

УДК 636.1:591.111

ЗМІНИ МЕТАБОЛІЧНИХ РЕАКЦІЙ В КРОВІ ТРИБОРНИХ КОНЕЙ В ДИНАМІЦІ ТРЕНІНГУ

А. В. Андрійчук¹, Г. М. Ткаченко², Н. М. Кургалюк², І. В. Ткачова¹, М. С. Вартовник³
anastasia.pohlyad@gmail.com, biology.apsl@gmail.com

¹Інститут тваринництва НААН, вул. 7-ї Гвардійської армії, 3, смт. Кулиничі, Харківський р-н, Харківська обл., 62404

²Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University, Arciszewski Str., 22b, 76-200 Slupsk, Poland,

³Дитячо-юнацька спортивна школа з кінного спорту «Буревісник»
м. Львів, вул. Стрийська, 119, Україна, 79031

Кінне триборство є одним з найскладніших видів кінного спорту, який вимагає від коней передусім витривалості, сміливості, урівноваженості та рухливості нервових процесів, високого рівня тренуваності та значних функціональних можливостей їх організму. Метою роботи було визначення рівня маркерів оксидативного стресу (вмісту ТБК-активних продуктів та альдегідних і кетонових похідних оксидативної модифікації протеїнів), активності амінотрансфераз та лактатдегідрогенази, а також кількісних змін вмісту лактату і пірувату в крові коней української верхової породи, які використовуються в триборстві у динаміці фізичних навантажень. Встановлено, що систематичні фізичні навантаження у триборних коней супроводжуються специфічними змінами перебігу метаболічних реакцій. У крові коней після тренінгу виявлено суттєве підвищення вмісту маркерів перекисного окиснення ліпідів, що вказує на розвиток оксидативного стресу, викликаного тренуванням великого об'єму та інтенсивності. Встановлено також неістотне підвищення вмісту альдегідних і кетонових похідних оксидативно змодифікованих протеїнів в еритроцитах, що, вочевидь, пов'язано з окиснювальною модифікацією молекул гемоглобіну під впливом активних форм кисню, які утворюються в результаті інтенсивних фізичних навантажень. Натомість після фізичних навантажень вміст альдегідних похідних оксидативної модифікації протеїнів плазми коней істотно знизився, що свідчить про розвиток ефективних адаптаційних реакцій в їх організмі шляхом інтенсифікації протеолітичної активності під впливом систематичних тренувань. Проведений кореляційний аналіз між вмістом маркерів оксидативного стресу показав залежності в обмеженні розвитку оксидативного стресу за рахунок активації антиоксидантної активності у тренуваних коней після тренінгу. Істотне зменшення активності амінотрансфераз у крові спортивних коней після фізичних навантажень вказує на високий рівень їх тренуваності, а істотне підвищення вмісту лактату відображає інтенсивність і напрям перебігу аеробно-анаеробних реакцій під час тренувань та вказує на рівень енергетичного внеску анаеробного гліколізу у загальний обсяг енергопостачання м'язової діяльності триборних коней.

Ключові слова: ТРИБОРСТВО, ОКСИДАЦІЙНИЙ СТРЕС, АМІНОТРАНСФЕРАЗИ, ЛАКТАТ, ПІРУВАТ, СПОРТИВНІ КОНІ, ФІЗИЧНІ НАВАНТАЖЕННЯ, СИСТЕМАТИЧНИЙ ТРЕНІНГ

BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS IN HORSES INVOLVED IN EVENTING UNDER THE INFLUENCE OF EXERCISE

А. Andriichuk¹, Н. Tkachenko², N. Kurhaluk², I. Tkachova¹, M. Vartovnyk³
anastasia.pohlyad@gmail.com, biology.apsl@gmail.com

¹Institute of Animal Breeding of National Academy of Agricultural Sciences,
7, Gvardeyskoj Armii Str. 3, p.d. Kulynychi, Kharkiv Region,

Kharkiv District, 62404 Ukraine

²Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University, Arciszewski Str., 22b, 76-200 Slupsk, Poland

³Junior Sports School of Equestrian «Burevisnyk», Stryiska str., 119, 79031 Lviv, Ukraine, 79031

A physical exercise in athletic horses induces a series of normal physiological and biochemical adaptations. Eventing is a rigorous exercise challenge, similar to the human triathlon that tests the physical ability and skill of both horse and rider during three separate phases. In dressage, a standard set of movements is performed and awarded a subjective score. Cross-country jumping requires horses to jump over 35 to 40 obstacles covering 5 to 7 km of terrain within a limited time. For stadium jumping horses are jumped over 10 to 12 obstacles arranged in a course set in an enclosed arena. The aim of the current study was to determine the level of oxidative stress biomarkers (thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level, carbonyl derivate of oxidatively modified protein), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and lactate dehydrogenase (LDH) activity, as well as lactate and pyruvate concentrations in sport horses involved in eventing before and after exercise. Our results suggest that exercise cause different consequences on oxidative stress biomarkers in the blood, plasma, and erythrocytes of horses. Exercise lead to significant increase TBARS level in the blood, while in erythrocytes and plasma does not. The significant increase of TBARS level in the blood is a result of exercise-induced oxidative stress. This difference in TBARS level between rest and training periods most likely is a consequence of differing levels of oxidative stress occurring in the tissues and the blood. Significant decreases in the aldehyde derivatives of protein oxidation in the plasma after the training was noted. Exercises can induce the activity of the proteasome complex, which is significantly involved in the degradation of oxidatively modified proteins. Thus, in our study, decrease of carbonyl derivatives in the plasma after the exercise is a result of exercise-induced adaptation. We found a significant decrease aminotransferases activity after training indicating about the high level of athletic horses' performance. The preventive effect of regular training of eventing horses leads to adaptation to prolonged exercises, which accompanied by decrease of oxidative damage of protein in the plasma and increases resistance to oxidative stress. Significant increase of lactate concentration after the exercise indicates about the level of anaerobic glycolysis contribution to the total energy supply of muscle activity in horses involved in eventing.

