

... ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН ...
... PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS ...

УДК: 636.1:591.111

Динаміка гематологічних показників та маркерів оксидативного стресу у коней української верхової породи під впливом фізичних навантажень
А.В.Андрійчук¹, Г.М.Ткаченко², Н.М.Кургалюк², І.В.Ткачова¹

¹*Інститут тваринництва Національної академії аграрних наук України (Харків, Україна)*

²*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University (Slupsk, Poland)*
anastasia.pohlyad@gmail.com; biology.apsl@gmail.com

Проаналізовані зміни гематологічних показників та маркерів оксидативного стресу в крові коней української верхової породи спортивного напрямку роботоздатності в динаміці тренувань. Встановлені достовірні зміни показників червоної крові та субпопуляції лейкоцитів у коней після фізичних навантажень. Виявлено істотне зниження вмісту ТБК-активних продуктів в еритроцитах, дієнових кон'югатів та продуктів окисної модифікації білків плазми коней після тренувань, що свідчить про розвиток у них ефективних адаптаційних процесів в напрямку зменшення інтенсивності оксидативного стресу. Кореляційний аналіз залежності між вмістом маркерів оксидативного стресу та гематологічних показників показав, що інтенсивність ліпопероксидації безпосередньо пов'язана із змінами показників червоної крові у спортивних коней під впливом тренувань.

Ключові слова: гематологічні показники, оксидативний стрес, перекисне окиснення ліпідів, оксидативна модифікація білків, дієнові кон'югати, молекули середньої маси, тренінг, українська верхова порода коней.

Динамика гематологических показателей и маркеров окислительного стресса у лошадей украинской верховой породы под влиянием физических нагрузок

А.В.Андрійчук, Г.М.Ткаченко, Н.М.Кургалюк, І.В.Ткачова

Исследованы изменения гематологических показателей и маркеров окислительного стресса в крови лошадей украинской верховой породы спортивного направления работоспособности в динамике тренировок. Установлены достоверные изменения показателей красной крови и субпопуляции лейкоцитов у лошадей после физических нагрузок. Установлено существенное снижение содержания ТБК-активных продуктов в эритроцитах, диеновых конъюгатов и продуктов окислительной модификации белков плазмы лошадей после физических нагрузок, что свидетельствует о развитии у них эффективных адаптационных процессов к систематическим тренировкам в направлении уменьшения интенсивности окислительного стресса. Корреляционный анализ зависимости между маркерами окислительного стресса и гематологическими показателями показал, что интенсивность процессов липопероксидации непосредственно связана с изменениями показателей красной крови у спортивных лошадей под влиянием тренировок.

Ключевые слова: гематологические показатели, окислительный стресс, перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков, диеновые конъюгаты, молекулы средней массы, тренинг, украинская верховая порода лошадей.

Dynamics of hematological parameters and oxidative stress markers in Ukrainian warmblood horses under exercise influence

A.V.Andriichuk, H.M.Tkachenko, N.M.Kurhaluk, I.V.Tkachova

The aim of this study was to analyze changes of the oxidative stress markers (levels of malonic dialdehyde, lipid hydroperoxides, middle molecules, aldehyde and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins) and hematological parameters in Ukrainian warmblood horses under the training. Significant changes in counts of red blood cells, hemoglobin, hematocrit and subpopulations of leukocytes, as well as platelets after the exercises

were observed. This could indicate about adaptive responses of the blood system to maintain homeostasis to systematic training and physical activity. There was significant decrease in the thiobarbituric acid reactive substrates (TBARS) content and the lipid hydroperoxides level in the erythrocytes and plasma of Ukrainian warmblood horses after training. Significant decrease of the aldehyde derivatives of protein oxidation level in the plasma after training occurred. The level of oxidative stress markers and hematological parameters of sport horses can be sensitive and informative indicators for the assessment of horse's performance.

Key words: *hematological parameters, oxidative stress, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins, lipid hydroperoxides, middle molecules, training, Ukrainian warmblood horses.*

Вступ

Рухова діяльність коней, призначених для використання в класичних видах кінного спорту (конкур, виїздка, триборство) пов'язана з великими фізичними та психічними навантаженнями (Ласков, 1997; Нероденко, 2009). Видові та фізіологічні особливості коней роблять їх унікальними тваринами для використання в спорті, втім їх психічна організація вимагає від вершників-спортсменів дуже делікатного та дбайливого до себе ставлення. Практика тренувань і випробувань коней призового та спортивного напрямку роботоздатності, ускладнення умов спортивних змагань вимагають створення сучасних науково-обґрунтованих систем підготовки коней, призначених для використання в класичних видах кінного спорту та пошуку об'єктивних методів оцінки рівня тренуваності їх організму. Вирішення цих питань можливе лише при глибокому вивченні процесів обміну речовин, що лежать в основі адаптаційних реакцій тварин. Власне тому дослідження процесів адаптації до систематичних фізичних навантажень спортивних коней і своєчасна корекція функціональних розладів, викликаних перетренуванням коней, залишається доволі актуальним завданням.

Система крові є однією з найважливіших інтегральних систем організму, елементи якої є чутливими до різних зовнішніх впливів (Нероденко, 2009; Радченко, 2004). Тому метод аналізу складу периферійної крові є важливою складовою ветеринарного обстеження спортивних коней (Бондар, 2009, 2010; Piccione et al., 2007). Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що гематологічні показники, як і маркери оксидативного стресу, в крові коней різних порід істотно відрізнялися між собою. Це може свідчити про напруження перебігу адаптаційних реакцій з метою підтримання гомеостазу в залежності від генотипових і паратипових чинників (Андрійчук та ін., 2012; Andriichuk et al., 2012).

Відомо, що при розвитку стресу як загального неспецифічного адаптаційного синдрому спостерігається інтенсифікація вільнорадикального окиснення (Радченко, 2004). При цьому відбувається активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), яке розвивається у відповідь на виснажливі фізичні навантаження (Deaton, Marlin, 2003). З літературних джерел відомо, що вміст маркерів оксидативного стресу та активність ферментів антиоксидантного захисту (АОЗ) можуть бути доволі чутливими показниками відповідності обсягів фізичних навантажень функціональним можливостям організму спортивних коней (Антонов, 2010; Marlin et al., 2002; Kinnunen et al., 2005; Kirschvink et al., 2008). 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 (Андрійчук та ін., 2012). Нами також виявлено, що у спортивних коней під впливом фізичних навантажень відбуваються специфічні зміни резистентності мембран еритроцитів до дії різноманітних гемолітичних чинників (Андрійчук та ін., 2012). Тому чітка діагностика функціонального стану організму спортивних коней, особливо при інтенсивних фізичних навантаженнях в змагально-тренувальний період, необхідна для оцінки ступеня перетренування та загрози розвитку різноманітних патологічних змін у системах та органах. Зважаючи на актуальність даної проблеми, ми поставили собі за мету проаналізувати зміни гематологічних показників та маркерів оксидативного стресу у крові спортивних коней української верхової породи у динаміці фізичних навантажень. Для реалізації цієї мети були поставлені наступні завдання: 1) проаналізувати зміни гематологічних показників у стані спокою та після фізичних навантажень; 2) оцінити вміст продуктів ПОЛ (дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду), молекул середньої маси і карбонільних похідних оксидативної модифікації білків (ОМБ) у крові коней в стані спокою перед тренуванням та після тренінгу; 3) встановити кореляційні залежності між основними гематологічними показниками та маркерами оксидативного стресу в динаміці тренувань.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом досліджень було 25 клінічно здорових спортивних коней 8–15-річного віку української верхової породи (УВП) (кобили, жеребці, мерини) (рис. 1), які активно використовувалися у класичних видах кінного спорту (конкур, виїздка, триборство). Коні утримувалися на базах ДЮСШ з кінного спорту «Буревісник», кінноспортивних клубів «Вікторія» та «Ластівка» (м. Львів) та брали активну участь у кінноспортивних змаганнях різних рівнів. Умови годівлі дослідних коней були однаковими, до того ж всі тварини перебували у довготривалому спортивному тренінгу.



