze kada postaju značajan izvor energije za mišićni rad. Mišićje pasa sadrži pretežno oksidativna vlakna (I i IIa) stoga se, u usporedbi sa sportašima, sportski psi u puno većoj mjeri oslanjaju na aerobni metabolizam te posjeduju iznimnu sposobnost korištenja alternativnih izvora energije i održavanje zaliha glikogena (GUNN, 1978.; ARMSTRONG i sur., 1982., MILLARD, 2013.). U korelaciji sa tjelesnom masom, psi koriste masne kiseline u dvostruko većem obujmu kao energetske supstrate nego li je to zabilježeno kod ljudi (DE BRUIJNE i VAN DEN BROM, 1986.). Mišićno tkivo pasa je stoga u većoj mjeri prilagođeno korištenju masti kao izvora energije nego mišićno tkivo čovjeka (HILL, 1998.). Bjelančevine, kao ključni makronutrijenti u prehrani radnih pasa, pomažu u očuvanju integriteta mišićne mase te održavaju optimalnu količinu ukupnih bjelančevina, albumina i hematokrita koji imaju tendenciju smanjivanja prilikom treniranja (KRONFELD i sur., 1989.). Osim navedenog, bjelančevine su endogeni izvor kreatina, spoja koji je važan jer u tijelu svih kralježnjaka sudjeluje u opskrbi mišića energijom.

Nadalje, tijekom fizičke aktivnosti psa odvijaju se opsežni anabolički i katabolički procesi uz procese oštećenja i reparacije. Naime, produkcija slobodnih radikala je neizbježna posljedica aerobnog metabolizma. Potreba za kisikom u mišićima poraste 100 puta tijekom vježbanja. Oksidacijski stres koji nadilazi antioksidacijski mehanizam rezultira oštećenjem mišića, što se detektira pomoću enzima kreatin kinaze (CK). Koncentracija CK u krvi raste ukoliko dođe do pucanja membrane miocita. Mjerenje koncentracije CK smatra se pouzdanim biljegom mišićnog oštećenja (MCCORD i FRIDOVICH, 1969.; SEN, 1985.; AKTAS i sur., 1993.).

Pojačana tjelesna aktivnost izaziva promjene u tekućinskom sastavu, elektrolitima i acidobaznoj ravnoteži, ovisno o trajanju i intenzitetu vježbe, termoregulaciji i uvjetima na terenu (ROVIRA i sur, 2007.). Uslijed dugotrajnog rada srednjeg ili visokog intenziteta može doći do dehidracije te snižene koncentracije kationa plazme, natrija i kalija (HINCHCLIFF i sur., 1993.; DAVENPORT i sur., 2001.; MCKENZIE i sur., 2007.; SPOO i sur., 2015.).

Hranidba pasa ekstrudiranom ili peletiranom (prešanom) hranom dugi niz godina izbor je mnogih vlasnika i najzastupljeniji je proizvod u industriji hrane kućnih ljubimaca pa tako često i hrana izbora za radne pse. Upravo zbog specifičnog procesa proizvodnje tzv. briketa ili pelete korištenjem tlaka i visoke temperature u takvim formulacijama neophodna je škrobna

komponenta u visokom udjelu što je čest razlog kritike. S druge strane pored uvriježenog načina hranjenja pasa termički obrađenom, ekstrudiranom ili peletiranom, hranom, u posljednjem desetljeću sve aktualniji postaje trend hranjenja pasa obrocima na osnovi sirovog mesa sa najzastupljenijim hranidbenim režimom pod nazivom biološki usklađena sirova hrana (*Biologically Appropriate Raw Food*, BARF) (FREEMAN i sur., 2013.). BARF formulacije u svom sastavu sadrže termički neobrađene sirovine životinjskog podrijetla što će uvjetovati niski udio ugljikohidratne komponente u sastavu uz značajno viši udio bjelančevina i masti u usporedbi s ekstrudiranom ili peletiranom hranom. No iz razloga što postoji znatan rizik od mikrobiološke kontaminacije nusproizvoda životinjskog podrijetla koji nisu termički obrađeni, BARF formulacije često su opravdano kritizirane od strane veterinarske struke i javnog zdravstva kao visoko rizične ukoliko se koriste kao hrana kućnih ljubimaca (MORLEY i sur., 2006.; BOKKEN i sur., 2018.). Upravo je nedostatak istraživanja rezultat sveprisutne rasprave o razini potencijalnog rizika i, s druge strane, pozitivnih učinaka takve prehrane kod radnih pasa.

### 3. Materijali i metode

#### 3.1. Psi

U istraživanje je bilo uključeno 12 zdravih pasa, pasmina: graničarski koli, belgijski ovčar, križanac u tipu labradora i križanac u tipu belgijskog ovčara. Prosječna životna dob je iznosila  $3,57 \pm 1,81$  godine, a masa  $24,8 \pm 5,27$  kilograma. Psi su podijeljeni u dvije skupine sukladno hranidbenom režimu: skupina pasa hranjena prešanom hranom u obliku peleta - PRESS (Prins ProCare Super Active, Prins Petfoods, Nizozemska), 8 pasa, i skupina pasa hranjena obrokom na osnovi sirovog mesa - BARF (BARF Original, Hermann BARF, Hrvatska), 4 psa.

#### 3.2. Hranidbeni protokol

Hrane su se razlikovale po načinu prerade (termička obrada kod prešane hrane i smrzavanje kod sirovog obroka) te po sastavu makronutrijenata (Tablica 1.). Pri tome je hrana na osnovi sirovog mesa u suhoj tvari sadržavala bjelančevine, masti i ugljikohidrate u omjeru od: 45,2:32,2:5,5, dok je kod prešane hrane taj omjer iznosio: 27,5:18,7:42,8. Hranidbeni protokol proveden je u trajanju 4,5 mjeseci od čega je prilagodba na hranidbeni režim trajala 15 dana. Dnevne potrebe za metaboličkom energijom utvrđene su putem formula u skladu sa dnevnim intenzitetom aktivnosti za svakog psa:  $110-150 \text{ kcal ME/kg}^{0,75}$  (BURGER, 1994.; NRC, 2006.).

#### 3.3. Prikupljanje i analiza uzoraka

Uzorkovanje je vršeno jednom mjesečno u razdoblju od 4 mjeseca, dvaput na dan, prije i poslije radnog treninga Komisije za potrage i lavine HGSS-a. Trening se sastojao od simulacije potrage na otvorenom terenu kroz različite oblike rada: pretraživanje segmenta, pronalazak žive osobe i pronalazak mrtve osobe. Prvi uzorak krvi prikupljen je ujutro prije nego su psi nahranjeni, a drugi uzorak nakon 8-satnog rada potražnih pasa. Uzorkovanje krvi je vršeno iz *v. saphenae*, u epruvete za serum (BD Vacutainer® tubes, Plymouth, UK). Glukoza kod pasa

izmjerena je glukometrom iz kapi periferne krvi FreeStyle Optium Neo (Abbott, UK) test trakicama za mjerenje nivoa glukoze u krvi dok je razina laktata u krvi utvrđena prenosivim laktatometrom (LS, SensLab GmbH, Germany). Nakon uzorkovanja, uzorci su čuvani u hladnjaku i analizirani istoga dana na biokemijskom analizatoru Olympus AU640 (Olympus, Japan). U uzorcima su utvrđeni sljedeći biokemijski pokazatelji: razina ureje, kreatinina, ukupnih proteina, albumina, aktivnost enzima aspartat-aminotransferaze (AST), alanin-aminotransferaze (ALT), alkalne fosfataze (ALP), gama-glutamilttransferaze (GGT), kreatinin kinaze (CK), laktat dehidrogenaze (LDH) i koncentracija anorganskog fosfata, ukupnog magnezija (Mg), triacilglicerola (TAG), ukupnog kolesterola, natrija (Na) i kalija (K).