Keywords: EVENTING, OXIDATIVE STRESS, AMINOTRANSFERASES, LACTATE, PYRUVATE, PHYSICAL ACTIVITY, SYSTEMATIC TRAINING

ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В КРОВИ ТРОЕБОРНЫХ ЛОШАДЕЙ В ДИНАМИКЕ ТРЕНИНГА

А. В. Андрийчук¹, Г. М. Ткаченко², Н. Н. Кургалюк², И. В. Ткачова¹, М. С. Вартовник³
anastasia.pohlyad@gmail.com, biology.apsl@gmail.com

¹Институт животноводства Национальной академии аграрных наук,
ул. 7-ой Гвардейской армии, 3, пгт. Кулинич, Харьковский р-н,
Харьковская обл., 62404

²Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University, Arciszewski Str., 22b, 76-200 Slupsk, Poland

³Детско-юношеская спортивная школа по конному спорту «Буревестник»
г. Львов, ул. Стрийская, 119, Украина, 79031

Конное троеборье является одним из самых сложных видов конного спорта, который требует от лошадей выносливости, смелости, уравновешенности и подвижности нервных процессов, высокого уровня тренированности и значительных функциональных возможностей их организма. Целью работы было определение уровня маркеров окислительного стресса (содержания ТБК-активных продуктов в крови, альдегидных и кетонных производных окислительной

модифікації протеїнов), активності аминотрансфераз і лактатдегідрогенази, а також кількісних змін у вмісті лактату і пірувату в крові лошадей української верхової породи, які використовуються в троеборстві в динаміці фізичних навантажень. Встановлено, що систематичні фізичні навантаження у троеборних лошадей супроводжуються специфічними змінами метаболічних реакцій. В крові лошадей після фізичних навантажень виявлено суттєве підвищення вмісту маркерів перекисного окислення ліпідів, що вказує на розвиток окислювального стресу, викликаного тренуваннями великого обсягу та інтенсивності. Встановлено також несуттєве підвищення вмісту альдегідних і кетонних похідних окислювальної модифікації протеїнів в еритроцитах, що очевидно пов'язано з окислювальною модифікацією молекул гемоглобіну під впливом інтенсивних фізичних навантажень. Вміст альдегідних похідних окислювальної модифікації протеїнів плазми лошадей після фізичних навантажень суттєво знизився, що свідчить про розвиток ефективних адаптаційних реакцій в їх організмі шляхом інтенсифікації протеолітичної активності під впливом систематичних тренувань. Проведений нами кореляційний аналіз між вмістом маркерів окислювального стресу показав залежність між окислювальним стресом та активністю антиоксидантної активності у тренуваних лошадей після фізичних навантажень. Суттєве зменшення активності аминотрансфераз в крові спортивних лошадей після фізичних навантажень вказує на високий рівень їх тренуваності, а суттєве підвищення вмісту лактату відображає інтенсивність та напрямок протікання аеробно-анаеробних реакцій в час тренувань та вказує на рівень енергетичного внеску анаеробного гліколізу в загальний обсяг енергозабезпечення м'язової діяльності троеборних лошадей.

Ключевые слова: ТРОЕБОРЬЕ, ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС, АМИНОТРАНСФЕРАЗЫ, ЛАКТАТ, ПИРУВАТ, ФИЗИЧЕСКИЕ НАГРУЗКИ, СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ТРЕНИНГ

Троеборство є найбільш всеохоплюючою змагальною дисципліною, визначеною FEI (Міжнародною федерацією кінного спорту), де чоловіки і жінки на рівних змагаються як в особистих, так і в командних заїздах. Троеборство вимагає від вершника досвіду в усіх дисциплінах кінного спорту (конкур, виїздка, проходження кросу та подолання перешкод природного типу), а також максимального взаєморозуміння з конем. Троеборство охоплює всі аспекти верхової їзди: гармонійну взаємодію коня та вершника, витривалість і жвавість, необхідні коневі для проходження дистанції кросу, а також чіткість, спритність і техніку подолання перешкод, які напрацьовуються у конкурі [1]. Троеборство є однією з трьох дисциплін кінного спорту, внесених у програму Олімпійських ігор.

Сучасні змагання з троеборства складаються з трьох різних випробувань: виїздки, кросу і конкуру. Вони проходять у три дні, впродовж яких вершник виступає на одному й тому ж коні [1]. Тест з виїздки

складається з серії показових обов'язкових рухів під час кроку, їзди риссю і галопом, у ході якого вершник і кінь відпрацьовують складні рухові елементи вищої школи верхової їзди в прямокутній арені довжиною 60 м і шириною 20 м [1].

Найбільш складна і відповідальна частина змагань з троеборства — крос тести, або тести з польових випробувань, метою яких є демонстрація швидкості, витривалості, сміливості та стрибкового потенціалу коня. Одночасно при цьому максимально проявляється майстерність вершника. Польові випробування проводяться на дистанції до 7 км (залежно від рівня змагань) із подоланням перешкод природного типу [1]. На третій, заключний день проводять змагання з конкуру. Для цього на майданчику розміром 150x100 м встановлюють перешкоди висотою до 120 см і шириною до 180 см. Довжина маршруту становить близько 750–900 метрів [1].

Систематичний тренінг задіяних у троеборстві коней спрямований передусім

на розвиток у них витривалості, удосконалення функціонування нервово-регуляторних механізмів серцево-судинної і дихальної систем, розвиток м'язової сили тощо [1, 2]. Загалом триборство є найскладнішим видом кінного спорту, який вимагає від коней передусім витривалості, сміливості, урівноваженості та рухливості нервових процесів, високого рівня тренуваності та значних функціональних можливостей їх організму [1–3].