Рис. 1. Жеребець української верхової породи

Для визначення гематологічних показників та вмісту маркерів оксидативного стресу у крові спортивних коней в динаміці тренінгу всіх дослідних тварин піддавали фізичному навантаженню середнього об'єму та середньої інтенсивності, зокрема: рух кроком – 5 хв., рух риссю – 10 хв., рух кроком – 10 хв., рух риссю – 10 хв., рух кроком – 5 хв., рух на галопі – 10 хв., рух кроком – 10 хв (Нероденко, 2009). Тривалість фізичного навантаження становила 1 годину. Кров у коней відбирали з яремної вени у пробірці з антикоагулянтом (K-EDTA, фірма MedLab) двічі: вранці, в стані спокою та одразу ж після тренінгу. Для отримання плазми цільну кров центрифугували впродовж 10 хв при 3000 об./хв. Суспензію еритроцитів отримували промиванням осаду охолодженим фізіологічним розчином трічі. Вміст продуктів, які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-продукти), визначали у крові, плазмі та суспензії еритроцитів. Кетонів та альдегідні похідні ОМБ визначали в суспензії еритроцитів та в плазмі. Вміст молекул середньої маси та дієнових кон'югатів визначали у плазмі крові.

Дослідження гематологічних показників проводили з використанням аналізатора для ветеринарії ABACUS Junior Vet (Diatron, Австрія). Вивчали наступні показники крові: кількість еритроцитів (RBC), середній об'єм еритроцитів (MCV), індекс анізоцитозу (RDWc), вміст гемоглобіну (HGB), середній вміст гемоглобіну в еритроциті (MCH), середню концентрацію гемоглобіну в еритроцитах (MCHC), гематокрит (HCT), кількість тромбоцитів (PLT), тромбоцитрит (PCT%), середній об'єм тромбоцитів (MPV), розподіл тромбоцитів (PDWc), кількість лейкоцитів (WBC) з диференціюванням на три субпопуляції – лімфоцити (LYM), гранулоцити (GRA), моноцити, еозинофіли, базофіли та їх попередники (MID). Отримані значення гематологічних показників порівнювали із реферативними значеннями аналізатора для ветеринарії ABACUS Junior Vet.

ТБК-активні продукти оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) та виражали у мкмоль/л (Камышников, 2004). Рівень окиснювального пошкодження білків оцінювали в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином (Levine et al., 1990). Вміст альдегідних (ОМБ₃₇₀) і кетонів похідних (ОМБ₄₃₀) оксидативної модифікації білків розраховували, використовуючи коефіцієнт поглинання 22000 ммоль⁻¹·см⁻¹ і виражали в нмоль/мл (Levine et al., 1990). Вміст дієнових кон'югатів визначали в плазмі з використанням суміші гептан-ізопропанол в кислому середовищі (рН 2,0). Після відстоювання і розшарування суміші, в гептановому шарі визначали вміст дієнових кон'югатів за ступенем світлопоглинання в ультрафіолетовій ділянці спектра та виражали у А₂₃₃/мл (Камышников, 2004).

Концентрацію середніх молекул у сироватці крові визначали спектрофотометричним методом та виражали у мг/л. Метод базується на осадженні високомолекулярних білків плазми крові з використанням хлорної кислоти та етилового спирту з наступною фотометрією при довжині хвилі 210 нм (Камышников, 2004). Усі лабораторні дослідження проводили на кафедрі фізіології тварин Інституту біології та охорони середовища Поморської Академії (м. Слупськ, Польща) в 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 Колмогорова-Смірнова і Лілліфорса, обраховували середнє арифметичне значення та похибку. Вірогідність різниць між групами тварин до і після фізичного навантаження визначали за відхиленням критерія Вілкоксона ($p < 0,05$). Кореляційні залежності між досліджуваними параметрами оцінювали за допомогою коефіцієнтів ранг Спірмена (Zar, 1999).

Результати та обговорення

Спеціалізованими постачальниками кисню до працюючих м'язів, органів і тканин є еритроцити, від функціонального стану яких залежить ефективність їх транспортної функції (Rubio et al., 1996; Wickle, Anderson, 2000; Brun et al., 2007; Satue et al., 2012; Andriichuk et al., 2012). В зв'язку з цим, першим етапом наших досліджень був аналіз змін показників червоної крові коней УВП в динаміці тренувань (табл. 1).

Таблиця 1.

Показники червоної крові коней української верхової породи в динаміці фізичних навантажень ($M \pm m$, $n=25$)

Гематологічні показники	В стані спокою перед тренуванням	Після тренування	Реферативні значення
Кількість еритроцитів (RBC), $\cdot 10^{12}/л$	7,89 \pm 0,16	9,22 \pm 0,25*	6,8–12,9
Концентрація гемоглобіну (HGB), г/л	12,33 \pm 0,20	14,69 \pm 0,43*	11–19
Гематокрит (HCT), %	34,38 \pm 0,52	40,39 \pm 1,10*	32–53
Середній об'єм еритроцитів (MCV), фл	43,68 \pm 0,38	43,91 \pm 0,47	37–59
Середня маса гемоглобіну в 1 еритроциті (MCH), пг	15,69 \pm 0,17	17,88 \pm 1,95	12,3–19,7
Середня концентрація гемоглобіну в 1 еритроциті (MCHC), г/л	35,28 \pm 0,58	35,42 \pm 0,88	31–39
Показник анізоцитозу еритроцитів (RDW), %	19,85 \pm 0,84	21,01 \pm 0,14	11–17

Примітка: в цій та інших таблицях і рисунках, * – статистично істотні зміни ($p < 0,05$) між показниками, отриманими до і після фізичного навантаження.