**Tablica 1.** Analitički sastav hrane u pokusnim skupinama hranjenim prešanom hranom (PRESS) i obrokom na osnovi sirovog mesa (BARF): udio na bazi suhe tvari (%)

	PRESS	BARF
sirove bjelančevine	27,5	45,22
sirova mast	18,7	32,23
sirova vlaknina	3,3	3,10
pepeo	7,7	13,91
NET*	42,8	5,54
vlaga	9	65,5
energetska vrijednost (kcal ME/100g <i>as fed</i> )	409	115

#### Sastav

PRESS: dehidrirano meso peradi, žitarice (kukuruz, pšenica, sirak), masti životinjskog podrijetla (govedina), hidrolizat kvasaca, lososovo ulje, pulpa cikoriije, fruktooligosaharidi, suncokretovo ulje, vitamini, minerali

BARF: govedina, mljevena goveđa kost i hrskavica, povrće (mrkva, blitva), prerađevine biljnog podrijetla, slatka delikatesna crvena paprika

\*Nedušične ekstraktivne tvari (NET) = 100 – (sirove bjelančevine + sirova mast + sirova vlaknina + pepeo)

### 3.4. Statistička analiza

Rezultati su statistički obrađeni korištenjem računalnog programa GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) i prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija ( $SV \pm SD$ ) te grafičkim prikazom. Normalnost distribucije provjerena je Shapiro-Wilks testom. Značajnost razlika između skupina PRESS i BARF prije i skupina PRESS i BARF nakon treninga, čije su vrijednosti slijedile normalnu raspodjelu utvrđena je t-testom po studentu. Značajnost razlika unutar skupina PRESS prije i nakon treninga te BARF prije i nakon treninga, kod normalne raspodjele utvrđena je t-testom za zavisne uzorke. Značajnost razlika čije vrijednosti nisu slijedile normalnu raspodjelu utvrđena je Mann-Whitneyevim U testom između skupina i Wilcoxonovim testom sume rangova unutar svake od skupina prije i nakon treninga. Razlike su se smatrale statistički značajnim ako je  $p < 0,05$ .

#### 4. Rezultati

Usporedbom skupina PRESS i BARF prije treninga utvrđene su sljedeće razlike: mjerenjem serumske koncentracije laktata u skupini BARF utvrđena je značajno manja koncentracija u odnosu na skupinu hranjenu termički obrađenom prešanom hranom ( $p=0,0288$ ). Međutim, nije ustanovljena statistički značajna razlika između skupina u koncentraciji glukoze u krvi ( $p=0,755$ ), također koncentracija ureje nije bila značajno različita ( $p=0,7022$ ). Koncentracija kreatinina bila je značajno viša u skupini PRESS ( $p=0,0002$ ). Koncentracije ukupnih proteina ( $p=0,3579$ ) i albumina ( $p=0,3693$ ) se između skupina nisu statistički značajno razlikovale. Nisu utvrđene značajne razlike između skupina u aktivnosti enzima ALT ( $p=0,4207$ ), GGT ( $p=0,3088$ ) i ALP ( $p=0,12$ ), no aktivnost enzima AST je bila značajno viša u skupini BARF ( $p=0,0214$ ). Nije ustanovljena značajna razlika u aktivnosti enzima CK ( $p=0,6472$ ), dok je LDH bio znatno viši u skupini PRESS ( $p=0,0119$ ). Razlike u koncentracijama anorganskog fosfata ( $p=0,1736$ ) i Mg ( $p=0,4198$ ) te TAG ( $p=0,169$ ) i ukupnog kolesterola ( $p=0,1267$ ) između skupina nisu se statistički značajno razlikovale. Također, nije bilo značajne razlike ni u koncentracijama Na ( $p=0,7735$ ) i K ( $p=0,1276$ ). Nadalje, usporedbom skupina PRESS i BARF nakon treninga utvrđeno je kako se koncentracija laktata ( $p=0,5005$ ) i glukoze ( $p=0,9708$ ) u serumu se nisu značajno razlikovale među skupinama. Značajno viša koncentracija ureje je izmjerena u skupini BARF ( $p=0,0051$ ), za razliku od koncentracija kreatinina ( $p=0,2059$ ) koje nisu bile statističke značajno različite. Koncentracije ukupnih proteina ( $p=0,4328$ ) i albumina ( $p=0,1818$ ) kao i aktivnosti enzima AST ( $p=0,0832$ ), ALT ( $p=0,3873$ ) i GGT ( $p=0,9307$ ) nisu bile značajno različite između skupina. Međutim, aktivnost enzima ALP bila je znatno viša u skupini PRESS ( $p=0,0269$ ). Razlika izmjerenih vrijednosti LDH ( $p=0,9324$ ) i CK ( $p=0,799$ ) nije se statistički značajno razlikovala. Koncentracije Mg ( $p=0,2087$ ) se nisu znatno razlikovale među skupinama no koncentracija anorganskog fosfata bila je značajno viša u skupini PRESS ( $p=0,0104$ ). Ustanovljena je značajno viša koncentracija TAG u skupini BARF ( $p=0,0391$ ), dok koncentracija kolesterola ( $p=0,1546$ ) nije bila statistički značajno različita. Koncentracije Na ( $p=0,2678$ ) i K ( $p=0,2985$ ) se između skupina nisu značajno razlikovale ( $p>0,05$ ) (Tablica 2.).



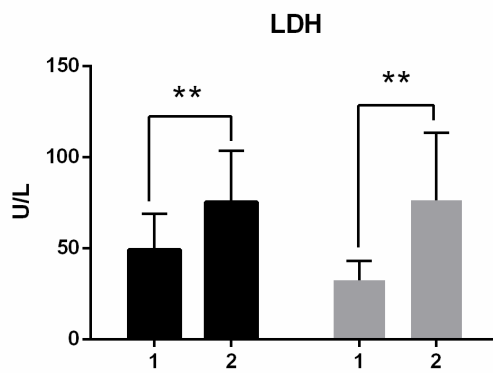
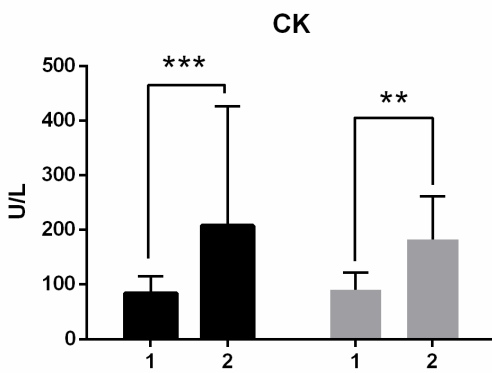
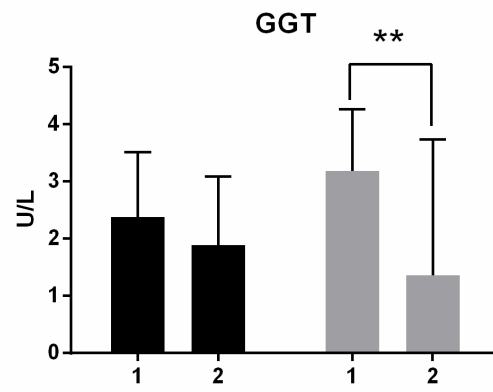
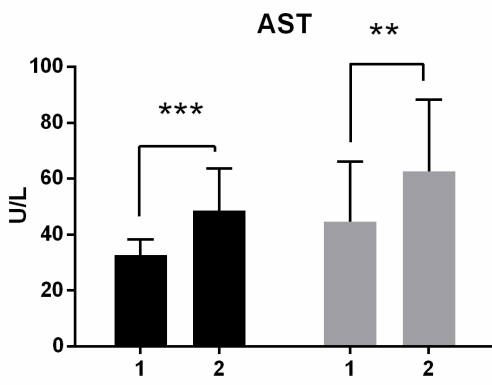
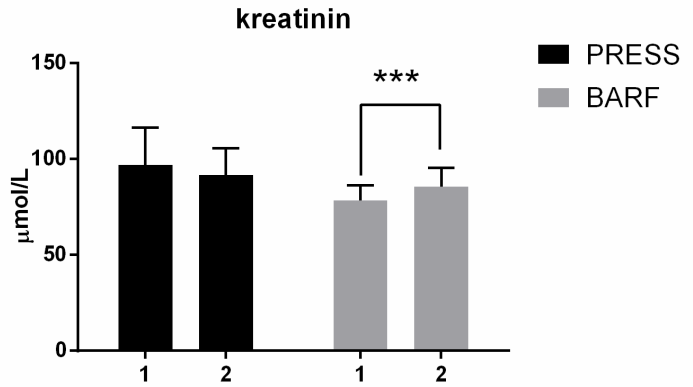
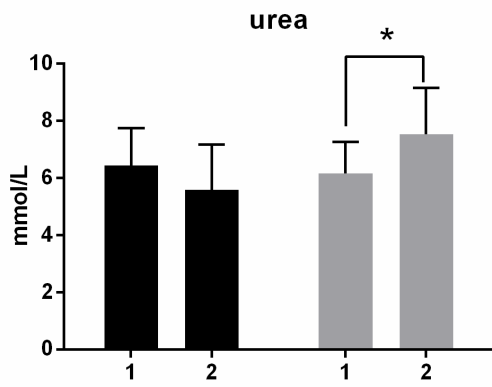
**Tablica 2.** Biokemijski pokazatelji: usporedba između skupina pasa PRESS i BARF prije i nakon treninga.

