

Sposób użytkowania, wiek oraz płeć jako czynniki wpływające na wskaźniki biochemiczne oraz oksydoredukcyjne krwi koni małopolskich

ANNA CZECH, MARTYNA KIESZ, KATARZYNA OGNIK, PAWEŁ RÓŻAŃSKI*

Katedra Biochemii i Toksykologii, *Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Otrzymano 05.01.2016

Zaakceptowano 05.04.2016

Czech A., Kiesz M., Ognik K., Różański P.

Influence of the manner of use, age and sex on the biochemical and antioxidant blood parameters of Malopolski horses

Summary

The aim of the study was to determine whether the manner of use, age and sex affect selected biochemical and antioxidant blood parameters of Malopolski horses, and whether there is an interaction between these factors. The study was conducted on 30 riding horses of the Malopolski breed divided by sex (18 mares and 12 colts) and age (2-6 years, 7-9 years and 10-16 years). The horses were also divided according to usage (recreational use and sports use). The research was conducted at the end of March and the beginning of April during two consecutive years. In each year, blood from the same horses was analysed. Blood plasma was analyzed for total protein, glucose, bilirubin, urea, uric acid, creatinine, Zn^{+2} , Cu^{+2} and Fe^{+2} . In addition the activities of superoxide dismutase, catalase, plasma total antioxidant status (FRAP) and the concentration of malondialdehyde were determined. Neither the age of the horses nor their use (for recreation or sport) had significant effect on biochemical indices of blood. However, the CAT activity and the levels of MDA, zinc and iron were higher in the blood of horses used for sports than they were in the blood of horses used for recreation. Age affected the value of the biomarkers of redox status. Compared with young horses, older animals showed increased oxidative processes (an increase in MDA) and a reduced antioxidant defense (SOD, FRAP, Cu^{+2} , Zn^{+2}). The sex of the horses had a significant influence on the levels of both biochemical and antioxidant parameters. Colts had significantly higher contents of TP, UA, SOD, CAT, Cu^{+2} and Fe^{+2} and lower of BIL and MDA compared to mares. The interaction observed in this study between age or sex and usage on the antioxidant parameters confirms that the redox status indicators can be helpful in assessing the welfare of Malopolski horses undergoing differentiated exertion.

Keywords: horses, blood, redox, sex, age, manner of use

Do oceny kondycji zdrowotnej koni zwłaszcza poddawanych systematycznym treningom wykorzystywane są wskaźniki hematologiczne i biochemiczne krwi (22). Z danych zawartych w literaturze wynika, że w ostatnim czasie do tej oceny wykorzystywane są także markery statusu oksydoredukcyjnego (2, 6, 16, 25). Wskaźniki te dają pewien obraz procesów, jakie zachodzą w organizmie i mogą wskazywać na stopień wytrenowania konia. Intensywnie trenowane wierzchowce często są narażone na wyczerpujący wysiłek, podczas którego następuje wysokie zużycie tlenu, powodujące nadmierne wytwarzanie reaktywnych form tego pierwiastka (Reaktywne Formy Tlenu – RFT). Głównym źródłem RFT generowanych w trakcie ćwiczeń są mitochondria (łańcuch oddechowy). Do zwiększenia uwalniania

RFT przyczyniają się również aktywowane fagocyty (wybuch tlenowy) i enzymy z grupy oksydaz (14, 22). Przyjmuje się, że wśród zwierząt koń ma unikalną zdolność nawet do 60-krotnie większego poboru tlenu podczas wykonywania ciężkich ćwiczeń. Jest to związane z fizjologicznym dostosowaniem się wszystkich ogniwo łańcucha oddechowego, a także z 30-krotnym wzrostem wentylacji płuc (3). Zjawisko to może przyczynić się do zaburzeń strukturalnych i czynnościowych na poziomie komórkowym. Wysokie zużycie tlenu zwiększa ryzyko stresu oksydacyjnego, który występuje, gdy w organizmie przeważają reakcje oksydacyjne (generujące powstawanie RFT) nad antyoksydacyjnymi (hamujące powstawanie RFT). Pomimo iż organizm wytworzył dobrze funkcjonujące mechanizmy kom-

pensacyjne związane z metabolizmem tlenu (15, 23), często nie są one wystarczające w przypadku indukcji RFT.