Резистентність та адаптацію забезпечує система крові, яка виступає клінічним показником стану організму, здійснює імунний нагляд та є ефектором різних адаптаційно-трофічних впливів (Радченко, 2004). В результаті проведених нами досліджень було з'ясовано, що всі гематологічні параметри дослідних коней знаходилися в межах норми. Однак отримані нами результати свідчать, що систематичні фізичні навантаження суттєво впливають на показники крові коней УВП спортивного напрямку роботоздатності. Фізичні навантаження, які виконують спортивні коні впродовж тренувального макроциклу, супроводжуються значними витратами енергії, для відновлення запасів якої необхідний кисень, який в енергетичному обміні виконує функцію акцептора електронів (Deaton, Marlin, 2003; Brun et al., 2007). Разом з тим, резерви кисню в м'язових клітинах може утворювати міоглобін м'язів, як O_2 -зв'язуючий білок (Masuda et al., 1999). Міоглобін м'язів має в 5 разів більшу спорідненість до кисню, ніж гемоглобін (Masuda et al., 1999). Кількісні зміни вмісту міоглобіну в скелетних м'язах під впливом фізичних навантажень було вивчено у тварин (Hickson et al., 1984) та людей (Masuda et al., 1999). Вміст міоглобіну скелетних м'язів щурів істотно підвищувався під впливом тренувань на витривалість (Hickson et al., 1984). Натомість систематичний тренінг на витривалість у людей не спричинював значних змін кількості міоглобіну скелетних м'язів (Masuda et al., 1999).

Нашими дослідженнями встановлено зростання всіх показників червоної крові у досліджуваних коней після фізичних навантажень. Зокрема, кількість еритроцитів після тренувань істотно збільшувалася на 17% ($p < 0,05$), подібно їй підвищувалася концентрація гемоглобіну на 19% ($p < 0,05$) та зростали значення гематокриту (на 17,5%, $p < 0,05$). Наші дослідження узгоджуються з літературними даними (Бондар, 2010; Rubio et al., 1996; Wickle, Amderson, 2000; Satue et al., 2012; Andriichuk et al., 2012), згідно яких кількість еритроцитів, концентрації гемоглобіну та гематокриту закономірно збільшуються під впливом фізичних навантажень у зв'язку з необхідною потребою інтенсивного постачання кисню до працюючих м'язів.

Відомо, що у коней близько 30% еритроцитів депонуються в селезінці (Satue et al., 2012). В результаті фізичних навантажень частина з них мігрує у кров'яне русло, що призводить до зростання вмісту гемоглобіну, необхідного для виконання киснево-транспортної функції. Збільшення гематокриту після фізичних навантажень закономірно пов'язане із збільшенням кількості еритроцитів та гемоглобіну, що необхідні для підвищення аеробного метаболізму у спортивних коней з метою поновлення енергетичних запасів. З літературних джерел також відомо, що гематологічні показники тренуваних і нетренуваних коней можуть зазнавати циркадіонних та сезонних коливань (Piccione et al., 2001; Satue et al., 2012). Зокрема, у спортивних коней найбільша кількість еритроцитів, лейкоцитів та вміст гемоглобіну спостерігалися у полудневі і обідні години дня – 12⁰⁰–14⁰⁰ (Piccione et al., 2001). Щоправда, циркадіонні коливання показників крові можуть різнитися у коней різних порід. Зокрема, Gill та Rastawicka (1986) спостерігали вищий вміст гемоглобіну та гематокриту у арабських чистокровних коней в нічні години доби порівняно з денними показниками (Gill, Rastawicka, 1986). Загальна кількість лімфоцитів у англійських чистокровних скакових коней була вищою в нічні години доби порівняно з денними показниками (Satue et al., 2012). Такі циркадіонні коливання гемограми зумовлені змінами у виділенні ендогенних кортикостероїдів впродовж доби (Satue et al., 2012).

Інтенсивність фізичних навантажень та фактори оточуючого середовища викликають значне потовиділення у коней, що може призвести у них до зниження об'єму плазми (Нероденко, 2009). Зменшення об'єму плазми крові викликає гемоконцентрацію. У такому стані клітинні і білкові фракції складають значну частину об'єму крові, з чим пов'язане неістотне зростання у наших дослідних коней значень середнього об'єму еритроцитів (MCV) і показника анізоцитозу еритроцитів (RDW), що також призводить до збільшення значень гематокриту. Як показано в табл. 1, після фізичних навантажень у спортивних коней в одиниці об'єму крові істотно зростає кількість еритроцитів і гемоглобіну, що відповідно призводить до неістотного підвищення показників середньої маси гемоглобіну в еритроциті (MCH) та середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (MCHC).

Дані літератури свідчать, що динамічні зміни популяції лейкоцитів забезпечують підтримку гомеостазу та життєдіяльність організму (Радченко, 2004; Satue et al., 2012). Кількість лейкоцитів може змінюватися впродовж дня під дією різних чинників, не виходячи при цьому за межі референтних значень. Фізіологічний лейкоцитоз виникає за рахунок міграції лейкоцитів у кров'яне русло з депо (після прийому кормів, фізичних навантажень, в другій половині дня, а також при стресах, дії холоду та тепла) (Satue et al., 2012). Реактивний і фізіологічний лейкоцитоз забезпечується активацією симпатoadреналової системи, перерозподілом циркулюючого пулу нейтрофілів та мобілізацією кісткового мозку (Satue et al., 2012). У більшості коней одразу після інтенсивних фізичних навантажень загальна кількість лейкоцитів незначно збільшується. У відновному періоді кількість лейкоцитів продовжує збільшуватися і за годину після тренувань може перевищувати вихідні значення до 21%, забезпечуючи захист організму від можливих травм, отриманих під час фізичних навантажень (Нероденко, 2009; Satue et al., 2012). Результати проведених нами досліджень підтверджують кількісні і якісні зміни популяції клітин білої крові (табл. 2).

Як засвідчують наші дані, абсолютна кількість лейкоцитів і лімфоцитів неістотно збільшувалась після фізичних навантажень коней. З літературних джерел відомо, що зміни загальної кількості лейкоцитів під впливом фізичних навантажень залежать власне від типу тренувань. Скачки на короткі дистанції викликають у коней лейкоцитоз з лімфоцитозом, що пов'язано із вивільненням катехоламінів та виходом клітин крові із селезінки (Satue et al., 2012). Вправи на витривалість з довго-дистанційними пробігами пов'язані у коней з лейкоцитозом, а саме з нейтрофілією. Автори пов'язують таку відповідь з підвищенням в крові циркулюючих кортикостероїдів під час фізичних навантажень (Satue et al., 2012). У коней, які проходили виснажливі довгодистанційні пробіги, спостерігався зсув лейкоцитарної формули вліво та значне збільшення лімфоцитів в крові (Trigo et al., 2010). З літературних джерел також відомо,

що загальна кількість лейкоцитів незначно змінюється у коней після тренувань на жвавість чи витривалість (Satue et al., 2012).