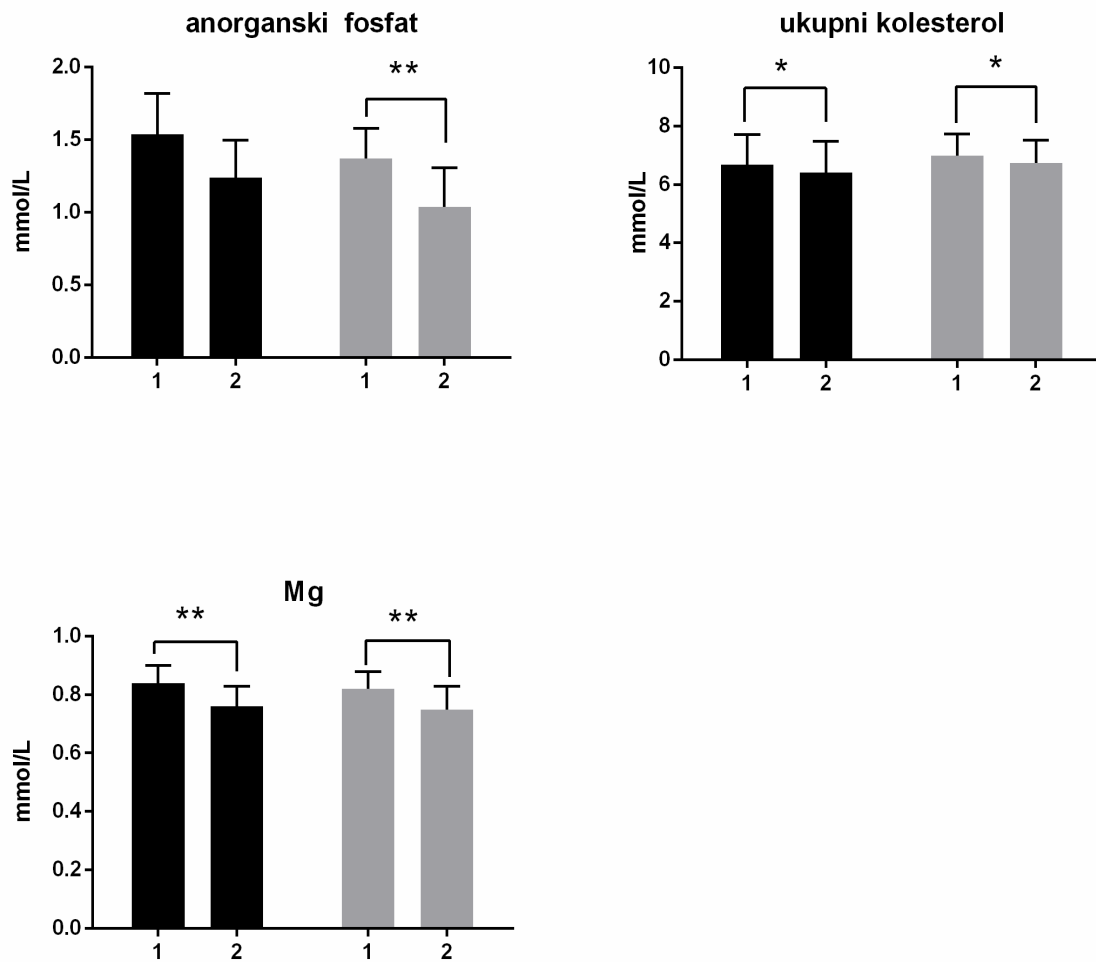
Biokemijski pokazatelji	PRESS 1	PRESS 2	BARF 1	BARF 2 <sup>1</sup>	PRESS 1 vs. BARF 1	PRESS 2 vs. BARF 2
Laktat (mmol/L)	1,28±0,69	2,87±1,74	0,92±0,32	1,73±1,08	*	NZ
Glukoza (mmol/L)	3,72±0,58	3,48±0,74	3,80±0,48	3,86±0,64	NZ	NZ
Urea (mmol/L)	6,45±1,30	5,58±1,60	6,15±1,12	7,54±1,61	NZ	**
Kreatinin (μmol/L)	97±19,36	91,78±13,87	78,45±7,80	85,73±9,77	***	NZ
Ukupni proteini (g/L)	64,92±4,23	64,44±4,18	65,18±2,18	64,55±2,30	NZ	NZ
Albumini (g/L)	33,92±2,08	33,44±1,63	34,00±1,48	34,45±1,97	NZ	NZ
AST (U/L)	32,62±5,64	48,56±15,05	44,55±21,57	62,55±25,79	*	NZ
ALT (U/L)	62,77±47,89	56,56±36,72	93,73±99,54	94,82±98,14	NZ	NZ
GGT (U/L)	2,38±1,14	1,89±1,20	3,18±1,08	1,36±2,38	NZ	NZ
ALP (U/L)	51,46±52,84	51,33±38,58	25±7,11	25,91±7,42	NZ	*
CK(U/L)	83,92±30,67	207,89±218,55	90,27±31,40	182,18±79,28	NZ	NZ
LDH (U/L)	49,08±19,88	75,11±28,29	32,27±10,83	76,27±37,20	*	NZ
Anorganski fosfat (mmol/L)	1,54±0,28	1,24±0,26	1,37±0,21	1,04±0,27	NZ	*
TAG (mmol/L)	0,99±0,46	0,94±0,46	1,12±0,64	0,96±0,46	NZ	*
Ukupni kolesterol (mmol/L)	6,68±1,04	6,41±1,07	6,98±0,75	6,73±0,79	NZ	NZ
Mg (mmol/L)	0,84±0,06	0,76±0,07	0,82±0,06	0,75±0,08	NZ	NZ
Na (mmol/L)	151,17±4,09	150,18±3,03	151,82±5,36	151,91±4,01	NZ	NZ
K (mmol/L)	4,84±0,31	4,51±0,42	4,65±0,27	4,33±0,38	NZ	NZ

<sup>1</sup>SV, srednja vrijednost ± SD, standardna devijacija, NZ, nije utvrđena statistički značajna razlika  $p > 0,05$ ; \* Statistička značajnost na razini  $p < 0,05$ ; \*\* statistička značajnost na razini  $p < 0,01$ ; \*\*\* statistička značajnost na razini  $p < 0,001$ . PRESS 1, parametri utvrđeni prije treninga za skupinu pasa hranjenu prešanom hranom; PRESS 2, parametri utvrđeni nakon treninga za skupinu pasa hranjenu prešanom hranom; BARF 1, parametri utvrđeni prije treninga za skupinu pasa hranjenu obrokom na osnovi sirovog mesa; BARF 2, parametri utvrđeni nakon treninga za skupinu pasa hranjenu obrokom na osnovi sirovog mesa.

Usporedbom rezultata unutar skupine PRESS prije i nakon treninga opaženo je kako se razlika u koncentracijama laktata ( $p=0,4345$ ), glukoze ( $p=0,5786$ ), ureje ( $p=0,3563$ ) i kreatinina ( $p=0,1806$ ) u serumu prije, u odnosu na onu poslije treninga, nije statistički značajno razlikovala. Koncentracije ukupnih proteina ( $p=0,6295$ ) i albumina ( $p=0,1039$ ) poslije treninga također nisu bile statistički značajno različite u usporedbi sa koncentracijom utvrđenom prije treninga. Aktivnosti enzima, ALT ( $p=0,5249$ ), GGT ( $p=0,5117$ ), ALP ( $p=0,6704$ ) bile su povišene nakon