Відомо, що тривала адаптація організму коней до фізичних навантажень різної інтенсивності супроводжується специфічними змінами в перебігу метаболічних реакцій, зумовлюючи зниження швидкості вивільнення енергії та її нагромадження у вигляді макроергічних сполук [1, 4]. Зміна енергетичного метаболізму під час фізичних навантажень впродовж багаторічних тренувань сприяє збільшенню запасів у м'язовому волокні таких джерел енергії, як креатинфосфат, глікоген і підвищення активності ензимів гліколізу, системи перенесення електронів, вмісту продуктів циклу трикарбонових кислот та окиснення жирних кислот тощо [1, 4]. Відтак метаболіти енергозабезпечення м'язової діяльності та активність ключових ензимів, які відображають первинні тенденції біохімічних змін під впливом систематичних фізичних навантажень можуть бути діагностичними показниками рівня тренуваності коней спортивного напрямку роботоздатності [1, 5, 6]. До таких метаболітів належать: вміст лактату і пірувату крові, активність лактатдегідрогенази і амінотрансфераз — аланін- (АлАТ) та аспартатамінотрансфераз (АсАТ), які каталізують перетворення глікогенних амінокислот у піруват і оксалоацетат [1, 5, 7]. Зміни активності цих ензимів у динаміці фізичних навантажень відображають метаболічні перетворення в організмі коней призового та спортивного напрямку роботоздатності [4, 8–10].

Поряд із процесами окиснення енергетичних субстратів, які протікають у мітохондріях, у мембранах клітин під впливом інтенсивних фізичних навантажень

інтенсифікуються також процеси вільнорадикального окиснення [11]. Відомо, що утворення активних форм кисню (АФК) у надмірних кількостях може призводити до швидкої втоми, викликати зниження спортивної роботоздатності коней, порушувати функціонування серцево-судинної системи, спричиняти пошкодження м'язів і суглобів, викликати неврологічні розлади тощо [12–14]. Порушення метаболічної рівноваги в напрямку збільшення генерації АФК і зменшення потужності системи антиоксидантного захисту (АОЗ) під впливом виснажливих фізичних навантажень у коней призводить до розвитку оксидативного стресу [11, 14]. Щоправда, інтенсивність перебігу оксидативного стресу залежить також від рівня тренуваності коней та функціонального стану енергозабезпечення м'язової діяльності. Зокрема, нашими попередніми дослідженнями встановлено, що у спортивних коней, які перебувають в довготривалому тренінгу, вміст маркерів оксидативного стресу істотно знижувався після фізичних навантажень поряд з активацією системи АОЗ [15, 16]. Тому вивчення динаміки вмісту маркерів оксидативного стресу та особливостей перебігу метаболічних змін під впливом фізичних навантажень є важливою передумовою в аналізі адаптаційних можливостей, рівня підготовленості і тренуваності спортивних коней. Враховуючи вищенаведене, метою роботи було визначення рівня маркерів оксидативного стресу (вмісту ТБК-активних продуктів у крові та альдегідних і кетонних похідних оксидативної модифікації протеїнів), активності амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) та лактатдегідрогенази (ЛДГ), а також кількісних змін вмісту лактату і пірувату в крові коней української верхової породи, які використовуються в триборстві у динаміці фізичного тренінгу.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень було 9 спортивних коней (кобили, жеребці, мерини) української верхової породи 6–12-річного віку, які активно використовувалися в триборстві. Всі тварини були клінічно здорові, без наявності ознак жодної патології. Коні утримувалися на базі ДЮСШ з кінного спорту «Буревісник» (м. Львів, Україна) та брали активну участь у кінноспортивних змаганнях місцевого, всеукраїнського та міжнародного рівнів. Умови годівлі дослідних коней були однаковими (6 кг сіна, 6 кг вівса, 2 кг висівок в день, сіль і вода були у вільному доступі), до того ж всі тварини перебували у довготривалому систематичному спортивному тренінгу. Для оцінки впливу систематичних тренувань на досліджувані показники було запропоновано спільне для коней фізичне навантаження значного об'єму та високої інтенсивності, а саме: рух кроком — 5 хв, рух риссю — 10 хв, рух кроком — 5 хв, рух риссю — 10 хв, з відпрацюванням рухових елементів вищої школи верхової їзди, рух кроком — 5 хв, рух галопом з подоланням маршруту перешкод висотою 90–120 см і шириною 100–120 см — 30 хв, рух кроком — 20 хв [3]. Загальна тривалість фізичного навантаження становила 1,5 години.

Кров тварин відбирали з зовнішньої яремної вени у стерильні пробірки з антикоагулянтом (К-EDTA, MedLab) у стані спокою перед тренуванням та одразу ж після фізичного навантаження. Для отримання плазми цільну кров центрифугували впродовж 10 хв при 3000 об./хв. Суспензію еритроцитів отримували промиванням осаду охолодженим фізіологічним розчином тричі. Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за вмістом продуктів, які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-продукти) у цільній крові, плазмі та суспензії еритроцитів. ТБК-активні продукти оцінювали за вмістом кінцевого продукту — малонового діальдегіду (МДА), та виражали у мкмоль/л [17]. Вміст

альдегідних (ОМП₃₇₀) і кетонових похідних (ОМП₄₃₀) модифікованих протеїнів визначали в суспензії еритроцитів та плазмі в реакції з 2,4-динітрофенілгідразиним [18]. Вміст розраховували, використовуючи коефіцієнт поглинання 22000 ммоль⁻¹·см⁻¹, і виражали в нмоль/мл. Активність амінотрансфераз визначали у плазмі крові в реакції з 2,4-динітрофенілгідразиним [17]. Активність лактатдегідрогенази плазми визначали в реакції окиснення L-лактату до пірувату в лужному середовищі у присутності доданого НАД⁺ [17]. Активність ензимів АЛАТ, АсАТ та ЛДГ виражали в ммоль пірувату/год·л. Концентрацію лактату і пірувату визначали неензиматичним методом у пробі цільної крові [19]. Результати виражали у ммоль/л. Антиоксидативну активність (АОА) плазми та еритроцитів визначали в реакції інгібування аскорбат- та залізо-індукованого окиснення Твіну-80 до МДА та виражали у % [20]. Усі лабораторні дослідження проводили на кафедрі фізіології тварин Інституту біології та охорони середовища Поморської Академії (м. Слупськ, Польща) у рамках міжнародної співпраці.