Таблиця 2.
Показники білої крові коней української верхової породи в динаміці фізичних навантажень (M±m, n=25)

Гематологічні показники	В стані спокою перед тренуванням	Після тренування	Реферативне значення
Кількість лейкоцитів (WBC), *10 ⁹ /л	7,01±0,32	7,94±0,38	5,4–14,3
Кількість лімфоцитів (LYM), *10 ⁹ /л	1,93±0,14	2,09±0,17	1,5–7,7
Кількість моноцитів та деяких еозинофілів (MID), *10 ⁹ /л	0,16±0,02	0,32±0,04*	0–1,5
Кількість нейтрофілів, базофілів та еозинофілів (GRA),*10 ⁹ /л	4,93±0,25	5,53±0,28	2,3–9,5
Відсотковий вміст лімфоцитів в крові, %	27,49±1,45	26,01±1,55	17–68
Відсотковий вміст моноцитів та деяких еозинофілів, %	2,36±0,33	4,03±0,48*	0–14
Відсотковий вміст гранулоцитів, %	70,15±1,46	69,95±1,76	22–80

Примітка: * – див. табл. 1.

У досліджуваних нами коней після фізичних навантажень спостерігалися зміни морфофункціональних показників субпопуляцій лейкоцитів, що мають короткий період життя, а саме: моноцитів, еозинофілів, базофілів, нейтрофілів. Зокрема, кількість моноцитів і еозинофілів (показник MID) у досліджуваних коней істотно зростала вдвічі ($p < 0,05$). Відповідно істотно підвищувався й відсотковий вміст моноцитів і еозинофілів (на 70%, $p < 0,05$) (табл. 2). Моноцити крові як складова частина системи мононуклеарних фагоцитів беруть участь у процесах запалення та регенерації, у специфічному протиінфекційному захисті, у специфічному клітинному імунітеті (Радченко, 2004; Satue et al., 2012). Еозинофіли фагоцитують комплекси антигену з антитілом з наступним руйнуванням клітин та вивільненням біологічно активних речовин: арилсульфатази, фосфоліпази, фактора агрегації тромбоцитів, простогландину E₂ (Радченко, 2004; Satue et al., 2012). Встановлена нами істотне зростання після фізичних навантажень субпопуляції лейкоцитів (показника MID), яке разом з тим було в межах норми, може свідчити про адаптацію спортивних коней до систематичних фізичних навантажень шляхом активації фагоцитарної ланки імунного захисту їх організму. Наші результати узгоджуються з літературними даними, згідно яких підвищення кількості моноцитів після фізичних навантажень спостерігалось також у людей (Nieman, 2000) та коней (Tyler-McGovan et al., 1999; Andriichuk et al., 2012). Зокрема, кількість моноцитів у коней значно зростала впродовж 34-тижневої тренувальної програми (Tyler-McGovan et al., 1999).

Загальна кількість нейтрофільних гранулоцитів (GRA) у досліджуваних коней незначно підвищувалася після фізичних навантажень. Нейтрофільні гранулоцити складають найчисленнішу популяцію клітин білої крові. Ці клітини є першою ланкою захисту при будь-яких інвазіях та інфекціях (Радченко, 2004; Satue et al., 2012; Andriichuk et al., 2012). Основними характеристиками нейтрофільних гранулоцитів вважаються хемотаксис, адгезивність до клітин та бактерій, ендоцитоз, знешкодження та перетравлення фагоцитованих частинок та мікроорганізмів, екзоцитоз (наявність лізоциму, пероксидази, кислої фосфатази, гіалуронідази), синтез цитокінів (Радченко, 2004). Припускаємо, що у коней УВП адаптаційні механізми до систематичних фізичних навантажень проявляються підвищеною фагоцитарною функцією, екзоцитозом і синтезом цитокінів гранулоцитами. Відсоткове значення лімфоцитів у коней УВП після фізичних навантажень неістотно знижувалося. Наші результати узгоджуються з літературними даними, згідно яких у коней кількість лімфоцитів збільшується під час фізичних навантажень і знижується одразу ж після них (Nesse et al., 2002).

Відомо, що тромбоцити підтримують нормальну структуру і функцію мікросудин, непроникність судинної стінки для еритроцитів, викликають спазм судин при їх пошкодженні завдяки виділенню вазоактивних речовин, забезпечують утворення первинного тромбоцитарного тромба, служать матрицею для антикоагулянтів (прискорюють утворення тромбіну) (Радченко, 2004; Satue et al., 2012;

Andriichuk et al., 2012). Тромбоцити можуть фагоцитувати чужорідні тіла, містять імуноглобулін G та лізоцим, захищають організм від інфекцій при судинних травмах (Радченко, 2004; Satue et al., 2012). Вивчення окремих показників системи зсідання крові представлено в табл. 3.

Таблиця 3.
Тромбоцитарні показники крові коней української верхової породи в динаміці фізичних навантажень (M±m, n=25)

Гематологічні показники	В стані спокою перед тренуванням	Після тренування	Реферативне значення за гематологічним аналізатором
Кількість тромбоцитів (PLT), *10 ⁹ /л	61,46 ±5,02	78,67±5,71*	100–400
Середній об'єм тромбоцитів (MPV)	8,34±0,17	8,98±0,32*	
Ширина розподілу тромбоцитів (PDW), %	33,74±0,48	33,11±0,49	

Примітка: * – див. табл. 1.

З даних табл. 3 видно, що загальна кількість тромбоцитів досліджуваних коней була значно нижчою щодо реферативних значень гематологічного аналізатора, що вочевидь, пов'язане з процесами автоматичного їх підрахунку. Кількість тромбоцитів у автоматичному гематологічному аналізаторі підраховується в одному каналі з еритроцитами, тому важливо, щоб прилад чітко диференціював макротромбоцити від мікроеритроцитів і фрагментів еритроцитів. В нормі у коней кількість тромбоцитів коливається в межах 141–190*10⁹/л (Satue et al., 2012). Втім багато дослідників погоджуються, що технічно доволі важко підрахувати загальну кількість тромбоцитів у коней та оцінити їх зміни під впливом фізичних навантажень (Kingston et al., 2001; Satue et al., 2012). Після фізичних навантажень у досліджуваних коней істотно збільшувалася загальна кількість тромбоцитів на 28% (p<0,05) та середній об'єм тромбоцитів (MPV) на 8% (p<0,05). Наші результати узгоджуються з літературними даними (Satue et al., 2012), згідно яких фізіологічний тромбоцитоз спостерігається у коней після фізичних навантажень. Зокрема, вплив тренувань на кількісні зміни тромбоцитів залежить від інтенсивності фізичних навантажень. Короткотривалі максимальні навантаження викликають значне підвищення кількості тромбоцитів, в той час як помірні, середньої інтенсивності тренування не викликають змін в їх кількості. Загалом, кількісні зміни тромбоцитів під впливом фізичних навантажень різко коливаються від низького до високого рівнів (Satue et al., 2012). Автори пов'язують це із зміною рН крові та її згущенням, що супроводжується змінами концентрації іонізованого кальцію, а відтак й кількості тромбоцитів (Satue et al., 2012).