Według Góreckiej i wsp. (9, 10), na wartość wskaźników statusu redox wpływa nie tylko wysiłek fizyczny (sposób użytkowania), ale również wiele innych czynników, tj.: rasa, wiek, płeć czy żywienie. W piśmiennictwie niewiele jest informacji dotyczących zależności pomiędzy tymi czynnikami. W związku z tym celem badań było określenie wpływu sposobu użytkowania, wieku oraz płci na poziom wybranych wskaźników biochemicznych i oksydoredukcyjnych krwi koni małopolskich oraz interakcji pomiędzy badanymi czynnikami.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w gospodarstwie południowo-wschodniej Polski. Do badań wybrano 30 koni wierzchowych, rasy małopolskiej. Badaną grupę stanowiło 18 klaczy i 12 ogierów. Konie podzielono na trzy grupy wiekowe. Pierwsza grupa stanowiła 10 wierzchowców od 2 do 6 lat (6 klaczy i 4 ogiery), druga 10 koni od 7 do 9 lat (6 klaczy i 4 ogiery) i trzecia to 10 najstarszych zwierząt w wieku od 10 do 16 lat (6 klaczy i 4 ogiery). Konie podzielono także pod względem sposobu użytkowania, tj. 15 koni (10 klaczy i 5 ogierów) użytkowanych było rekreacyjnie i 15 koni użytkowanych sportowo (8 klaczy i 7 ogierów). Konie użytkowane rekreacyjnie 3-4 razy w tygodniu wykorzystywane były przede wszystkim do jazdy terenowej, trwającej około 1-2 godziny dziennie. Konie użytkowane sportowo to konie biorące czynny udział w zawodach w konkurencji skoków przez przeszkody. Konie sportowe w czasie, w którym pobierano krew były w okresie przygotowawczym (trwającym już około 60 dni). Przed rozpoczęciem sezonu startowego konie intensywnie trenowały 6 razy w tygodniu przez około 1 godzinę dziennie. Wszystkie konie były klinicznie zdrowe, utrzymywane w jednakowych, bardzo dobrych warunkach zoohigienicznych. Żywienie oparte było na paszach pochodzenia lokalnego: owsie, zielonce (siano), słomie, pszenicy, z uwzględnieniem średniej dawki pokarmowej dla tego gatunku zwierząt i zgodnie z Normami Żywienia Koni (21).

Badania prowadzono na przełomie marca i kwietnia przez dwa kolejne lata. W każdym roku badań od tych samych koni z żyły zewnętrznej szyjnej pobrano krew do analiz. Każdorazowo krew pobrano w godzinach porannych przed pojeniem i pierwszym podaniem paszy. W osoczu krwi wykorzystując monostesty firmy Cormey spektrofotometrycznie, oznaczono zawartość wybranych wskaźników biochemicznych, tj.: białka ogólnego (TP), glukozy (GLU), bilirubiny (BIL), mocznika (UREA), kwasu moczowego (UA), kreatyniny (CREAT). Dodatkowo w osoczu krwi oznaczono również zawartość cynku, miedzi oraz żelaza, stosując monostesty firmy BioMaxima.

W osoczu krwi koni spektrofotometrycznie oznaczono enzymy antyoksydacyjne. Dysmutazę ponadtlenkową (SOD) – metodą adrenalinową (11) w modyfikacji dla długości 320 nm. Oznaczono również aktywność katalazy (CAT) (11). W zakresie wskaźników układu antyoksydacyjnego oznaczono także całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza (FRAP) według Benzie i Strain (5). W osoczu krwi zwierząt badano również poziom produktów peroksydacji lipidów, tj.: stężenie dialdehydu malonowego (MDA) jako

końcowego produktu utleniania lipidów tkankowych według Ledwożywa i wsp. (17).

Analiza statystyczna. Uzyskane dane liczbowe poddano analizie wariancji (ANOVA) według modelu:

$$y_{ijkl} = \mu + w_i + p_j + s_k + (w*p)_{ij} + (w*s)_{ik} + (p*s)_{jk} + e_{ijkl}$$

gdzie:

μ – stała wartość,

w_i – wpływ i-tego wieku na wartość zmiennej objaśnianej dla $i = I$ (2-6 lat), II (7-9 lat), III (10-16 lat),

p_j – wpływ j-tej płci na wartość zmiennej objaśnianej dla $j = K$ (klacze), O (ogiery)

s_k – wpływ k-tego systemu użytkowania na wartość zmiennej objaśnianej dla $k = R$ (rekreacyjny), S (sportowy)

e_{ijkl} – czynnik losowy, z założenia o rozkładzie $N(0,1)$.