Отримані результати статистично проаналізовано за допомогою пакету програми STATISTICA 8.0 (StatSoft, Poland). При статистичній обробці даних, після процедури аналізу нормальності всіх вибірок за допомогою критеріїв Шапіро-Вілкі та Лілліфорса, обраховували середнє арифметичне значення та похибку. Вірогідність різниць між групами тварин до і після фізичного навантаження визначали за критерієм Вілкоксона ($p < 0,05$). Кореляційну залежність між досліджуваними параметрами оцінювали за допомогою рангів Спірмана [21].

Результати й обговорення

Аналіз рівня ліпопероксидації в крові триборних коней у стані спокою показав найвищий вміст ТБК-активних продуктів в еритроцитах і цільній крові, що відповідало 14,59±0,77 і 11,71±0,50 мкмоль/л,

відповідно. Натомість, найменший вміст ТБК-активних продуктів виявлено у плазмі — $4,87 \pm 0,33$ мкмоль/л (рис. 1). З літературних джерел відомо, що найбільш вразливими до дії вільнорадикального окиснення є еритроцити в результаті високого вмісту гемоглобіну — потенційного джерела АФК, який контактує з відносно великою концентрацією кисню [22]. При концентрації оксигемоглобіну в 3 мМ навіть незначний рівень автоокиснення гемоглобіну може призвести до суттєвого збільшення генерації АФК в еритроцитах. Продукція супероксидного аніону ($O_2^{\cdot-}$) з вільного кисню викликає окиснення гемоглобіну в метгемоглобін — стійку сполуку, яка перешкоджає приєднанню кисню до гемоглобіну, в результаті чого порушується процес транспорту кисню до клітин [22]. Відтак встановлений найвищий вміст ТБК-активних продуктів в еритроцитах триборних коней у стані спокою обумовлюється, очевидно, особливостями будови гемоглобіну та функціональними особливостями червоних клітин крові.

Після фізичних навантажень в крові тварин встановлено істотне підвищення

вмісту ТБК-активних продуктів на 67 % ($p < 0,01$), а в плазмі вміст ТБК-активних продуктів неістотно збільшувався на 45 % ($p > 0,05$). Натомість в еритроцитах не спостерігали суттєвих змін (рис. 1). Наші результати узгоджуються з літературними даними, згідно з якими у коней, які тренуються на витривалість і жвавість, спостерігалось істотне підвищення вмісту маркерів оксидативного стресу в крові та плазмі після фізичних навантажень [13, 14]. Зокрема, тренування на витривалість у коней викликають збільшення вмісту ТБК-активних продуктів в плазмі, α -токоферолу і глутатіону в еритроцитах [14]. Змагання на довгодистанційні пробіги у 210 км у коней спричиняють істотне підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у крові, рівень яких знижувався за три дні після закінчення змагань [23]. Встановлене нами істотне збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у крові коней після фізичних навантажень свідчить, вочевидь, про розвиток оксидативного стресу, викликаного інтенсивним тренуванням великого об'єму.

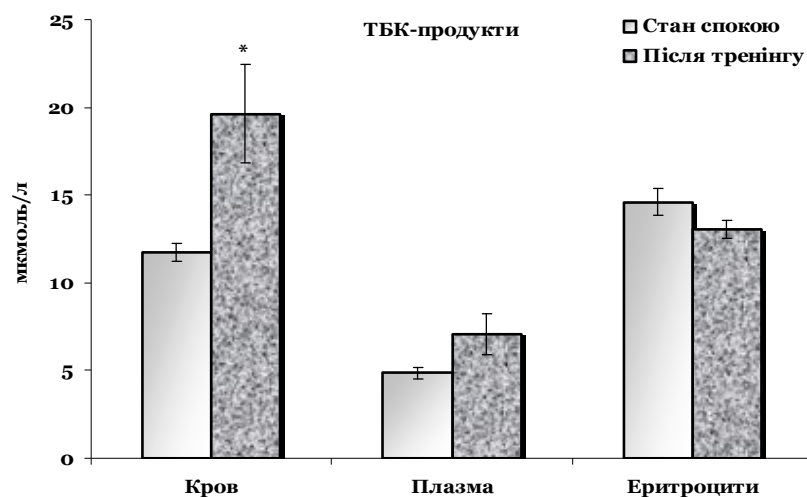


Рис. 1. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів у крові, плазмі та суспензії еритроцитів триборних коней у стані спокою та після тренування

Примітка: * — статистично істотні зміни ($p < 0,05$) між показниками, отриманими до і після фізичного навантаження

АФК, поряд із окисненням ліпідів, викликають також окисну модифікацію протеїнів, що призводить до зміни їх амінокислотних залишків, порушення третинної структури та спричинює агрегацію та фрагментацію протеїнових молекул [24], у результаті чого знижується або взагалі зникає їх багатофункціональна активність (ензиматична, регуляторна, транспортна тощо) [24, 25]. Разом з тим,

нагромадження окиснених протеїнів розглядається як один із факторів регуляції синтезу і розпаду протеїнів [24]. Окисна деструкція протеїнів є одним з перших показників пошкодження тканин [25]. Зважаючи на це, наступним етапом наших досліджень був аналіз вмісту альдегідних і кетонних похідних ОМП у плазмі та еритроцитах спортивних коней у стані спокою та після фізичних навантажень (рис. 2).