З літературних джерел відомо, що рівень маркерів оксидативного стресу та активність ферментів антиоксидантного захисту (АОЗ) можуть бути також доволі інформативними показниками адаптаційних можливостей та рівня тренуваності організму коней призового та спортивного напрямку роботоздатності (Антонов, 2010; Андрійчук та ін., 2012; Marlin et al., 2002; Kinnunen et al., 2005; Kirschvink et al., 2008). Продукти ПОЛ та ОМБ, які утворюються в результаті вільнорадикальних реакцій під впливом фізичних навантажень, негативно впливають на функціонування клітин, ініціюючи гальмування процесів біосинтезу білка та реплікації, гідрофілізації мембран, викликають набряк мітохондрій та роз'єднання окисного фосфорилування тощо (Clemens, Waller, 1987; Deaton, Marlin, 2003; Radak et al., 2008). Відтак наступним етапом наших досліджень був аналіз змін маркерів оксидативного стресу, таких як дієнові кон'югати, молекули середньої маси, ТБК-активні продукти, альдегідні та кетоніві похідні ОМБ у досліджуваних коней в динаміці фізичних навантажень.

В результаті проведених нами досліджень встановлено, що вміст дієнових кон'югатів у дослідних коней істотно знижувався після фізичних навантажень на 40% (p<0,05) (рис. 2).

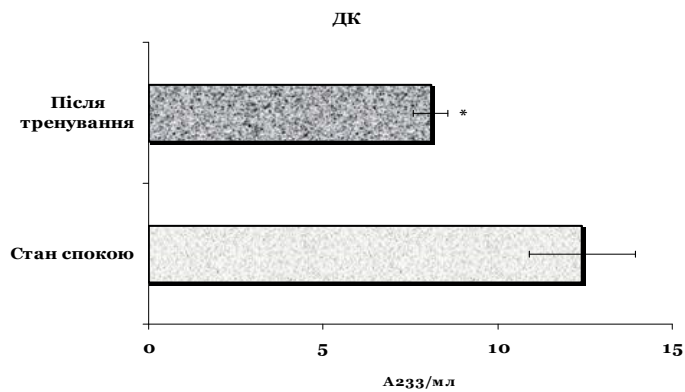


Рис. 2. Вміст дієнових кон'югатів (A₂₃₃/мл) в плазмі коней української верхової породи в динаміці фізичних навантажень

Примітка: * – див. табл. 1.

Оскільки дієнові кон'югати виявляються на стадії утворення вільних радикалів, то встановлене нами істотне зменшення їх рівня в плазмі дослідних коней після тренінгу свідчить про активацію антиоксидантної системи захисту під впливом фізичних навантажень з метою елімінації шкідливих впливів активних форм кисню. Наші попередні дослідження підтверджують це припущення (Андрійчук та ін., 2012). Також в наших попередніх дослідженнях встановлено, що молекули середньої маси (МСМ) можуть бути доволі інформативним показником оксидативного пошкодження та інтенсивності перебігу процесів ПОЛ (Андрійчук та ін., 2012). Циркулюючи в кров'яному руслі, МСМ як продукти метаболізму можуть відігравати роль факторів мікрооточення, що здатні впливати на морфофункціональний стан мембрани еритроцитів, індукуючи оксидативний стрес. Вміст молекул середньої маси у досліджуваних коней після фізичних навантажень істотно зростав на 71% ($p < 0,05$) (рис. 3).

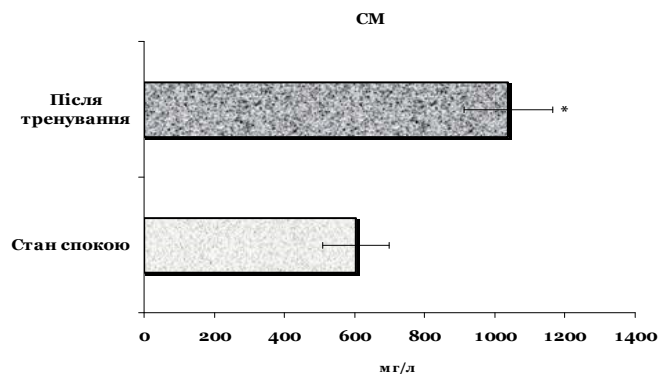


Рис. 3. Вміст молекул середньої маси в плазмі коней української верхової породи в динаміці фізичних навантажень

Примітка: * – див. табл. 1.

З літературних джерел відомо, що при різних патологічних та стресових станах в плазмі крові збільшується вміст МСМ (Андрійчук та ін., 2012). Оскільки фізичні навантаження розглядаються як стресовий чинник в тренінгу спортивних коней, то збільшення вмісту МСМ в їх плазмі після фізичних навантажень, пов'язаний, вочевидь, з відповіддю їх організму на тренінг.

Аналіз вмісту маркерів ПОЛ у крові дослідних коней в стані спокою показав найвищий вміст ТБК-активних продуктів в еритроцитах та в цільній крові – $14,74 \pm 0,39$ і $13,99 \pm 0,83$ мкмоль/л відповідно, натомість найменший – в плазмі – $5,67 \pm 0,44$ мкмоль/л (рис. 4).

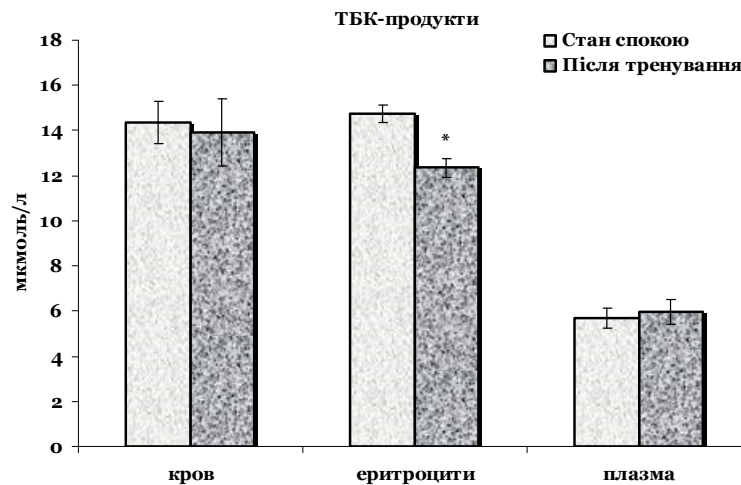


Рис. 4. Вплив фізичного навантаження на вміст ТБК-активних продуктів у крові, плазмі та суспензії еритроцитів спортивних коней української верхової породи

Примітка: * – див. табл. 1.

Встановлений нами найвищий рівень ТБК-активних продуктів в еритроцитах досліджуваних коней, обумовлений, вочевидь, високим вмістом фосфоліпідів в їх мембранах, зміною ліпід-білкових співвідношень і, як наслідок, зміною їх структури (Радченко, 2004; Андрійчук та ін., 2012). Найбільш вразливими до дії вільнорадикального окиснення є мембрани еритроцитів і ендотелію артерій, оскільки вони, володіючи порівняно високим вмістом легкоокиснюваних фосфоліпідів, контактують з відносно великою концентрацією кисню (Радченко, 2004). Натомість після фізичних навантажень спостерігалось істотне зниження вмісту ТБК-активних продуктів в еритроцитах спортивних коней на 16% ($p < 0,05$). Відомо, що під впливом систематичних фізичних навантажень розвиваються адаптаційні процеси, що супроводжуються зниженням інтенсивності оксидативного стресу (Deaton, Marlin, 2003). Зменшення вмісту ТБК-активних продуктів в еритроцитах коней після фізичних навантажень пов'язане, вочевидь, із розвитком ефективних адаптаційних процесів в напрямку уповільнення перебігу інтенсивності оксидативних пошкоджень.