treninga, međutim bez statistički značajne razlike u odnosu na mjerenje prije treninga ( $p > 0,05$ ). Naprotiv, aktivnost enzima AST bila je značajno viša poslije treninga u odnosu na prije ( $p = 0,0001$ ), što je bio slučaj i s enzimima CK ( $p = 0,0002$ ) i LDH ( $p = 0,0024$ ). Mjerenjem anorganskog fosfata ( $p = 0,2904$ ) nije se uočila statistički značajna razlika u dobivenim rezultatima prije i poslije treninga, dok se koncentracija Mg u krvi značajno smanjila ( $p = 0,0066$ ). Razlika u koncentracijama TAG ( $p = 0,0923$ ) nije bila statistički značajna ( $p > 0,05$ ) za razliku od koncentracije ukupnog kolesterola koja je bila značajno manja poslije treninga ( $p = 0,0408$ ). Razlika u koncentraciji Na ( $p = 0,3052$ ) i K ( $p = 0,0853$ ) u serumu prije treninga nije bila statistički značajna ( $p > 0,05$ ) u odnosu na onu poslije treninga. Rezultati mjerenja u pasa BARF skupine ukazali su na sljedeće razlike unutar skupine prije i nakon treninga: koncentracije laktata ( $p = 0,0538$ ) i glukoze ( $p = 0,7469$ ) poslije treninga nisu bile statistički značajno različite u odnosu na one prije treninga. Koncentracija ureje se značajno povisila u odnosu na onu mjerenu prije treninga ( $p = 0,0368$ ), kao i vrijednost kreatinina ( $p = 0,0003$ ). Za koncentracije albumina ( $p = 0,2111$ ) i ukupnih proteina ( $p = 0,2692$ ) nije utvrđena statistički značajna razlika prije u usporedbi s mjerenjem poslije treninga ( $p > 0,05$ ). Aktivnosti enzima ALT ( $p = 0,5762$ ) i ALP ( $p = 0,1445$ ) prije i poslije treninga nisu se značajno razlikovale, dok se aktivnost enzima AST značajno povisila ( $p = 0,004$ ) za razliku od enzima GGT čija se aktivnost značajno snizila poslije treninga ( $p = 0,0078$ ). Utvrđena je značajno povišena aktivnost enzima CK poslije treninga ( $p = 0,0098$ ) u odnosu na aktivnost prije treninga, kao i statistički značajan porast aktivnosti LDH ( $p = 0,0049$ ). Značajno smanjenje koncentracije nakon treninga utvrđeno je za anorganski fosfat ( $p = 0,0041$ ) i magnezij ( $p = 0,0045$ ). Za razliku od TAG ( $p = 0,2949$ ), statistički značajno smanjenje koncentracije ukupnog kolesterola opaženo je mjerenjem nakon treninga ( $p = 0,0481$ ). Kao i u prethodnoj skupini, nije ustanovljena statistički značajna razlika u serumskim koncentracijama K ( $p = 0,2907$ ) i Na ( $p = 0,0572$ ) (Slika 1.).





**Slika 1.** Grafički prikaz usporedbe odabranih biokemijskih pokazatelja unutar skupina pasa hranjenih prešanom hranom (PRESS) prije i nakon treninga i hranom na osnovi sirovog mesa (BARF) prije i nakon treninga. 1 – prije treninga, 2 – nakon treninga; \* statistička značajnost na razini  $p < 0,05$ ; \*\* statistička značajnost na razini  $p < 0,01$ ; \*\*\* statistička značajnost na razini  $p < 0,001$ .

## 5. Rasprava

Preporuka zastupljenosti pojedinih makronutrijenata u obroku radnih pasa predmet je rasprave unutar veterinarske struke i nerijetko predmet istraživanja (KRONFELD, 1973.; KRONFELD i sur., 1977). Rad pasa nije istovjetan i uvelike se razlikuje u intenzitetu i trajanju, stoga se rezultati istraživanja provedenih na psima za vuču saonica, psima koji sudjeluju u trkama ili radnim potražnim psima moraju s oprezom uspoređivati (HILL i sur., 2009a.). Nadalje, rad potražnih pasa specifičan je jer obuhvaća izmjenu aktivnosti visokog i niskog intenziteta u skladu sa izmjenom profila terena, svrhe same vježbe i/ili potražne akcije te ih je vrlo teško standardizirati (HUNTINGFORD i sur., 2014.). Upravo iz navedenih razloga, provedena istraživanja ukazala su na značajnu varijabilnost unutar razine mišićnog oštećenja koji ovise o intenzitetu rada (BURR i sur., 1997.; WAKSHLAG i sur., 2010.). Također, ograničen je broj provedenih istraživanja u terenskim uvjetima upravo na potražnim psima (SPOO i sur., 2015.). Prema našim saznanjima do danas nije provedeno istraživanja koje je uključivalo praćenje hranidbenog tretmana na metabolizam potražnih pasa.

Udio pojedinog makronutrijenta u obroku kao dominantnog izvora energije, uvjetovan je duljinom i intenzitetom rada uz prilagodbu nutritivnom statusu jedinke. Potražni psi pretežno provode aktivnost duljeg trajanja no srednjeg do niskog intenziteta stoga pretežno koriste aerobni proces mišićnog rada za razliku od pasa koji se koriste za utrke poput trkaćih hrtova (GRANDJEAN i PARAGON, 1992.; BURGER, 1994.). Stoga, kao izvor energijskog supstrata pretežno koriste slobodne masne kiseline u procesu oksidacije kako bi formirali ATP (TOLL i REYNOLDS, 2000.). Također, poglavito u trenucima rada višeg intenziteta psi se koriste anaerobnim procesima oksidacije glukoze iz glikogena kao izvorom energije. Stoga je upravo razina glukoze u krvi pokazatelj postoji li i u kojoj mjeri potreba za ugljikohidratnim izvorom energije u obroku kod potražnih pasa. Razina glukoze u provedenom istraživanju nije se razlikovala između pokusnih skupina uspoređenih prije i nakon treninga. Također, razina glukoze kod oba hranidbena režima ostala je unutar fiziološkog raspona i nakon rada. Sposobnosti pasa da održe glukozu na stabilnoj razini pomoću mehanizama glukoneogeneze i glikogenolize te se na taj način prilagode energetsom supstratu sukladna je provedenim istraživanjima te se smatra da je potreba za ugljikohidratima u prehrani pasa približno jednaka

nuli, pod uvjetom da je zadovoljen glukoneogenetski kapacitet u vidu aminokiselina i glicerola (HAMMEL i sur., 1977.; KRONFELD i sur., 1977; BURGER, 1993.).

Anaerobna glikoliza je proces djelomične anaerobne razgradnje glikogena, odnosno glukoze do laktata kod koje dolazi do akumulacije laktata u mišićje i pada pH koje će rezultirati pojavom boli ili umorom. Pri radu visokog intenziteta, akceleracija procesa anaerobne glikolize praćena je jednako brzom akumulacijom laktata u radnoj muskulaturi, odakle difundira u okolna tkiva i krv pa koncentracija laktata u krvi može ukazati na metabolički put koji se pretežno koristi tijekom aktivnosti. Ukoliko je koncentracija laktata u krvi visoka, energija za mišićni rad dobivena je pretežno u procesu anaerobne glikolize. Suprotno, niska koncentracija mliječne kiseline ukazuje na dominantan aerobni metabolizam (GUYTON i HALL, 2006). U provedenom istraživanju nije utvrđen porast razine laktata unutar skupina, PRESS i BARF, što ukazuje kako je dominantna aktivnost srednjeg do niskog intenziteta koja nije dovela do značajne akumulacije laktata u mišićju nakon rada uz dovoljno učinkovit sustav uklanjanja nastalog laktata. Naime, brzinu razgradnje laktata određuje oksidativni potencijal radne muskulature, broj mitohondrija, koncentracija oksidativnih enzima, ali i susjednih neaktivnih vlakana te prokrvljenost i gustoća kapilarne mreže (KELLEY i sur., 2002.). Laktat je pokazatelj glikolitičke aktivnosti skeletnog mišićja te je njegov porast u krvi povezan sa intenzitetom vježbe i kondicije jedinke (HUNTINGFORD i sur., 2014.). Također, kod ljudi je utvrđeno kako sportaši imaju nižu razinu laktata u mirovanju u usporedbi sa osobama koji nisu u treningu (FACEY i sur., 2014.). Psi skupine BARF imali su značajno manju koncentraciju laktata u mirovanju od pasa PRESS skupine no, nakon treninga nije utvrđena razlika između skupina. Naime, iako do sada nije utvrđeno da hranidbeni režim utječe na bazalnu razinu laktata, navedenu razliku možemo objasniti i mogućim utjecajem postupka vađenja krvi koji će kod pojedinih pasa izazvati stres te time dovesti do lučenja adrenalina koji će umanjiti sposobnost uklanjanja laktata iz tkiva i posljedično tomu dovesti do porasta koncentracije (GJEDSTED i sur., 2011.).

Amonijak se nakuplja u organizmu kao posljedica katabolizma aminokiselina stoga ga sisavci kroz ciklusa ureje, putem kojeg se sintetizira urea, neškodljivo eliminiraju iz organizma urinom smanjujući na taj način koncentraciju amonijaka u krvi i vanstaničnom prostoru. U pasa skupine BARF, razina ureje bila je povišena nakon treninga u odnosu na vrijednost izmjerenu prije treninga. Također, razina ureje nakon treninga bila je povišena u BARF skupini u usporedbi

sa PRESS skupinom. Navedeno je sukladno sa dosadašnjim istraživanjima gdje je utvrđen porast razine ureje u serumu kod pasa sa povećanim unosom proteina u prehrani (KRONFELD i sur., 1977.). Također, značajno je kako navedena razlika nije zabilježena prije treninga između promatranih skupina što ukazuje na prolazni porast zbog znatno višeg udjela bjelančevina u obroku BARF skupine i posljedično dominantnog glukoneogenetskog izvora glukoze u organizmu. Dodatno, utvrđeno je kako fizički napori i vježba potiču razinu glomerularne filtracije, te psi stoga postaju tolerantniji na povećani unos proteina tijekom intenzivnog treninga (KRONFELD i sur., 1977.).