Istotność różnic między średnimi wartościami analizowanych cech wyznaczono testem Tukeya.

Wyniki i omówienie

W badaniach własnych nie odnotowano istotnego wpływu wieku (tab. 1) oraz sposobu użytkowania koni (tab. 2) na zawartość TP, GLU, BIL, UA, CREAT w osoczu krwi. Poziom TP i UA we krwi ogierów był istotnie wyższy, odpowiednio, o około 21% i 12% w porównaniu do zawartości tych wskaźników, jakie odnotowano we krwi klaczy. Odwrotną zależność odnotowano w przypadku zawartości BIL (tab. 2).

W osoczu krwi koni z grupy wiekowej od 2 do 6 lat zanotowano istotnie wyższą aktywność SOD oraz zawartość FRAP w porównaniu do koni w wieku 7-9 lat i 10-16 lat w przypadku SOD oraz do grupy koni w wieku 10-16 lat w przypadku FRAP. Osocze krwi koni z grupy wiekowej od 7 do 9 lat charakteryzowało się istotnie wyższą zawartością miedzi i cynku (tab. 1). Zawartość MDA była istotnie wyższa w osoczu krwi

Tab. 1. Poziom wskaźników biochemicznych, antyoksydacyjnych oraz składników mineralnych krwi koni małopolskich w zależności od wieku

Badane parametry	Wiek (lata)			Poziom istotności
	I 2-6 n = 10	II 7-9 n = 10	III 10-16 n = 10	
TP (g l ⁻¹)	74,98	72,42	75,74	0,549
GLU (mmol l ⁻¹)	5,63	5,39	5,34	0,472
BIL (μmol l ⁻¹)	14,10	14,80	14,38	0,905
UREA (mmol l ⁻¹)	5,53 ^a	5,38 ^{ab}	5,03 ^b	0,048
UA (mmol l ⁻¹)	0,062	0,063	0,061	0,924
CREAT (μmol l ⁻¹)	113,8	116,2	121,1	0,823
SOD (U ml ⁻¹)	70,16 ^a	59,30 ^b	60,70 ^b	0,033
CAT (U ml ⁻¹)	0,964	0,901	0,892	0,964
MDA (μmol l ⁻¹)	0,24 ^{ab}	0,10 ^b	0,39 ^a	0,021
FRAP (μmol l ⁻¹)	833,5 ^a	756,3 ^{ab}	712,9 ^b	0,049
Cu ⁺² (μmol l ⁻¹)	13,93 ^b	16,03 ^a	13,75 ^b	0,026
Zn ⁺² (μmol l ⁻¹)	20,64 ^{ab}	22,74 ^a	18,85 ^b	0,050
Fe ⁺² (μmol l ⁻¹)	14,28	15,15	14,39	0,790

Objaśnienia: a, b – średnie w wierszu oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P \leq 0,05$

koni z grupy wiekowej od 10 do 16 lat. W osoczu krwi ogierów stwierdzono istotnie wyższą aktywność SOD, CAT, a także zawartością miedzi i żelaza w porównaniu do klaczy. Odwrotną zależność zanotowano w przypadku poziomu MDA (tab. 2).

W osoczu krwi koni użytkowanych sportowo odnotowano istotnie wyższą aktywność CAT, a także istotnie wyższą zawartość MDA, cynku i żelaza w porównaniu do koni użytkowanych rekreacyjnie. Poziom FRAP był istotnie wyższy u koni użytkowanych rekreacyjnie (tab. 2).

Jak wskazują badania, jednym ze znaczących czynników wpływających na zdolności przeciwutleniające organizmu jest obciążenie fizyczne. Według Escribano i wsp.

(7), intensywny wysiłek fizyczny u koni sportowych wpływa na wzrost aktywności neutrofilii (leukocytów produkujących nadtlenek wodoru), a przez to nasilenie procesów wolnorodnikowych w organizmie. Zostało to potwierdzone również w przeprowadzonych badaniach. We krwi koni sportowych odnotowano obniżenie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (FRAP), a także nasilenie procesów oksydacyjnych, czego wykładnikiem był znaczny wzrost poziomu końcowego produktu peroksydacji lipidów MDA. Taka reakcja mogła być związana ze spadkiem wydolności fizycznej koni sportowych czy też reakcją stresową. Analogiczne wyniki uzyskali Górecka i wsp. (9) oraz Andriichuk i wsp. (2). Andriichuk i wsp. (2) sugeruje, że ostry i nieregularny trening fizyczny może mieć negatywne skutki dla organizmu, natomiast regularna aktywność fizyczna tworzy nową pamięć antyoksydacyjną i zmniejsza uszkodzenia spowodowane procesami oksydacyjnymi (24). Potwierdzają to badania Soares i wsp. (25), w których odnotowano wzrost wartości FRAP zaraz po konkursie skoków, jednak po upływie 24 godzin powrót do wartości przed treningiem.