Надмірне посилення вільнорадикальних реакцій під час інтенсивних фізичних навантажень також може викликати порушення архітекτονіки мембран та функціональні зміни клітин внаслідок окисних модифікацій ліпідів, нуклеїнових кислот та білків (Deaton, Marlin, 2003). Модифікація амінокислотних залишків у білках призводить до глибинних змін білкової структури, що проявляється агрегацією та фрагментацією модифікованих білків. Окисна деструкція білків є одним з перших показників пошкодження тканин (Deaton, Marlin, 2003; Radak et al., 2008). Відтак, наступним етапом наших досліджень був аналіз змін вмісту альдегідних і кетонних похідних ОМБ у спортивних коней в динаміці фізичних навантажень (рис. 5).

Нами встановлені різноскеровані зміни значень вмісту альдегідних і кетонних похідних ОМБ у плазмі та еритроцитах коней у стані спокою. Зокрема, найвищий вміст кетонних похідних ОМБ спостерігався у плазмі. Натомість найменший вміст альдегідних похідних нами виявлено в еритроцитах коней в стані спокою (рис. 5). Наші дані вказують на те, що високий рівень похідних модифікації білків плазми є «віддзеркаленням» окиснювальних змін в інших тканинах і органах, а не лише в еритроцитах. Натомість, після фізичних навантажень виявлено суттєве зниження вмісту альдегідних похідних плазми на 4% ($p < 0,05$). Неістотно знижувався також вміст альдегідних та кетонних похідних в еритроцитах на 22% ($p > 0,05$) та 14% ($p > 0,05$) відповідно. Суттєвих змін у вмісті кетонних похідних плазми коней після фізичних навантажень не спостерігалось.

Відомо, що окиснення білків під дією АФК з утворення альдегідних та кетонних похідних є однією з адаптаційних реакцій організму до систематичних фізичних навантажень, яка супроводжується активацією мультикаталітичних протеаз, що вибірково руйнують окиснені протеїни (Radak et al., 2008). Наші результати узгоджуються з літературними даними, згідно яких регулярні фізичні навантаження як у людей, так й у тварин викликають молекулярну адаптацію до негативних впливів активних форм кисню та підвищують резистентність організму до можливих оксидативних

пошкодженнь (Deaton, Marlin, 2003; Radak et al., 2008). Вирішальну роль в цих процесах відіграє активація протеасомного комплексу. Встановлене нами істотне зменшення вмісту альдегідних похідних ОМБ плазми та, разом з тим, неістотне зниження вмісту альдегідних і кетонівих похідних ОМБ еритроцитів спортивних коней після фізичних навантажень свідчить про розвиток ефективних адаптаційних реакцій їх організму до регулярних тренувань, пов'язаних із активацією протеасомного комплексу, який активно деградує ОМБ (Radak et al., 2008).

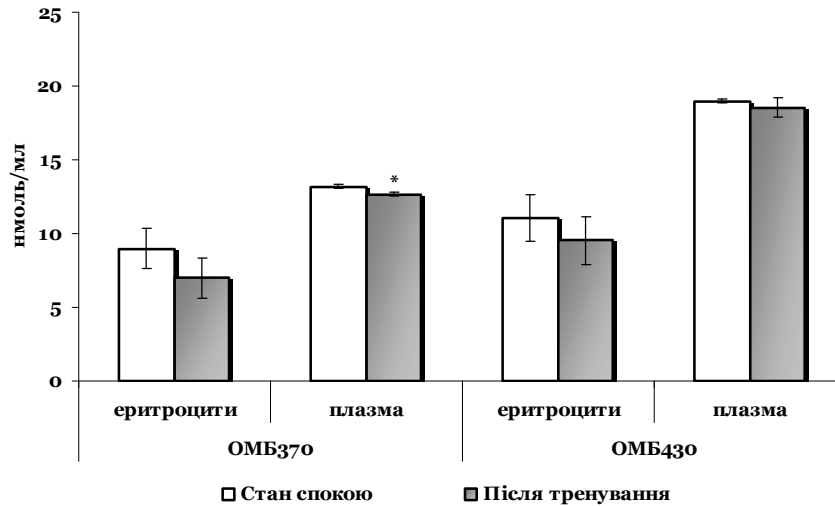


Рис. 5. Рівень альдегідних (ОМБ₃₇₀) та кетонівих (ОМБ₄₃₀) похідних окиснювальної модифікації білків в суспензії еритроцитів та плазмі крові спортивних коней української верхової породи до і після фізичних навантажень

Примітка: * – див. табл. 1.

Як показали результати наших досліджень, у коней УВП тривала адаптація організму до фізичних навантажень супроводжується специфічними змінами показників периферійної крові та інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення. Перебіг оксидативного стресу обумовлюється перш за все особливостями та функціональним навантаженням клітин крові, про що свідчить проведений нами кореляційний аналіз (табл. 4).

Таблиця 4.

Кореляційні залежності між гематологічними параметрами та вмістом маркерів оксидативного стресу у крові коней української верхової породи в динаміці тренінгу

Зв'язок між параметрами	Коефіцієнт кореляції, R	Достовірність, p
	Стан спокою перед тренуванням	
ТБК-активні продукти (кров) – RBC	0,472	0,017
ТБК-активні продукти (кров) – гемоглобін	0,519	0,008
ТБК-активні продукти (кров) – гематокрит	0,550	0,004
ОМБ ₄₃₀ (еритроцити) – ТБК-активні продукти (кров)	0,407	0,043
	Після тренування	
ТБК-активні продукти (кров) – RBC	-0,421	0,045
ТБК-активні продукти (кров) – гематокрит	-0,424	0,044
ТБК-активні продукти (кров) – МСНС	0,431	0,040
ТБК-активні продукти (кров) – ТБК-активні продукти (плазма)	0,454	0,030
ТБК-активні продукти (еритроцити) – МСНС	0,422	0,045
ТБК-активні продукти (кров) – ОМБ ₄₃₀ (еритроцити)	0,585	0,003

Зокрема, вміст ТБК-активних продуктів у крові спортивних коней у стані спокою безпосередньо пов'язаний із загальною кількістю еритроцитів ($r=0,472$; $p=0,017$), з вмістом гемоглобіну ($r=0,519$; $p=0,008$) та гематокриту ($r=0,550$; $p=0,004$). Вихідний рівень кетонних похідних ОМБ еритроцитів також пов'язаний з вмістом ТБК-активних продуктів ($r=0,407$; $p=0,043$) в крові спортивних коней в стані спокою. Після фізичних навантажень суттєве підвищення еритроцитів ($r=-0,421$; $p=0,045$) і гематокриту ($r=-0,424$; $p=0,044$) не опосередковувало значних змін у вмісті ТБК-активних продуктів в крові. Натомість підвищення середньої концентрації гемоглобіну в одному еритроциті (MCHC) безпосередньо було пов'язане із інтенсивністю процесів ліпопероксидації в еритроцитах під впливом фізичних навантажень ($r=0,422$; $p=0,045$). Інтенсивність перебігу оксидативного стресу в крові коней під впливом тренінгу спряжене із оксидативною модифікацією білків в еритроцитах ($r=0,585$; $p=0,003$).