Kreatin u organizmu životinje nastaje endogenom sintezom no može se apsorbirati i iz hrane. Razina kreatina u obroku razlikuje se sukladno termičkoj obradi pri čemu je značajno niža u termički obrađenoj hrani u usporedbi sa sirovim mesom (HARRIS i sur., 1995.). Stoga se može zaključiti da će najveću zalihu kreatina imati psi hranjeni neprerađenom hranom s većim udjelom mišićnih proteina (DOBENECKER i BRAUN, 2015.). Prosječno 20 do 65% kreatina transformira se u kreatinin kuhanjem (HARRIS i sur., 1995.) Stoga je veći udio kreatinina u serumu PRESS skupine pasa prije treninga u usporedbi sa BARF skupinom, očekivan. Naime, kreatinin, kao razgradni produkt kreatina, u hrani nastaje razgradnjom kreatina u prisutnosti vlage, sniženog pH i povišene temperature (EDGAR i SHIVER, 1925.; PISCHEL i GASTNER, 2007.). Također, kreatin u fosforiliranom obliku kao kreatin-fosfat glavni je izvor fosforilnih skupina za sintezu ATP-a koja je potrebna za regeneriranje razine ATP-a prilikom mišićnog rada (WYSS i KADDURAH-DAOUK 2000.). Kreatin se, također, sintetizira u organizmu iz aminokiselina arginina i glicina u procesu transaminacije putem metionina (WYSS i KADDURAH-DAOUK 2000.). Nalaz povišene razine kreatinina unutar pasa skupine BARF nakon treninga moguće je objasniti kroz pojačani mišićni napor i rabdomiolizu koji će dovesti do porasta razine kreatinina nakon rada (OH, 1993.). No niske bazalne vrijednosti prije treninga u BARF skupini ukazuju da se radi o prolaznom porastu.

Proteini u obroku ključni su za održavanje integriteta mišićja i održavanje homeostaze optimalnih koncentracija ukupnih proteina, albumina i hematokrita. Tijekom rada visokog intenziteta kod pasa je zabilježen pad hematokrita i albumina što ukazuje na izuzetan napor (KRONFELD i sur., 1989.; WAKSHLAG i sur., 2010.). Usporedbom koncentracija ukupnih proteina i albumina u našem istraživanju nije utvrđena značajna razlika između ni unutar

promatranih skupina što ukazuje kako intenzitet rada nije doveo do posljedica poput dehidracije i ekstravazacije opisanih kod trkaćih hrtova i pasa za vuču saonica tijekom aktivnosti visokog intenziteta (ILKIW i sur., 1989.; BURR i sur., 1997.).

Analizom rezultata mjerenja anorganskog fosfata prije i nakon treninga u pasa BARF skupine utvrđen je pad koncentracije anorganskog fosfata nakon treninga. Općenito se blaži pad smatra uobičajenim jer prikazuje težnju negativnih iona da prelaze u unutrašnjost stanice zbog respiratorne alkalozije i dodatno, povećana potrošnja glukoze u skeletnom mišiću zahtjeva više unutar staničnog fosfora (HUNTINGFORD i sur., 2014.). Prilikom usporedbe koncentracije anorganskog fosfora nakon treninga u pasa BARF i PRESS skupine, opažena je veća koncentracija u pasa PRESS skupine. Navedenu razliku možemo objasniti činjenicom da se prilikom prerade nusproizvoda životinjskog podrijetla uobičajeno koriste fosfati kao aditivi i stabilizatori koji se iz probavnog sustava apsorbiraju u slobodnom obliku za razliku od organskog fosfora prisutnog u mesu i ostalim proizvodima životinjskog podrijetla. Naime, fosfati i polifosfati su najčešće korišteni funkcionalni aditivi u mesnoj industriji gdje se koriste za vezanje vode, poboljšanje teksture i stabilizaciju proizvoda stoga je nalaz više koncentracije anorganskog fosfora u PRESS skupini očekivan (RITZ i sur., 2012.).

Kod pasa tijekom rada očekivano je da će doći do zagrijavanja organizma što će rezultirati potrebom za oslobađanjem topline. Psi se pri tome ne oslanjaju na znojenje nego toplinu oslobađaju isparavanjem preko dišnog sustava, dahtanjem. Gubitci elektrolita preko dahtanja su minimalni, stoga najčešće neće biti vidljivih promjena koncentracije elektrolita potencijalno uzrokovanih treningom (BLATT i sur., 1972.). U provedenom istraživanju također nije utvrđena značajna promjena u razini elektrolita Na i K, prije ni nakon treninga te hranjenjem različitim prehranbenim režimima. Ipak, zabilježeni su slučajevi kada je pojačana tjelesna aktivnost kod pasa dovela do promjena u bazalnoj koncentraciji elektrolita: Na, K i klorida (KNOCHEL i sur., 1985.; MATWICHUK i sur., 1999.). Navedeno se može pripisati blagoj dehidraciji i međustaničnoj izmjeni iona (ILKIW i sur., 1989.; BURR i sur., 1997.). Nasuprot tomu, koncentracija Mg u obje promatrane skupine pasa značajno se smanjila nakon treninga. Uobičajeno je da nakon treninga dolazi do povećane unutarstanične potražnje za magnezijem i fosforom kao kofaktorima za metaboličke procese u skeletnom mišiću, posebno cijepanje glikogena u glukozu-1-fosfat. Budući je fosforilacija metabolita glukoze potrebna za glikolizu i



stanično signaliziranje tijekom katabolizma, očekivano je da će koncentracija Mg biti snižena nakon treninga (DAVENPORT i sur., 2001.; HUNTINGFORD i sur., 2014.).

Kao posljedica preopterećenja antioksidacijskog mehanizma uslijed velikog napora dolazi do oštećenja mišića. Najčešće korišten biljeg za utvrđivanje mišićnog oštećenja je enzim CK (PIERCY i sur., 2000.). U provedenom istraživanju utvrđena je značajno povišena serumska aktivnost CK unutar obje skupine nakon treninga. Osim kod oštećenja mišića, do porasta aktivnosti u krvotoku može doći zbog odgovora živčanog sustava i adrenalnih žlijezdi na stres te kod velikog opterećenja mišića (ULRICH, 1960.; VALENTINE i sur., 1990.). Također, u provedenom istraživanju utvrđen je značajan porast aktivnost enzima AST u obje skupine nakon treninga. Enzim AST se nalazi u jetri, eritrocitima i svim vrstama mišića no, unatoč tome što nije specifičan za oštećenje mišića kao CK, aktivnost mu može biti povišena, između ostalog, i pri oštećenju skeletnog mišićja i teškog napora (CENTER, 2007.). Rezultat našeg istraživanja sukladan je provedenim istraživanjima na psima za vuču saonica gdje je također utvrđen porast u aktivnosti enzima CK i AST u serumu nakon rada (HINCHCLIFF i sur., 1993.; BURR i sur., 1997.; MCKENZIE i sur., 2006.).

Aktivnost GGT-a značajno se smanjila u skupini BARF nakon treninga, no ne i u skupini PRESS. Navedeno se može objasniti kroz spoznaju kako je utvrđeno da je aktivnost GGT-a u serumu povezana sa razinom markera oksidativnog stresa čija razina raste tijekom rada i da igra značajnu ulogu u staničnom antioksidativnom sustavu (KARP i sur., 2001.; LEE i sur., 2004.).

Također, aktivnost enzima LDH je bila značajno povišena u obje skupine nakon treninga. LDH je enzim koji je prisutan u gotovo svim stanicama tijela. Povišenje njegove aktivnosti u krvi ukazuje na patologiju jetre te miozitis ili mišićnu traumu (MLINE i sur., 1987.; CENTER, 2007.). Povišena aktivnost LDH uz povišeni laktat povezana je sa korištenjem energetske supstrate anaerobnim putem (ROVIRA i sur., 2007.; BALTZER i sur., 2012.). Iako u provedenom istraživanju razina laktata nije bila značajno viša u obje skupine nakon treninga, nalaz povišene aktivnosti LDH ukazuje kako su psi koristili anaeroban metabolizam u svom radu. Aktivnost LDH izmjerena prije treninga bila je viša u pasa skupine PRESS u usporedbi sa BARF skupinom, no ne i nakon treninga. Kod ljudi porast aktivnosti LDH zabilježen je kod konzumacije neketogene dijeta za razliku od skupine hranjene ketogenom prehranom (visok udio masti i bjelančevina, nizak udio ugljikohidrata) (RHYU i sur., 2014.).