Według Andriichuk i wsp. (2) wysiłek fizyczny koni ma wpływ na wzrost aktywności SOD. W badaniach Soares i wsp. (25) aktywność SOD nieznacznie wzrosła po wyczerpującym wysiłku, natomiast następnego dnia istotnie uległa zwiększeniu. W przeprowadzonym badaniu sposób użytkowania nie miał istotnego wpływu na aktywność tego enzymu, wpłynął natomiast na aktywność CAT, która u koni sportowych była istotnie wyższa. Katalaza to enzym odpowiedzialny za katabolizm nadtlenku wodoru, który może powstawać w większych ilościach w organizmie na przykład podczas treningu. Wzrostowi aktywności CAT towarzyszył wzrost ilości żelaza, które m.in. występuje w miejscu aktywnym katalazy i jest związane pięcioma wiązaniami koordynacyjnymi (20).

Tab. 2. Poziom wskaźników biochemicznych, antyoksydacyjnych oraz składników mineralnych krwi koni małopolskich w zależności od płci i sposobu użytkowania

Badane parametry	Płeć		Poziom istotności	Sposób użytkowania		Poziom istotności
	klacze n = 18	ogierzy n = 12		rekreacja n = 15	sport n = 15	
TP (g l ⁻¹)	73,81	89,38	0,036	75,90	71,68	0,083
GLU (mmol l ⁻¹)	5,40	5,85	0,114	5,54	5,37	0,433
BIL (μmol l ⁻¹)	14,80	12,39	0,037	14,32	14,53	0,875
UREA (mmol l ⁻¹)	5,41	5,09	0,655	5,34	5,38	0,954
UA (mmol l ⁻¹)	0,056	0,063	0,047	0,063	0,064	0,832
CREAT (μmol l ⁻¹)	117,1	113,1	0,741	119,6	111,2	0,376
SOD (U ml ⁻¹)	59,45	78,31	0,027	62,30	63,08	0,929
CAT (U ml ⁻¹)	0,796	1,555	0,006	0,87	1,01	0,037
MDA (μmol l ⁻¹)	0,260	0,232	0,050	0,212	0,331	0,028
FRAP (μmol l ⁻¹)	768,5	702,7	0,602	824,9	645,2	0,044
Cu ²⁺ (μmol l ⁻¹)	14,29	16,06	0,029	14,43	14,83	0,763
Zn ²⁺ (μmol l ⁻¹)	20,67	20,21	0,847	20,34	24,77	0,001
Fe ²⁺ (μmol l ⁻¹)	13,96	18,00	0,037	13,27	17,19	0,009

Zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej nasila się wraz z wiekiem organizmu, co jest związane ze spadkiem aktywności antyoksydacyjnych (SOD, GPx, CAT). Powstające RFT powodują między innymi destrukcję składników komórki, takich jak białka, kwasy nukleinowe bądź lipidy (2). W przeprowadzonym doświadczeniu u starszych koni zarejestrowano zmiany wielu wskaźników antyoksydacyjnych krwi, wśród których zwracają uwagę m.in. relatywnie niska aktywność SOD, poziom FRAP, a także poziom miedzi i cynku. Jest to zgodne z wynikami badań, które wskazują, że wraz z wiekiem dochodzi do nadmiernego wytwarzania reaktywnych form tlenu (RFT) oraz upośledzenia aktywności systemu antyoksydacyjnego eliminującego te reaktywne cząsteczki (18, 19). W badaniach Góreckiej i wsp. (10) najwyższą całkowitą zdolnością antyoksydacyjną cechowały się nie tylko młode osobniki do 3 lat, ale także starsze, powyżej 10 lat. Augustyniak i Skrzydlewska (4) stwierdzili, że w organizmie zwierząt starszych może nastąpić wzrost aktywności pewnych przeciwutleniaczy, co wskazuje na próbę adaptacji starzejącego się organizmu do neutralizacji wolnych rodników, których ilość w tym okresie życia znacząco się podnosi. Obniżona aktywność redukcyjna może być z kolei związana ze zmianą w budowie cząsteczek obronnych oraz częściową ich inaktywacją spowodowaną działaniem wolnych rodników (1, 24).