Відтак, як свідчать результати наших досліджень, інтенсивність перебігу оксидативного стресу у спортивних коней в динаміці фізичних навантажень опосередковується кількісними змінами показників червоної крові та гемоглобіну. Еритроцити сприйнятливі до оксидативного пошкодження в результаті високого вмісту поліненасичених жирних кислот в їхніх мембранах і високого вмісту кисню і гемоглобіну – потенційно сильних активаторів вільнорадикальних процесів (Clemens, Waller, 1987). З літературних джерел відомо, що залізовмісні білкові молекули, навіть при незначному оксидативному пошкодженні, сприйнятливі до дії вільнорадикальних перетворень (Stadman, 1991). Гемові групи білків (гемоглобін і міоглобін) містять залізо змінної валентності, яке робить їх особливо чутливими до дії активних форм кисню (Vollaard et al., 2005). Хоча структура ланцюга глобіну дозволяє ему зв'язувати кисень з мінімальним ступенем окиснення двовалентного заліза до трьохвалентного, тим не менше, за таких умов можливе автоокиснення самого трьохвалентного заліза (Vollaard et al., 2005). Незважаючи на те, що низькі концентрації окисленого заліза ему присутні в організмі за нормальних умов у формах метгемоглобіну і метміоглобіну, така форма заліза в результаті автоокиснення може реагувати з пероксидами, спричинюючи окисну модифікацію молекули гемоглобіну (Vollaard et al., 2005). Відтак, встановлений за допомогою статистичного аналізу позитивний кореляційний зв'язок між рівнем оксидативної модифікації білків еритроцитів та вмістом ТБК-активних продуктів крові свідчить про взаємозв'язок перебігу оксидативних пошкоджень клітинних і субклітинних структур крові.

Висновки

1. Зміни у системі крові коней спортивного напрямку роботоздатності обумовлені рівнем їх тренуваності та розвитком певних адаптаційних процесів. Істотне збільшення загальної кількості еритроцитів, гемоглобіну і гематокриту після фізичних навантажень пов'язане із виходом червоних клітин крові з депо, що необхідне для забезпечення постачання кисню до працюючих м'язів і органів.

2. Зміни субпопуляції лейкоцитів коней української верхової породи у динаміці тренувань характеризуються істотним підвищенням загальної кількості і відсотковим значенням моноцитів і деяких еозинофілів. Останнє свідчить про адаптаційні реакції до систематичних фізичних навантажень через активацію фагоцитарної ланки імунного захисту.

3. Суттєве зниження вмісту ТБК-активних продуктів в еритроцитах, дієвих кон'югатів та альдегідних похідних оксидативної модифікації білків плазми після фізичних навантажень у коней української верхової породи спортивного напрямку роботоздатності характеризується достатньо високим рівнем їх тренуваності та може свідчити про розвиток ефективних адаптаційних реакцій до систематичних фізичних навантажень в напрямку зменшення інтенсивності оксидативного стресу.

4. Проведений нами кореляційний аналіз залежності між маркерами оксидативного стресу та гематологічними показниками як у стані спокою, так і після фізичних навантажень показав, що у коней української верхової породи, спеціалізованих для використання у кінному спорті, інтенсивність перебігу оксидативного стресу у динаміці тренувань опосередковується кількісними змінами показників червоної крові та гемоглобіну.

5. Вивчення динаміки показників крові у поєднанні з маркерами оксидативного стресу під впливом систематичних тренувань дає можливість оцінити процеси адаптації до фізичних навантажень коней призового та спортивного напрямку роботоздатності, а також проаналізувати рівень їх фізіологічного резерву. Подальше дослідження гематологічних показників, а також про- і антиоксидантного балансу коней спортивного напрямку роботоздатності в динаміці тренінгу сприятиме науковому обґрунтуванню оцінки рівня їх тренуваності, адекватності використовуваних обсягів фізичних навантажень та можливості розробки ефективних корекційних тренувальних програм.