U provedenom istraživanju utvrđena je viša aktivnost ALP-a u serumu pasa PRESS skupine nakon treninga u usporedbi sa BARF skupinom. Naime, iako je ALP enzim aktivan u kostima, jetri, crijevima i posteljici i stoga odražava promjene u čitavom organizmu, njegova je uloga da sudjeluje u kemijskim reakcijama uklanjanja fosfatne skupine s različitih vrsta molekula. Sukladne rezultate utvrdili su i znanstvenici uspoređujući biokemijske parametre pasa hranjenih sirovom i termički obrađenom hranom (ANTURANIEMI i sur., 2016.). Trening pasa kod oba hranidbena režima nije imao utjecaj na razinu aktivnosti enzima ALP u serumu.

Premda neki autori navode da hrana bogata proteinima i mastima, a siromašna ugljikohidratima može štetno utjecati na metabolizam jetre i bubrega kod pasa, u ovom istraživanju nismo utvrdili navedene nepovoljne učinke takve hrane (PRICE, 1971.). Naime, aktivnost enzima, kao što su AST, ALT, ALP te GGT, koja bi mogla ukazivati na eventualno oštećenje jetre i/ili bubrega su ostale u referentnim vrijednostima (KLAASSEN, 2015.). Isto tako, izmjena reakcija anabolizma i katabolizma mišićnih bjelančevina uvjetovanog treningom dovest će do promjena u koncentracijama mnogih enzima uključenih u kompleksne reakcije metaboličkih ciklusa organizma te su stoga prolazne promjene u koncentracijama promatranih enzima očekivane (REYNOLDS i sur., 1999.).

S obzirom da na količinu ukupnog kolesterola u krvotoku utječe i prehrana, pretpostavka je da će njegova koncentracija biti viša u skupini hranjenoj hranom na osnovi sirovog mesa zbog velikog udjela masti i proteina (ABELL i sur., 1956.). No, između skupina PRESS i BARF nije utvrđena razlika u provedenom istraživanju. Dodatno, došlo je do značajnog pada u koncentraciji ukupnog kolesterola u obje skupine nakon treninga. Pad koncentracije ukupnog kolesterola može se objasniti ubrzanjem metabolizma pasa posljedično povećanoj fizičkoj aktivnosti (KRONFELD i sur. 1977.; PIERCY i sur., 2000.). Premda nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentracijama TAG-a između promatranih skupina, opažena je značajno viša koncentracija TAG-a u BARF skupini u usporedbi sa PRESS skupinom nakon treninga. Iz navedenog se može zaključiti kako je dostupnost masti kao energetskog supstrata, koji se pretežno koristi u metaboličkim putevima u radu niskog i srednjeg intenziteta u BARF skupini, veća.

## 6. Zaključci

1. Radni potražni psi posjeduju sposobnost održavanja glukoze na stabilnoj razini prilagodbom energetsom supstratu stoga je potreba za ugljikohidratima u obroku potražnih pasa približno jednaka nuli, pod uvjetom da je zadovoljen glukoneogenetski kapacitet.
2. Potražni psi HGSS-a rade na pretežno srednjem do niskom intenzitetu koristeći aerobne procese sinteze energije za mišićni rad pri čemu ne dolazi do značajnog porasta laktata nakon treninga.
3. Obrok na osnovi sirovog mesa dovest će do prolaznog porasta u koncentraciji ureje i kreatinina nakon treninga što ukazuje na opsežne procese glukoneogeneze i korištenja bjelančevina u metaboličkim procesima.
4. Bazalna razina kreatinina veća je kod pasa hranjenih termički obrađenom prešanom hranom u usporedbi sa sirovim obrokom.
5. Oba praćena hranidbena režima dostatna su za održavanje stabilne koncentracije ukupnih proteina i albumina tijekom rada potražnih pasa.
6. Razina anorganskog fosfata povezana je sa hranidbenim režimom i viša je pri hranidbi pasa termički obrađenom prešanom hranom.
7. Rad potražnih pasa nije ukazao na promjene u razini Na i K nakon treninga, ipak, utvrđen je pad razine Mg, pri čemu su promjene bile jednake u oba hranidbena režima.
8. Sukladno prethodnim istraživanjima potvrđen je porast biljega mišićnog oštećenja, CK, LDH i AST nakon rada potražnih pasa pri oba hranidbena režima.
9. Dostupnost masti kao energetsom supstrata veća je u pasa hranjenih obrokom na osnovi sirovog mesa na što upućuje veća koncentracija TAG-a nakon rada. Međutim, suprotno očekivanom, pad koncentracije kolesterola nakon vježbe zabilježen je u oba hranidbena režima.

## 7. Literatura

1. ABELL, L. L., E. MOSBACH, F. E. KENDALL (1956): Cholesterol metabolism in the dog. *J. Biol. Chem.* 220, 527-536.
2. AKTAS, M., D. AUGUSTE, H. LEFEBVRE, P. TOUTAIN, J. BRAUN (1993): Creatine kinase in the dog: a review. *Vet. Res. Commun.* 17, 353-369.
3. ANTURANIEMI, J., S. BARROUIN-MELO, S. ZALDÍVAR-LOPEZ, S. SANKARI, A. HIELM-BJÖRKMAN (2016): Blood biochemistry and haematology profiles between raw and dry food diet fed Staffordshire bull terriers. 20th Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition: 15 - 17 September, Berlin, Germany, str. 42.
4. ARMSTRONG, R., C. SAUBERT, H. SEEHERMAN, C. TAYLOR (1982): Distribution of fiber types in locomotory muscles of dogs. *Dev. Dyn.* 163, 87-98.
5. BALSOM, P. D., K. SÖDERLUND, B. EKBLÖM (1994): Creatine in humans with special reference to creatine supplementation. *Sports. Med.* 18, 268-280.
6. BALTZER, W. I., A. M. FIRSHMAN, B. STANG, J. J. WARNOCK, E. GORMAN, E. C. MCKENZIE (2012): The effect of agility exercise on eicosanoid excretion, oxidant status, and plasma lactate in dogs. *BMC Vet. Res.* 8,249-249.
7. BLATT, C. M., C. R. TAYLOR, M. HABAL (1972): Thermal panting in dogs: the lateral nasal gland, a source of water for evaporative cooling. *Science*, 177, 804-805.
8. BOKKEN, G., R. MINEUR, F. FRANSSEN, M. OPSTEEGH, L. LIPMAN, P. OVERGAAUW (2018): Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. *Vet. Rec.* 182, 50-50.
9. BURGER, I. (1993): *The Waltham book of Companion Animal nutrition*, Pergamon press limited, Oxford, UK.
10. BURGER, I. H. (1994): Energy needs of companion animals: matching food intakes to requirements throughout the life cycle. *J. Nutr.* 124, 2584S-2593S.
11. BURR, J. R., G. A. REINHART, R. A. SWENSON, S. E. SWAIM, D. M. VAUGHN, D. M. BRADLEY (1997): Serum biochemical values in sled dogs before and after competing in long-distance races. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 211, 175-179.

12. CENTER, S. A. (2007): Interpretation of liver enzymes. *Vet. Clin. Small. Anim. Pract.* 37, 297-333.
13. DAVENPORT, G. M., R. L. KELLEY, E. K. ALTOM, A. J. LEPINE (2001): Effect of diet on hunting performance of English Pointers. *Vet. Ther.* 2, 10-23.
14. DE BRUIJNE, J. J., W. E. VAN DEN BROM (1986): The effect of long-term fasting on ketone body metabolism in the dog. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 83, 91-395.
15. DOBENECKER, B., U. BRAUN (2015): Creatine and creatinine contents in different diet types for dogs—effects of source and processing. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 99, 1017-1024.
16. EDGAR, G., H. SHIVER (1925): The equilibrium between creatine and creatinine, in aqueous solution. The effect of hydrogen ion. *J. Am. Chem. Soc.* 47, 1179-1188.
17. FACEY, A., L. DILWORTH, R. IRVING (2014): Adipocytic Contribution to Lactate Production in Male Athletes of West African Descent. *New Studies in Athletics* 29, 57-64.
18. FREEMAN, L. M., M. L. CHANDLER, B. A. HAMPER, L. P. WEETH (2013): Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 243, 1549-1558.
19. GJEDSTED, J., M. BUHL, S. NIELSEN, O. SCHMITZ, E. T. VESTERGAARD, E. TONNESEN, N. MOLLER (2011): Effects of adrenaline on lactate, glucose, lipid and protein metabolism in the placebo controlled bilaterally perfused human leg. *Acta Physiol.* 202, 641-648.
20. GRANDJEAN, D., B. PARAGON (1992): Nutrition of racing and working dogs I. Energy metabolism of dogs. *Comp. Cont. Educ. Pract.* 14, 1608-1615.
21. GUNN, H. (1978): Differences in the histochemical properties of skeletal muscles of different breeds of horses and dogs. *J. Anat.* 127, 615.
22. GUYTON A.C., J.E. HALL (2006): *Medicinska fiziologija. Medicinska knjiga, Zagreb.*
23. HAMMEL, E. P., D. S. KRONFELD, V. K. GANJAM, H. L. DUNLAP, JR. (1977): Metabolic responses to exhaustive exercise in racing sled dogs fed diets containing medium, low, or zero carbohydrate. *Am. J. Clin. Nutr.* 30, 409-418.