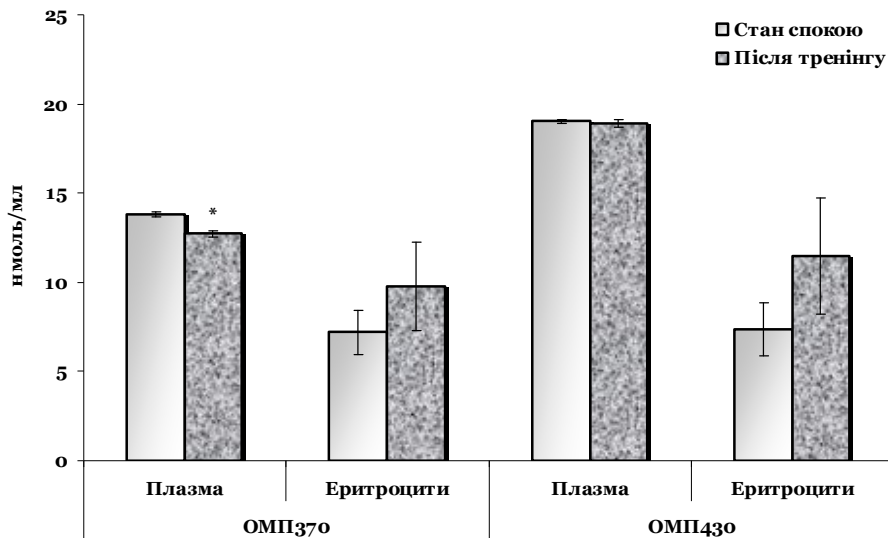


Рис. 2. Рівень альдегідних (ОМП₃₇₀) та кетонних (ОМП₄₃₀) похідних окиснювальної модифікації протеїнів в еритроцитах і плазмі крові спортивних коней в динаміці фізичних навантажень

Примітка: * — див. рис. 1.

У результаті проведених досліджень встановлено, що в спортивних коней у стані спокою вищим був вміст альдегідних і кетонних похідних ОМП у плазмі порівняно з суспензією еритроцитів (рис. 2). Відомо, що рівень ОМП не завжди пов'язаний із інтенсивністю процесів ПОЛ і/або окисдативним пошкодженням ДНК, а визначається передовсім активністю систем антиоксидантного захисту і репарації біологічних структур [26]. Встановлений нами високий рівень процесів модифікації протеїнів плазми свідчить про ступінь окиснювальних змін в інших тканинах та органах, а не лише в еритроцитах. Натомість після фізичних навантажень спостерігалось істотне зменшення рівня альдегідних похідних ОМП плазми на 8 % ($p < 0,05$) (рис. 2). Суттєвих змін у вмісті

кетонних похідних ОМП плазми не виявлено. Рівень альдегідних і кетонних похідних ОМП еритроцитів після фізичних навантажень неістотно зростав на 35 та 55 % ($p > 0,05$), відповідно.

3 літературних джерел відомо, що залізовмісні білкові молекули навіть при незначному окисдативному пошкодженні особливо чутливі до вільнорадикальних перетворень [27]. Гемові групи протеїнів (гемоглобін і міоглобін) містять залізо змінної валентності, яке робить їх особливо чутливими до дії АФК [28]. Хоча структура ланцюга глобіну дозволяє гему зв'язувати кисень з мінімальним ступенем окиснення двовалентного заліза до трьохвалентного, тим не менше, за цих умов можливе автоокиснення самого трьохвалентного заліза [28]. Незважаючи на те, що низькі

концентрації окисненого заліза гему присутні за нормальних умов в організмі у формі метгемоглобіну і метміоглобіну, така форма заліза в результаті автоокиснення може реагувати з пероксидами, спричинюючи окисну модифікацію молекули гемоглобіну [28]. Оскільки основним білком еритроцитів є гемоглобін, то встановлене нами неістотне підвищення рівня ОМП еритроцитів, пов'язане, вочевидь, з окиснювальною модифікацією молекул гемоглобіну за дії АФК, генерація яких підвищується під впливом фізичних навантажень. Це припущення узгоджується з результатами наших попередніх досліджень, в яких було встановлено, що у коней голштинської породи фізичні навантаження середнього об'єму та інтенсивності викликали істотне збільшення вмісту похідних окиснювальної модифікації протеїнів [16].

Утім окиснення протеїнових молекул під дією АФК з утворенням

альдегідо- або кетогруп також відіграє адаптаційну функцію до систематичних фізичних навантажень, що супроводжується активацією протеасомних комплексів, які вибірково руйнують окиснені протеїни [6]. Встановлене нами істотне зменшення вмісту альдегідних похідних ОМП плазми після фізичних навантажень свідчить, вочевидь, про ініціацію процесів протеолітичної деградації окиснених протеїнових молекул.

Динаміка активності ензимів під час фізичних навантажень дозволяє виявити процеси мобілізації та утилізації основних енергетичних субстратів в організмі спортивних коней під впливом тренувань. У зв'язку з цим наступним етапом наших досліджень було визначення активності амінотрансфераз та лактатдегідрогенази, а також метаболітів енергетичного обміну — вмісту лактату та пірувату в крові коней у динаміці фізичних навантажень.

Таблиця

Активність ензимів та вміст метаболітів вуглеводного обміну в плазмі спортивних коней у динаміці фізичних навантажень

Параметри	Стан спокою	Стан після тренування
АлАТ, ммоль/год·л	2,73±0,04	2,61±0,02*
АсАТ, ммоль/год·л	4,51±0,09	3,85±0,12*
ЛДГ, ммоль/год·л	7,40±0,15	7,65±0,29
Лактат, ммоль/л	5,96±0,46	6,67±0,22*
Піруват, ммоль/л	3,81±0,27	3,79±0,10

Примітка: * — статистично істотні зміни ($p < 0,05$) між показниками, отриманими в стані спокою і після фізичного навантаження (тест Вілкоксона)

Встановлено зменшення активності амінотрансфераз в плазмі спортивних коней після фізичних навантажень. Зокрема, активність АлАТ зменшувалася на 4 % ($p < 0,05$), а АсАТ — на 15 % ($p < 0,05$). У ветеринарній медицині активність амінотрансфераз, креатинкінази та ЛДГ найчастіше використовується для оцінки функціонального стану м'язової системи та адекватності використаних обсягів фізичних навантажень для тренінгу спортивних коней [7, 8, 10]. Значне підвищення активності АсАТ після виснажливих фізичних навантажень у спортивних коней може свідчити про

пошкодження м'язів і розвиток синдрому перетренування [10]. Щоправда, в процесі адаптації до систематичних фізичних навантажень активність амінотрансфераз може зазнавати змін від низьких до високих значень у тренувальному періоді. Зокрема, Fazio і співав. (2011) виявили значне підвищення активності АсАТ у чистокровних коней на 60-ту добу інтенсивних тренувань [29]. Утім, у кінці тренувального макроциклу, на 80-ту добу тренувань, активність АсАТ істотно знижувалася, що супроводжувалося підвищенням тренуваності та адаптацією чистокровних коней до регулярних тренувань [29].