Acknowledgments

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

Список літератури

- Андрійчук А.В., Ткачова І.В., Ткаченко Г.М., Кургалюк Н.М. Оксидативний стресс у спортивних лошадей под влиянием физических нагрузок // Научное обеспечение развития коневодства: Международная научно-практическая конференция. – Дивово, 2012. – С. 93–98. /Andriichuk A.V., Tkachova I.V., Tkachenko H.M., Kurhaluk N. N. Oksidativnyy stress u sportivnykh loshadey pod vliyaniem fizicheskikh nagruzok // Nauchnoye obespecheniye razvitiya konevodstva: Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya. – Divovo, 2012. – С. 93–98./
- Андрійчук А.В., Ткачова І.В., Ткаченко Г.М., Кургалюк Н.М. Гематологічні показники та прооксидативні маркери у крові кобил арабської чистокровної та великопольської порід // Природничий Альманах. Біологічні науки, збірник наукових праць. – 2012. – В.17. – С. 17–31. /Andriichuk A.V., Tkachova I.V., Tkachenko H.M., Kurhaluk N.M. Gematologichni pokaznyky ta prooksydatyvni markery u kobyl arabskoi chystokrovnoi ta velykopolskoi porid // Pryrodnychy almanakh. Biologichni nauky, zbirnyk naukovykh prats. – 2012. – V.17. – S. 17–31./
- Андрійчук А.В., Ткачова І.В., Ткаченко Г.М. та ін. Маркери оксидативного стресу у коней, що використовуються у виїзді в динаміці тренінгу // Природничий Альманах. Біологічні науки, збірник наукових праць – 2012. – В.17. – С. 32–43. /Andriichuk A.V., Tkachova I.V., Tkachenko H.M., ta in. Markery oksydatyvnoho stresu u koney shcho vykorystovuyutsya u vyzidsti v dynamitsi treningu // Pryrodnychy almanakh. Biologichni nauky, zbirnyk naukovykh prats. – 2012. – V.17. – S. 32–34./
- Андрійчук А.В., Ткачова І.В., Ткаченко Г.М. та ін. Зміни резистентності еритроцитів периферійної крові у спортивних коней під впливом фізичних навантажень. // Науково-технічний бюлетень. – 2012. – Т.13, № 3–4. – С. 93–98. /Andriichuk A.V., Tkachova I.V., Tkachenko H.M. ta in. Zminy rezystentnosti erytrotsytyv peryferiynoi krovii u sportyvnykh koney pid vplyvom fizychnykh navantazhen // Naukovo-tekhnichnyy byuleten. – 2012. – T.13, № 3–4. – S. 93–98./
- Антонов А.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита троеборных лошадей в соревновательный период // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – №6. – С. 47–49. /Antonov A.V. Perekisnoye okisleniye lipidov i antioksidantnaya zashchita u troyebornykh loshadey v sorevnovatelnyy period // Selskokhozyaystvennaya biologiya. – 2010. – №6. – S. 47–49./
- Бондар О.О. Динаміка вмісту еритроцитів та гемоглобіну в крові коней російської рисистої породи різних вікових груп // Розведення і генетика тварин. – 2010. – №44. – С. 50–52. /Bondar O.O. Dynamika vmistu erytrotsytyv ta gemoglobinu v krovii koney rosiyskoi rysystoi porody riznykh vikovykh grup // Rozvedennya i genetyka tvaryn. – 2010. – №44. – S. 50–52./
- Бондар О.О. Динаміка гематологічних показників коней російської рисистої породи різних вікових груп протягом тренувального сезону // Розведення і генетика тварин. – 2009. – №43. – С. 31–39. /Bondar O.O. Dynamika gematologichnykh pokaznykiv koney rosiyskoi rysystoi porody riznykh vikovykh grup protyagom trenuvalnogo sezonu // Rozvedennya i genetyka tvaryn. – 2009. – №43. – S. 31–39./
- Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МедПресс-информ, 2004. – 589с. /Kamyshnikov V.S. Spravochnik po kliniko-biokhimicheskim issledovaniyam i laboratornoy diagnostike. – M.: MedPress-Inform, 2004. – 589s./
- Ласков А.А. Подготовка лошадей к олимпийским видам конного спорта. – ВНИИ коневодства, 1997. – 241с. /Laskov A.A. Podgotovka loshadey k olimpiyskim vidam konnogo sporta. – VNII konevodstva, 1997. – 241s./
- Нероденко В.В. Биологические основы спортивной тренировки в конном спорте. – Черкассы, 2009. – 412с. /Nerodenko V.V. Biologicheskiye osnovy sportivnoy trenirovki v konnom sporte. – Cherkasy, 2009. – 412s./
- Радченко О.М. Адаптаційні реакції в клініці внутрішніх хвороб. – Львів: Ліга-Прес, 2004. – 231с. /Radchenko O.M. Adaptatsiyni reaktsii v klinitsi vnutrishnykh khvorob. – Lviv: Liga-Pres, 2004. – 231s./
- Andriichuk A., Tkachenko H., Kurhaluk N. et al. Wybrane wskaźniki hematologiczne klaczy różnych ras // Słupskie Prace Biologiczne. – 2012. – №9. – P. 21–34.
- Brun J.F., Connes P., Varlet-Marie E. Alterations of blood rheology during and after exercise are both consequence and modifies of body's adaptation of muscular activity // Science & Sport. – 2007. – Vol.22. – P. 251–266.
- Clemens M.R., Waller H.D. Lipid peroxidation in erythrocytes // Chem. Phys. Lipids. – 1987. – Vol.45. – P. 251–268.
- Deaton C.M., Marlin D.J. Exercise-associated oxidative stress // Clin. Tech. Equine. Pract. – 2003. – Vol.2. – P. 278–291.
- Gill J., Rastawicka M. Diurnal changes in the hematological indices in the blood of racing Arabian horses // Polskie Archiwum Weterynaryjne. – 1986. – Vol.26. – P. 169–179.

- Hickson R.C., Overland S.M., Dougherty K.A. Reduced training frequency effects on aerobic power and muscle adaptation in rats // *J. Appl. Physiol.* – 1984. – Vol.57. – P. 1834–1841.
- Kingston J.K., Bayly W.M., Sellon D.C. et al. Effects of sodium citrate, low molecular weight heparine and prostaglandin E₁ on aggregation, fibrinogen binding and enumeration of equine platelets // *American Journal of Veterinary Research.* – 2001. – Vol.62 (4). – P. 547–554.
- Kinnunen S., Atalay M., Hyyppä S. et al. Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse // *Journal of Sports Science and Medicine.* – 2005. – Vol.4. – P. 415–421.
- Kirschvink N., de Moffarts B., Lekeux P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses // *The Veterinary Journal.* – 2008. – Vol.177. – P. 178–191.
- Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins // *Methods in Enzymology.* – 1990. – Vol.186. – P. 465–478.
- Marlin D.J., Fenn K., Smith N. et al. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise // *The Journal of Nutrition.* – 2002. – Vol.132. – P. 162–167.
- Masuda K., Choi J.Y., Shimojo H., Katsuta S. Maintenance of myoglobin concentration in human skeletal muscle after heavy resistance training // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 1999. – Vol.79. – P. 347–352.
- Nesse L.L., Johansen G.I., Blom A.K. Effect of racing on lymphocyte proliferation in horses // *American Journal of Veterinary Research.* – 2002. – Vol.63 (4). – P. 528–530.
- Nieman D.C. Exercise effect of systemic immunity // *Immunology and Cell Biology.* – 2000. – Vol.78 (5). – P. 496–501.
- Piccione G., Assenza A., Fazio F. et al. Different periodicities of some haematological parameters in exercise-loaded athletic horses and sedentary horses // *Journal of Equine Veterinary Science.* – 2001. – Vol.12. – P. 17–23.
- Piccione G., Giannetto C., Fazio F. et al. Haematological response to different workload in jumper horses // *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine.* – 2007. – Vol.10 (4). – P. 21–28.
- Radak Z., Young Chung H., Goto S. Systematic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise // *Free Radical Biology & Medicine.* – 2008. – Vol.44. – P. 153–159.
- Rubio M.D., Escribano B.M., Oropesa A. et al. Influence of trotting and galloping exercises on erythrogram of andalusian horse stallion // *Journal of Equine Veterinary Science.* – 1996. – Vol.16 (6). – P. 249–253.
- Satué K., Hernández A., Muñoz A. Physiological factors in the interpretation of equine hematological profile // *Hematology – Science and Practice.* – Dr. Charles Lawrie (Ed.). – 2012. (<http://www.intechopen.com/books/hematology-science-and-practice/haematological-profile-of-the-horse-physiological-factors-influencing-equine-haematology>)
- Stadman E.R. Metal, ion-catalyzed oxidation of protein: biochemical mechanism and biological consequences // *Free Radical Biology and medicine.* – 1991. – Vol.10 (3–4). – P.249.
- Trigo P., Castejyn F.M., Riber C., Mucoz A. Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides // *Equine Veterinary Journal.* – 2010. – Vol.38. – P. 142–146.
- Tyler-McGovan C.M., Golland L.C., Evans D.L. et al. Haematological and biochemical response to training and overtraining // *Equine Veterinary Journal. Supplement.* – 1999. – Vol.30. – P.621.
- Volvaard N.B.J., Reedera B.J., Shearmana J.P. et al. A new sensitive assay reveals that hemoglobin is oxidatively modified in vivo // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2005. – Vol.39. – P. 1216–1228.
- Wickle R.S., Anderson T.P. Haematological changes and athletic performance in horses in response to high altitude (3800 m) // *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp Physiol.* – 2000. – Vol.279. – P. 1176–1181.
- Zar J.H. Biostatistical analysis. 4th ed. – New Jersey: Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, 1999. – 663p.

Представлено: І.О.Матюха / Presented by: I.O.Matyukha

Рецензент: В.В.Мартиненко / Reviewer: V.V.Martynenko

Подано до редакції / Received: 05.04.2013