Wystąpienie interakcji pomiędzy sposobem użytkowania a wiekiem koni w obrębie wskaźników redox wskazuje między innymi na stan odpowiedniego dopasowania sposobu użytkowania do wieku koni (tab. 3), co potwierdza tezę, że wskaźniki statusu redox mogą być pomocne w ocenie dobrostanu koni małopolskich w okresie zróżnicowanego wysiłku.

Wzrost aktywności SOD w osoczu krwi młodszych koni, który skorelowany był ze wzrostem stężenia miedzi i cynku przyczynił się prawdopodobnie do

Tab. 3. Interakcja pomiędzy wiekiem (W), płcią (P) oraz sposobem użytkowania (S) koni

Badane parametry	W × P	W × S	S × P
TP	0,255	0,038	0,211
GLU	0,089	0,023	0,136
BIL	0,166	0,088	0,100
UREA	0,073	0,054	0,034
UA	0,091	0,037	0,066
CREAT	0,193	0,045	0,048
SOD	0,233	0,031	0,134
CAT	0,354	0,055	0,233
MDA	0,085	0,220	0,130
FRAP	0,167	0,106	0,043
Cu ⁺²	0,204	0,036	0,099
Zn ⁺²	0,111	0,167	0,132
Fe ⁺²	0,284	0,203	0,106

neutralizacji rodnika ponadtlenkowego, czego efektem była obniżona ilość końcowego produktu peroksydacji lipidów – MDA we krwi. Podobne spostrzeżenia mieli Friedlich i wsp. (8).

W badaniach własnych stwierdzono, że płęć koni wpływała zarówno na wskaźniki biochemiczne, jak i oksydoredukcyjne. Harvey i wsp. (13) stwierdzili znacznie niższą zawartość BIL we krwi klaczy niż we krwi ogierów. Natomiast w badaniach Góreckiej i wsp. (10) u klaczy i ogierów nie odnotowano istotnych różnic w zawartości BIL w osoczu krwi. Górecka i wsp. (10) oraz Waheed i wsp. (26) wykazali, że płęć i wiek a także sposób użytkowania koni nie wpływają na zawartość UA, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych.

Płęć koni nie miała także większego wpływu na całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza (FRAP), jednak interakcja, którą zanotowano pomiędzy płcią a sposobem użytkowania koni małopolskich (tab. 3) wskazuje, że płęć może mieć istotne znaczenie przy układaniu planu treningowego u koni. W osoczu krwi klaczy odnotowano natomiast istotnie wyższą aktywność enzymów SOD i CAT niż w osoczu krwi ogierów. Wzrost aktywności SOD korespondował ze wzrostem zawartości miedzi. Badania Góreckiej i wsp. (10) nie potwierdziły znaczącego wpływu płci na aktywność SOD, natomiast wskazały, iż krew ogierów charakteryzuje się wyższym stężeniem miedzi niż klaczy. Wyższa aktywność CAT ogierów korespondowała ze zwiększoną koncentracją żelaza. W badaniach Greli i wsp. (12) odnotowano również wyższe stężenie żelaza we krwi ogierów w porównaniu do klaczy.

Wiek koni, podobnie jak sposób ich użytkowania (rekreacyjny vs sportowy) nie ma istotnego wpływu na wskaźniki biochemiczne krwi, wpływa natomiast na markery statusu redox. U starszych koni i poddanych treningowi ma miejsce pobudzenie procesów oksydacyjnych (wzrost MDA) oraz obniżenie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego. Płęć koni istotnie róż-

nicuje wpływ zarówno na poziom wskaźników biochemicznych, jak i oksydoredukcyjnych. Odnotowanie interakcji wpływu wieku czy płci i sposobu użytkowania na badane wskaźniki antyoksydacyjne potwierdza tezę, że wskaźniki statusu redox mogą być pomocne w ocenie dobrostanu koni małopolskich poddanych różnicowanemu wysiłkowi.