Відтак, результати наших досліджень узгоджуються з літературними даними, згідно з якими зниження рівня активності амінотрансфераз після тренувань вказує на високий рівень тренуваності і роботоздатності коней [29–31].

Молочна кислота (лактат) — продукт анаеробного метаболізму глюкози. Лактат утворюється з пірувату під дією ЛДГ [32]. При достатньому надходженні кисню піруват включається у цикл Кребса і зазнає метаболічних перетворень в мітохондріях до кінцевих продуктів — води і вуглекислоти. При інтенсивних фізичних навантаженнях, що супроводжуються гіпоксією, лактатдегідрогеназна реакція у скелетних м'язах протікає переважно в бік утворення лактату з пірувату [32]. Молочна кислота, яка накопичується в скелетних м'язах під час напруженої роботи, дифундує в кров та поглинається гепатоцитами. У печінці лактат окиснюється в піруват у зворотній лактатдегідрогеназній реакції (цикл Корі). Частина пірувату використовується в гліоконеогенезі для відновлення запасів глюкози, а інша частина — окиснюється в циклі Кребса з подальшим синтезом АТФ [32]. Утворена в гліоконеогенезі глюкоза з кров'ю постачається до м'язів для відновлення запасів глікогену [32]. Таким чином, за

рахунок відновлення пірувату в лактат з подальшим його використанням у гліоконеогенезі в печінці (цикл Корі), скелетні м'язи не тільки втрачають «зайву» молочну кислоту, що утворюється в особливо великих кількостях при інтенсивних фізичних навантаженнях, а й підтримують високе співвідношення НАД⁺/НАДН⁺ необхідне для активного функціонування гліколізу [32]. У наших дослідженнях встановлено, що вміст лактату в крові спортивних коней істотно підвищувався після фізичних навантажень на 12 % ($p < 0,05$), що супроводжувалося незначним підвищенням активності ЛДГ на 3 % ($p > 0,05$) (табл. 1). Істотних змін концентрації пірувату в крові спортивних коней у динаміці фізичних навантажень не спостерігалось. Встановлене нами істотне підвищення концентрації лактату після фізичних навантажень відображає процеси перебігу аеробно-анаеробних реакцій під час тренувань та вказує на рівень енергетичного внеску анаеробного гліколізу в загальний обсяг енергопостачання м'язової діяльності.

Також встановлено зміни загальної антиоксидантної активності (АОА) плазми і еритроцитів спортивних коней під впливом фізичних навантажень. Загальна АОА плазми неістотно знижувалася ($p > 0,05$), натомість еритроцитів — зростала ($p > 0,05$, рис. 3).

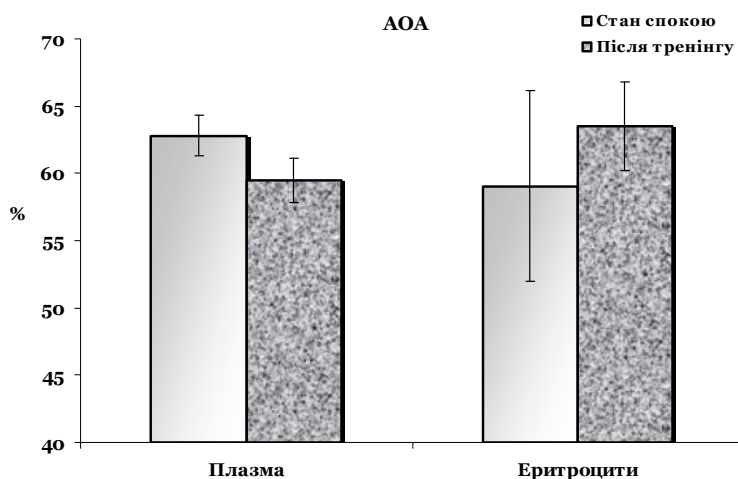
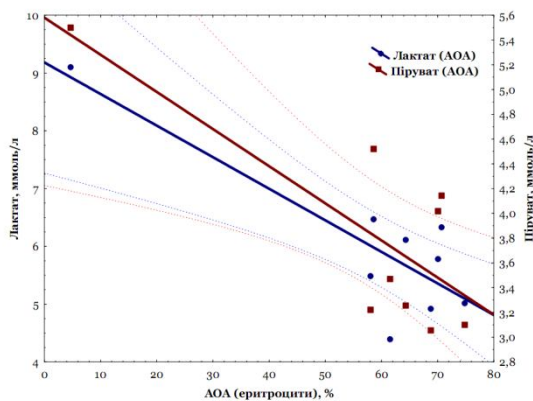


Рис. 3. Загальна антиоксидативна активність (АОА) плазми та еритроцитів крові спортивних коней в стані спокою перед тренуванням та після фізичних навантажень

Отже, можна стверджувати, що систематичні фізичні навантаження триборних коней, спрямовані на тренування у них м'язової сили, жвавості і витривалості, викликають специфічні біохімічні зміни у крові. Проведений кореляційний аналіз між маркерами оксидативного стресу, метаболітами анаеробного гліколізу та загальною антиоксидантною активністю еритроцитів у динаміці тренінгу підтвердив наше припущення.