24. HARRIS, R., J. LOWE (1995): Absorption of creatine from meat or other dietary sources by the dog. *Vet. rec.* 137, 595-595.
25. HILL, R. C. (1998): The nutritional requirements of exercising dogs. *J. Nutr.* 128, 2686-2690.
26. HILL, R., D. LEWIS, K. SCOTT, D. SUNDSTROM, J. BAUER (2009a): Oxidized dietary fat, alkaline phosphatase concentrations and performance in racing greyhounds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 93, 144-144.
27. HILL, S. R., K. J. RUTHERFURD-MARKWICK, G. RAVINDRAN, C. E. UGARTE, D. G. THOMAS (2009b): The effects of the proportions of dietary macronutrients on the digestibility, post-prandial endocrine responses and large intestinal fermentation of carbohydrate in working dogs. *N. Z. Vet. J.* 57, 313-318.
28. HINCHCLIFF, K., J. OLSON, C. CRUSBERG, J. KENYON (1993): Serum biochemical changes in dogs competing in a long-distance sled race. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202, 401-401.
29. HUNTINGFORD, J. L., C. B. LEVINE, D. J. MUSTACICH, D. CORRIGAN, R. L. DOWNEY, J. J. WAKSHLAG (2014): The effects of low intensity endurance activity on various physiological parameters and exercise induced oxidative stress in dogs. *Open. J. Vet. Med.* 4, 134.
30. ILKIW, J., P. DAVIS, D. CHURCH (1989): Hematologic, biochemical, blood-gas, and acid-base values in greyhounds before and after exercise. *Am. J. Vet. Res.* 50, 583-586.
31. KARP, D. R., K. SHIMOOKU, P. E. LIPSKY (2001): Expression of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase protects Ramos B cells from oxidation-induced cell death. *J. Biol. Chem.* 276, 3798-3804.
32. KELLEY, K. M., J. J. HAMANN, C. NAVARRE, L. B. GLADDEN (2002): Lactate metabolism in resting and contracting canine skeletal muscle with elevated lactate concentration. *J. Appl. Physiol.* 93, 865-872.
33. KLAASSEN, J. K. (2015): Reference Values in Veterinary Medicine. *Lab Medicine* 30, 194-197.
34. KNOCHEL, J. P., J. D. BLACHLEY, J. H. JOHNSON, N. W. CARTER (1985): Muscle cell electrical hyperpolarization and reduced exercise hyperkalemia in physically conditioned dogs. *J. Clin. Invest.* 75, 740-745.

35. KRONFELD, D. S. (1973): Diet and the performance of racing sled dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 162, 470-473.
36. KRONFELD, D. S., E. P. HAMMEL, C. F. RAMBERG, JR., H. L. DUNLAP, JR. (1977): Hematological and metabolic responses to training in racing sled dogs fed diets containing medium, low, or zero carbohydrate. *Am. J. Clin. Nutr.* 30, 419-430.
37. KRONFELD, D. S., T. O. ADKINS, R. L. DOWNEY (1989): Nutrition, anaerobic and aerobic exercise and stress. U: *Nutrition of dog and cat.* (Burger, I. H., J. P. Rivers, Ur.), Cambridge University Press, Cambridge, UK, str. 133–145.
38. LEE, D.-H., R. BLOMHOFF, D. R. JACOBS (2004): Review is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress? *Free Rad. Res.* 38, 535-539.
39. MATWICHUK, C. L., S. M. TAYLOR, C. L. SHMON, P. H. KASS, G. D. SHELTON (1999): Changes in rectal temperature and hematologic, biochemical, blood gas, and acid-base values in healthy Labrador Retrievers before and after strenuous exercise. *Am. J. Vet. Res.* 60, 88-92.
40. MCCORD, J. M., I. FRIDOVICH (1969): Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244, 6049-6055.
41. MCGOWAN, C., B. HAMPSON (2007): Comparative exercise physiology. U: *Animal Physiotherapy: Assessment, Treatment and Rehabilitation of Animals* (McGowan C., L.Goff, N. Stubbs, Ur.), Blackwell Publishing, Ames, IA, str. 56-72.
42. MCKENZIE E.C., E. JOSE-CUNILLERAS, K.W. HINCHCLIFF, T.C. HOLBROOK, C.M. ROYER, M.E. PAYTON, K.K. WILLIAMSON, S.L. NELSON, M.D. WILLARD, M.S. DAVIS (2007): Serum chemistry alterations in Alaskan Sled Dogs during five successive days of prolonged endurance exercise. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230, 1486-1492.
43. MILLARD, R. (2013): Exercise physiology of the canine athlete. U: *Canine Rehabilitation and Physical Therapy.* (Millis, D., D. Levine, Ur.), Saunders Elsevier, St. Louis, str. 162-165.
44. MILNE, E., D. DOXEY (1987): Lactate dehydrogenase and its isoenzymes in the tissues and sera of clinically normal dogs. *Res. Vet. Sci.* 43, 222-224.

45. MORLEY, P. S., R. A. STROHMEYER, J. D. TANKSON, D. R. HYATT, D. A. DARGATZ, P. J. FEDORKA-CRAY (2006): Evaluation of the association between feeding raw meat and *Salmonella enterica* infections at a Greyhound breeding facility. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 228,1524-1532.
46. NRC (2006): Chapter 15: Nutrient requirements and dietary nutrient concentrations. U: Nutrient requirements of dogs and cats. National Academies Press, Washington, DC, USA, str. 354-370.
47. OH, M. S. (1993): Does serum creatinine rise faster in rhabdomyolysis? *Nephron* 63, 255-257.
48. PICCIONE, G., S. CASELLA, M. PANZERA, C. GIANNETTO, F. FAZIO (2012): Effect of moderate treadmill exercise on some physiological parameters in untrained beagle dogs. *Exp. Anim.* 61, 511-515.
49. PIERCY, R. J., K. W. HINCHCLIFF, R. A. DISILVESTRO, G. A. REINHART, C. R. BASKIN, M. G. HAYEK, J. R. BURR, R. A. SWENSON (2000): Effect of dietary supplements containing antioxidants on attenuation of muscle damage in exercising sled dogs. *Am. J. Vet. Res.* 61, 1438-1445.
50. PISCHEL, I., T. GASTNER (2007): Creatine - its chemical synthesis, chemistry, and legal status. *Subcell. Biochem.* 46, 291–307.
51. PRICE, D. (1971): All meat dog food problem not resolved. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 159, 952-954.
52. REYNOLDS, A., G. REINHART, D. CAREY, D. SIMMERMAN, D. FRANK, F. KALLFELZ (1999): Effect of protein intake during training on biochemical and performance variables in sled dogs. *Am. J. Vet. Res.* 60, 789-795.
53. RHYU, H.-S., S.-Y. CHO, H.-T. ROH (2014): The effects of ketogenic diet on oxidative stress and antioxidative capacity markers of Taekwondo athletes. *J. Exerc. Rehabil.* 10, 362-366.
54. RITZ, E., K. HAHN, M. KETTELER, M. K. KUHLMANN, J. MANN (2012): Phosphate Additives in Food—a Health Risk. *Dtsch. Arztebl. Int.* 109, 49-55.
55. ROVIRA, S., A. MUNOZ, M. BENITO (2007): Hematologic and biochemical changes during canine agility competitions. *Vet. Clin. Path.* 36, 30-35.