Piśmiennictwo

1. Adachi T., Wang J., Wang X. L.: Age-related change of plasma extracellular – superoxide dismutase. *Clin. Chim. Acta* 2000, 290, 169-178.
2. Andriichuk A., Tkachenko H., Kurhaluk N.: Oxidative stress biomarkers in the blood of holsteiner horses during exercise training. *Anim. Biol.* 2013, 15, 19-18.
3. Art T., Lekeux P.: Exercise-induced physiological adjustments to stressful conditions in sports horses. *Liv. Prod. Sci.* 2005, 92, 101-111.
4. Augustyniak A., Skrzydlewska E.: Antioxidative abilities during aging. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2004, 58, 194-201.
5. Benzie I. F. F., Strain J. J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power” the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 1996, 239, 70-76.
6. Escribano B. M., Agüera E. I., Rubio M. D., Santisteban R., Vivo R., Agüera S., Tovar P.: Lipid utilization pathways induced by early training in standardbred trotters and thoroughbreds. *Res. Vet. Sci.* 2011, 91, 144-148.
7. Escribano B. M., Castejón F. M., Vivo R., Agüera S., Agüera E. I., Rubio M. D.: Nonspecific immune response of peripheral blood neutrophils in two horse breed (Anglo-Arabian and Spanish-Arabian): response to exercise. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2005, 28, 145-154.
8. Friedlich A. L., Lee J. Y., van Groen T., Cherny R. A., Volitakis I., Cole T. B., Palmeter R. D., Koh J. Y., Bush A. I.: Neuronal zinc exchange with the blood vessel wall promotes cerebral amyloid angiopathy in an animal model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 2004, 24, 3453-3459.
9. Górecka R., Sitarz E., Kluciński W.: Antioxidant parameters of horses according to age, sex, breed and environment. *Pol. J. Vet. Sci.* 2002, 5, 209-216.
10. Górecka R., Sitarz E., Kluciński W., Kleczkowski M.: Antioxidant status in horses. *Pol. J. Vet. Sci.* 1999, 2, 133-136.
11. Greenwald R. A.: CRC Handbook of methods for oxygen radical research. CRC Press Boca Raton 1985, s. 283-284, s. 243-247.
12. Grell E. R., Pastuszak J., Czech A., Kempa J.: Influence of sex and feeding season on the hematological and biochemical parameters of Thoroughbred blood foals. *Annales UMCS, Sec. EE* 2003, 79, 201-205.
13. Harvey J. W., Melanie G. P., Kivipeltö J., Asquith R. L.: Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Vet. Clin. Pathol.* 2005, 34, 248-254.
14. Kinnunen S., Atalay M., Hyypä S., Lehmuskero A., Hanninen O., Oksala N.: Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse. *J. Sports Sci. Med.* 2005, 4, 415-421.
15. Kinnunen S., Hyypä S., Lehmuskero A., Oksala N., Maenpää P., Hanninen O., Atalay M.: Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and exercise-induced stress in trotters. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2005, 95, 550-556.
16. Krumrych W.: Blood antioxidant defence in horses during physical exercises. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2010, 54, 617-624.
17. Ledwoży A., Michalak J., Stepien A., Kądziołka A.: The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin. Chim. Acta.* 1986, 155, 275-284.
18. Loeser R. F.: Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix. *Osteoarthritis Cartilage* 2009, 17, 971-979.
19. Lomri A.: Role of reactive oxygen species and superoxide dismutase in cartilage aging and pathology. *Future Rheumatol.* 2008, 3, 381-392.
20. Nicholls P., Fita I., Loewen P. C.: Enzymology and structure of catalases. *Adv. Inorg. Chem.* 2001, 51, 51-106.
21. Normy Żywnienia Koni. Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz. Polska Akademia Nauk, Instytut Fizjologii i Żywnienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego, Jabłonna k. Warszawy 1997.
22. Packer L., Cadenas E., Kelvin J., Davies A.: Free radicals and exercise: an introduction. *Free Radic. Biol. Med.* 2008, 44, 123-125.
23. Pisoschi A. M., Pop A.: The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur. J. Med. Chem.* 2015, 97, 55-74.
24. Radák Z., Chung H. Y., Goto S.: Systemic adaptation to oxidation challenge induced by regular exercise. *Free Radic. Biol. Med.* 2008, 44, 153-159.
25. Soares J. C. M., Zanella R., Bondan C., Alves L. P., Ragagnin de Lima M., Costa da Motta A., Zanella E. L.: Biochemical and antioxidant changes in plasma, serum erythrocytes of horses before and after a jumping competition. *J. Equine Vet. Sci.* 2011, 31, 357-360.
26. Waheed M. M., El-Bahr S. M., Al-haider A. K.: Influence of seminal plasma antioxidants and osteopontin on fertility of the Arabian horse. *J. Equine Vet. Sci.* 2013, 33, 705-709.