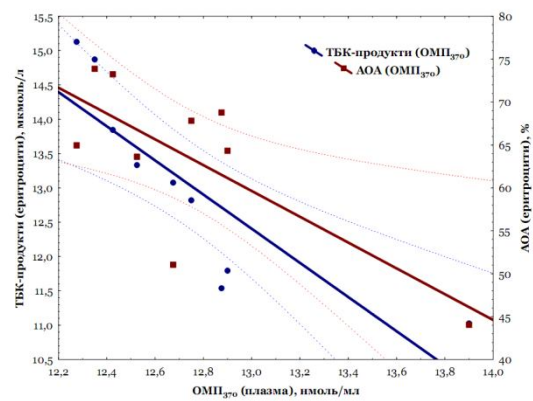
Зокрема, в стані спокою у спортивних коней маркери реакцій анаеробного гліколізу корелюють із загальною АОА еритроцитів (рис. 4А). До

того ж, неістотне підвищення АОА еритроцитів після фізичних навантажень обмежує інтенсивність перебігу оксидативного стресу в організмі спортивних коней, що, вочевидь, зумовлено адаптацією коней до інтенсивних фізичних тренувань. Встановлене істотне зменшення вмісту альдегідних похідних (ОМП₃₇₀) плазми після фізичних навантажень корелює з загальною АОА еритроцитів (рис. 4Б). Разом з тим, як показує кореляційний аналіз, рівень альдегідних похідних ОМП плазми після фізичних навантажень обернено корелює з вмістом ТБК-активних продуктів в еритроцитах.



AOA(еритроцити):Лактат $y=9,18-0,05*x$;
 $r=-0,847$; $p=0,004$; $r^2=0,717$
 AOA(еритроцити):Піруват $y=5,58-0,03*x$;
 $r=-0,777$; $p=0,014$; $r^2=0,603$

А



ОМП₃₇₀(плазма):ТБК-родукти(еритроцити)
 $y=44,75-2,49*x$; $r=-0,849$; $p=0,004$; $r^2=0,722$
 ОМП₃₇₀(плазма):АОА(еритроцити)
 $y=255,17-15,04*x$; $r=-0,741$; $p=0,022$; $r^2=0,549$

Б

Рис. 4. Кореляційні залежності між вмістом метаболітів анаеробного гліколізу та загальною антиоксидантною активністю еритроцитів у стані спокою перед тренуванням (А) та вмістом маркерів оксидативного стресу і загальною антиоксидантною активністю еритроцитів у крові коней після тренування (Б)

Висновки

Після фізичних навантажень виявлено істотне підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у крові триборних коней, що вказує про розвиток оксидативного стресу, викликаного інтенсивним тренуванням значного об'єму. Суттєве зменшення вмісту альдегідних похідних змодифікованих протеїнів плазми у спортивних коней після фізичних навантажень свідчить про ефективну адаптацію їх організму до систематичних

тренувань, що супроводжується, вочевидь, активацією протеолітичної деградації білкових молекул. Разом з тим, суттєве зниження активності амінотрансфераз вказує на високий рівень тренуваності триборних коней та їх адаптаційні можливості до фізичних навантажень великого об'єму та інтенсивності. Встановлене нами істотне підвищення концентрації лактату у крові спортивних коней після фізичних навантажень відображає процеси перебігу аеробно-анаеробних реакції під час тренувань та

вказує на рівень енергетичного внеску анаеробного гліколізу у загальний обсяг енергопостачання м'язової діяльності. Проведений нами кореляційний аналіз між вмістом маркерів оксидативного стресу показав залежності в обмеженні розвитку оксидативного стресу за рахунок активації антиоксидантної активності в тренуваних коней після фізичних навантажень.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження особливостей перебігу метаболічних процесів, пов'язаних з функціонуванням систем енергозабезпечення м'язової діяльності та інтенсивністю процесів ліпопероксидації в спортивних коней у динаміці систематичних тренувань, залишається актуальним, оскільки дозволяє вивчати адаптаційні процеси до фізичних навантажень різного об'єму та інтенсивності, оцінювати рівень тренуваності та визначати чинники, що лімітують їх роботоздатність. Подальше дослідження цих процесів сприятиме науковому обґрунтуванню оцінки адекватності фізичних навантажень та розробки ефективних корегувальних тренувальних програм спортивних коней.

Acknowledgments

This study was carried out during Anastasiia Andriichuk Scholarship Program supported by The International Visegrad Fund in the Department of Animal Physiology, Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University (Slupsk, Poland). We thank to The International Visegrad Fund for the support of our study.

1. Laskov A. A. *Podgotovka loshadej k olimpijskim vidam konnogo sporta* [The training of horses for equestrian Olympic kinds of sports]. VNII konevodstva, 1997. 241 p. (In Russian).

2. Nerodenko V. V. *Biologicheskie osnovy sportivnoj trenirovki v konnom sporte* [Biological basis of sports training in equestrian sports]. Cherkassy, Jantar'-Cherkassy Publ., 2009. 412 p. (In Russian).

3. Andriichuk A. V., Vartovnyk M. S. *Tehnologija sportyvnoho treningu konej na bazi dytjacho-junackoi sportyvnoi shkoly z kinnogo*

sportu «Burevisnyk» Lvivskoi oblasti [Horse training technology on the basis of «Burevisnyk» riding school for teenagers located in Lvov area]. *Naukovo-tehnichnyj bjuleten IT NAAN Ukrainy — Scientific and technical bulletin of Institute of animal science of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine*, 2010, no 103, pp. 16–25 (in Ukrainian).

4. Trach V., Svystun Ju., Guziy O. *Energetyka mjazovoi dijalnosti, zasoby ii polipshennja ta pidvyshhennja pracezdatnosti sportsmeniv* [Muscular energy activity, methods of its improvement and efficiency capacity]. *Sportyvna nauka Ukrainy — Sport science of Ukraine*, 2012, no 3 (47), pp. 15–23 (in Ukrainian).

5. Anderson M. G. The influence of exercises on serum enzyme levels in the horses. *Equine Veterinary Journal*, 1975, no 7, pp. 1605.

6. Radak Z., Young Chung H., Goto S. Systematic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, 2008, vol. 44, pp. 153–159.