56. ROVIRA, S., A. MUNOZ, M. BENITO (2008): Effect of exercise on physiological, blood and endocrine parameters in search and rescue-trained dogs. *Vet. Med.* 53, 333-346.
57. SEN, C. K. (1995): Oxidants and antioxidants in exercise. *J. Appl. Physiol.* 79, 675-686.
58. SPOO, J. W., D. L. ZORAN, R. L. DOWNEY, K. BISCHOFF, J. J. WAKSHLAG (2015): Serum biochemical, blood gas and antioxidant status in search and rescue dogs before and after simulated fieldwork. *Vet. J.* 206, 47-53.
59. TOLL, P.W., A. J. REYNOLDS (2000): The canine athlete. U: *Small Animal Clinical Nutrition* (Hand, M. S., C. D. Thatcher, R. L. Remillard, P. Roudebush, L. L. Lewis, Ur.), Mark Morris Associates, Kansas, str. 261–289.
60. ULRICH, C. (1960): Stress and sport. U: *Science and Medicine of Exercise and Sports* (Johnson, W. R., Urednik). Harper, New York, str. 251.
61. VALENTINE, B. A., J. T. BLUE, S. M. SHELLEY, B. J. COOPER (1990): Increased serum alanine aminotransferase activity associated with muscle necrosis in the dog. *J. Vet. Intern. Med.* 4, 140-143.
62. VON DUVILLARD, S. P., P. J. ARCIERO, T. TIETJEN-SMITH, K. ALFORD (2008): Sports drinks, exercise training, and competition. *Curr. Sports. Med. Rep.* 7, 202-208.
63. WAKSHLAG, J. J., T. STOKOL, S. M. GESKE, C. E. GREGER, C. T. ANGLE, R. L. GILLETTE (2010): Evaluation of exercise-induced changes in concentrations of C-reactive protein and serum biochemical values in sled dogs completing a long-distance endurance race. *Am. J. Vet. Res.* 71, 1207-1213.
64. WAKSHLAG, J., J. SHMALBERG (2014): Nutrition for working and service dogs. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 44, 719-740.
65. WALLIMANN, T., M. WYSS, D. BRDICZKA, K. NICOLAY, H. EPPENBERGER (1992): Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem. J.* 281, 21.
66. WYSS, M., R. KADDURAH-DAOUK (2000): Creatine and Creatinine Metabolism. *Physiol. Rev.* 80, 1107-1213.

## 8. Sažetak

### **Promjene biokemijskih pokazatelja u krvi tijekom treninga potražnih pasa uključenih u različite hranidbene režime: obrok na osnovi sirovog mesa i termički obrađena prešana hrana**

Cilj provedenog istraživanja bio je utvrditi promjene u biokemijskim pokazateljima u serumu pasa Hrvatske gorske službe spašavanja uključenih u različite hranidbene režime tijekom rada. Istraživanje je obuhvatilo 12 zdravih pasa ( $3.57 \pm 1.81$ ) koji su podijeljeni u dvije skupine: prešana hrana (PRESS skupina) i obrok na osnovi sirovog mesa (BARF skupina). Hrane su se razlikovale po načinu prerade te po sastavu makronutrijenata: hrana na osnovi sirovog mesa u suhoj tvari sadržavala je bjelančevine, masti i ugljikohidrate u omjeru od: 45,2:32,2:5,5, a prešana hrana: 27,5:18,7:42,8. Uzorkovanje je vršeno jednom mjesečno u razdoblju od 4 mjeseca, dvaput na dan, prije i poslije radnog treninga Komisije za potrage i lavine HGSS-a.

Usporedbom rezultata prije i nakon treninga između skupina te unutar njih, utvrđeno je kako na razinu glukoze nije utjecao hranidbeni režim te je ostala u referentnom rasponu i nakon rada. Razina laktata unutar skupina se nije razlikovala nakon treninga, dok je u skupini BARF utvrđena niža razina bazalnog laktata u usporedbi sa PRESS. U BARF skupini utvrđen je prolazni porast u koncentraciji ureje i kreatinina, kao i pad anorganskog fosfata nakon treninga, dočim je u PRESS skupini utvrđena značajno viša bazalna razina kreatinina i razina anorganskog fosfata nakon treninga. Usporedbom rezultata unutar obje skupine utvrđen je značajan porast u enzimskoj aktivnosti CK, LDH i AST te značajan pad u koncentraciji ukupnog kolesterola i Mg nakon treninga. Nakon treninga, u BARF skupini utvrđen je porast u razini TAG u usporedbi sa PRESS skupinom.

Provedeno istraživanje ukazuje na različit metabolički odgovor pasa na obrok u čijem su sastavu različito zastupljeni makronutrijenti, također vidljive su promjene u biokemijskim pokazateljima kao odgovor na različit proces proizvodnje, poglavito kod razine anorganskog fosfata i kreatinina. Stabilna razina glukoze u krvi nakon dugotrajnog treninga ukazuje na opsežnu prilagodbu metabolizma dostupnom izvoru energije iz praćenih hranidbenih režima. Stoga se kod radnih potražnih pasa povećana sposobnost korištenja masti kao energetskog supstrata može smatrati prednošću. Biljezi mišićnog oštećenja ukazuju da aktivnost duljeg

trajanja i različitog intenziteta rezultira opsežnim fiziološkim procesima i višim energetske potrebama kod radnih potražnih pasa.

**Ključne riječi:** potražni psi, BARF, prešana hrana, biokemijski parametri, trening

## 9. Summary

### **Differences of blood biochemical parameters in search and rescue dogs during fieldwork included in different feeding regimes: raw meat based diet and processed pressed dog food**

The aim of the study was to evaluate the changes in serum biochemistry values in Croatian Mountain Rescue Service dogs included in two different feeding regimes during stimulated fieldwork. There were 12 healthy dogs (age  $3.57 \pm 1.81$ ) included in the study, divided into two groups: pressed dog food (PRESS group) and raw meat-based diet (BARF group). The diets differed in macronutrients level: on a dry matter basis BARF diet consisted of protein, fat, and carbohydrate in the following proportions: 45.2:32.2:5.5 and kibble diet 27.5:18.7:42.8. During the period of 4 months, blood samples were obtained two times per month: baseline sample in the morning before feeding and the second one immediately after the fieldwork.

Results were compared between and within the two groups had shown that pre and post-exercise glucose level was not affected by the type of diet and remained within the reference range. Post-exercise serum levels of lactate within the groups did not differ significantly. Nevertheless, the basal level of lactate was significantly lower in BARF versus PRESS group. The transitory rise in urea and creatinine levels post exercise as well as lower level of inorganic phosphorus was noted in the BARF group, whereas higher basal levels of creatinine and higher post workout levels of inorganic phosphorus were measured in PRESS group. Results within both groups showed higher activity of CK, LDH and AST in both groups post-exercise, as well as lower levels of total cholesterol and Mg. Post-exercise level of TAG was higher in BARF group in comparison to PRESS group.

Conducted research reflects different metabolic response to feeding regimes with different macronutrient composition, as well as differences in biochemical parameters as response to processing procedure, especially visible through inorganic phosphate and creatinine level. Stable glucose level after strenuous fieldwork would indicate excessive metabolic adaptations to the main source of energy provided through observed feeding regimes. An increased ability to utilize fat should be considered an advantage in a dog subjected to prolonged fieldwork in which fatty acid oxidation is used as main energy source. Muscle damage indicators

suggest that long period of different intensity level workload in search and rescue dogs result in various physiological processes as well as overall increased muscle activity demands.

**Key words:** canine, search and rescue, BARF, pressed dog food, biochemical profile, exercise

## **10. Životopis**

Rođen sam 09.01.1991. u Pakracu, Republika Hrvatska. Završio sam češku osnovnu školu Jan Amos Komensky u Daruvaru te nakon toga srednju školu – opću gimnaziju u Daruvaru. Veterinarski fakultet u Zagrebu upisujem 2013. godine. Kroz cjelokupno školovanje sam stekao znanje češkog, engleskog i njemačkog jezika. Aktivno se služim češkim i engleskim jezikom. Od 2016. do 2018. godine sam radio kao demonstrator na Zavodu za stočarstvo a od 2018. godine demonstrator i volonter na Zavodu za rendgenologiju, ultrazvučnu dijagnostiku i fizikalnu terapiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Dvije godine sam bio aktivan član studentske udruge IVSA (International Veterinary Student Association). Sudjelovao sam na CEEPUS razmjeni “Lipizzaner Tour”, kojom sam se upoznao sa uzgojem konja lipicanaca u Republici Austriji te radom na Veterinarskom fakultetu u Beču. Aktivno sam sudjelovao u organizaciji 7. međunarodnog kongresa “Veterinarska znanost i struka” u 2017. godine, kao volonter i autor postera. Veliki sam zaljubljenik u prirodu, volim planinariti, trčati, vježbati, družiti se s prijateljima i voditi aktivan i ispunjen život.