7. Kedzierski W., Bergero D., Assenza A. Trends of hematological and biochemical values in the blood of young race horses during standardized field exercise. *Acta Veterinaria (Beograd)*, 2009, vol. 59, no 5–6, pp. 457–446.

8. Harris P. A., Marlin D. J., Gray J. Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in throughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. *Veterinary Journal*, 1998, vol. 155, no 3, pp. 295–304.

9. Muñoz A., Riber C., Santisteban R., Lucas R. G., Castejón F. M. Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian horses. *Equine Veterinary Journal*, 2002, no 34, pp. 245–251.

10. Padalino B., Rubino G., Centoducati P., Petazzi F. Training versus Overtraining: evaluation of protocols. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2007, vol. 27, no 1, pp. 28–31.

11. Deaton C. M., Marlin D. J. Exercise-associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Pract*, 2003, no 2, pp. 278–291.

12. Art T., Lekeux P. Exercise-induced physiological adjustments to stressful conditions in sports horses. *Livestock Production Science*, 2005, vol. 92, pp. 101–111.

13. Chiaradia E., Avellini L., Rueca F., Spaterna A., Porciello F., Antonioni M. T., Gaiti A. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. *Comparative Biochemistry*

and Physiology, Part B, Biochemistry and Molecular Biology, 1998, vol. 119, pp. 833–836.

14. Kirschvink N., de Moffarts B., Lekeux P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*, 2008, vol. 177, pp. 178–191.

15. Andriichuk A. V., Tkachova I. V., Tkachenko H. M., Kurhaluk N. M. Markery oksydatyvnoho stresu u konej, shho vykorystovujutsja u vyizdci v dynamici treningu [Oxidative stress markers in training dressage horses]. *Pryrodnychyj al'manah. Biologichni nauky, zbirnyk naukovykh prac —Nature Almanac. Life Sciences, a collection of scientific papers*, 2012, vol. 17 no 3, 32–43 (in Ukrainian).

16. Andriichuk A. V., Tkachova I. V., Tkachenko H. M., Kurhaluk N. M., Matiukha I. Vplyv treningu na pokaznyky oksydatyvnoho stresu u konej golshtynskoi porody [Influence of training on oxidative stress markers in sport horses of holstein breed]. *Biolohiya tvaryn — The Animal Biology*, 2013, vol. 15, no. 1, pp. 9–18 (in Ukrainian).

17. Kamyshnikov V. S. Spravochnik po kliniko-biohimicheskim issledovaniyam i laboratornoj diagnostike [Reference book on clinic and biochemical researches and laboratory diagnostics]. Moscow, MEDpress-inform, 589 p. (in Russian).

18. Levine R. L., Garland D., Oliver C. N., Amici A., Climent I., Lenz A.-G., Ahn B.-W., Shaltiel S., Stadtman E. R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 1990, no 186, pp. 465–478.

19. Gerasymov I. G., Plaksina O. M. Nefermentatyvne vyznachennja laktatu ta piruvatu v odnij probi krovi [Not enzymatic determination of lactate and pyruvate in a single blood sample]. *Labaratorna diagnostyka — Laboratory diagnostic*, 2002, no 2, pp. 46–47 (in Ukrainian).

20. Halaktionova L. P., Molchanov A. V., Elchaninova S. A., Varshavskij B. Ja. Sostojanie perekisnogo okislenija bolnyh s jazvennoj boleznju zheludka i dvenadcatiperstnoj kishki [The lipid peroxidation processes in patients with ulcerous illness of stomach and duodenum]. *Klin. Lab. Diagnostika — Clinical Laboratory Diagnostics*, 1998, no 6, 10–14 (in Russian).

21. Zar J. H. Biostatistical Analysis. *Fourth ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc.*, 4th ed., Englewood Cliffs, 1999.

22. Çimen Burak M. Y. Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clinica Chimica Acta*, 2008 no 390, pp. 1–11.

23. Gondim F. J., Zoppi C. C., Silveira L. R., da-Silva L. P., de Macedo D. V. Possible relationship between performance and oxidative stress in endurance horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2009, vol. 29, no 4, pp. 206–212.

24. Stadtman E. R., Levine R. L. Protein oxidation. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 2000, vol. 899, pp. 191–208.

25. Kolisnyk M. I., Kolisnyk I. V., Nidzjulka Je., Vlizlo V. V. Aktyvni formy kysnju ta ih rol u metabolizmi klityn [Oxygen active forms that their role in cells metabolism]. *Biologija tvaryn —The animal biology*, 2009, vol. 11, no 1–2, 59–71(in Ukrainian).

26. Radák Z., Ogonovsky H., Dubecz J., Pavlik G., Sasvari M., Pucsok J., Berkes I., Csont T. Super-marathon rice increases serum and urinary nitrotyrosine and carbonyl level. *European Journal of Clinical Investigation*, 2003, no 33, pp. 726–730.

27. Stadman E. R. Metal, ion-catalyzed oxidation of protein: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Biology and Medicine*, 1991, vol. 10, no 3–4, pp. 249.

28. Vollaard N. B. J., Reedera B. J., Shearmana J. P., Menub P., Wilsona M. T., Coopera C. E. A new sensitive assay reveals that hemoglobin is oxidatively modified in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 2005, vol. 39, pp. 1216–1228.

29. Fazio F., Assenza A., Tosto F., Cassela S., Piccione G., Caola G. Training and haematological profile in Thoroughbreds and Standardbreds: a longitudinal study. *Livestock Journal*, 2011, no 141, pp. 221–226.

30. Hosoya M., Inoue A., Kimura N., Arai T. Enzyme activities in some types of peripheral leukocytes of thoroughbred race horses before and after the race. *Research in Veterinary Science*, 2004, no 77, pp.101–104.

31. Szarska E. Evaluation the fitness of horses during three-day competition. *Med Wet*, 1994, no 50, pp. 274–276.

32. Gubskij Ju. I. Biologichna himija: Pidruchnyk [Biological Chemistry: A Textbook]. Kyiv–Ternopil, Ukrmedknyga, 2000. 508 p. (In Ukrainian).